

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 3

2018

САРАТОВ

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
от 31 марта 2009 г.

Журнал «Проблемы особо опас-
ных инфекций» является рецен-
зируемым изданием

Все рукописи проходят проверку
системой «Антиплагиат»

Журнал «Проблемы особо
опасных инфекций»
индексируется в РИНЦ

Ответственность за достовер-
ность информации, содержащей-
ся в рекламных материалах,
несут рекламодатели

Адрес редакции:
410005, Саратов,
ул. Университетская, д. 46
E-mail: jour@microbe.ru
Сайт: <http://journal.microbe.ru>

Начальник редакционно-
издательского отдела
Е.С. Герасимова
Тел. (845-2) 51-82-22
Факс (845-2) 51-52-12

Редактор *А.А. Ковалева*
Технический редактор
Т.К. Меркулова
Перевод на английский
А.П. Ножкиной, Т.Б. Караваевой

Проблемы особо опасных
инфекций
2018. Вып. 3. 96 с.

Подписано в печать 20.09.18
Формат 60×88 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 11,76
Гарнитура Таймс.
Заказ 1472-18/01108

Журнал отпечатан в типогра-
фии ООО «Амирит». 410004,
Саратов, ул. Чернышевского,
д. 88, литер У

© Федеральное казенное учреждение
здравоохранения «Российский научно-
исследовательский противочумный
институт «Микроб», 2018

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Кутырев В.В., докт. мед. наук, академик РАН, РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Абдикаримов С.Т., д.м.н., доцент, Республиканский центр карантинных и особо опасных ин-
фекций (Бишкек, Кыргызстан)

Акимкин В.Г., д.м.н., академик РАН, ЦНИИ эпидемиологии (Москва, Россия)

Балахонов С.В., д.м.н., проф., Иркутский НИПЧИ Сибири и Дальнего Востока (Иркутск,
Россия)

Бондарев В.П., д.м.н., проф., Научный центр экспертизы средств медицинского применения
Минздрава России (Москва, Россия)

Борисевич С.В., д.б.н., проф., член-корреспондент РАН, 48 Центральный научно-
исследовательский институт МО РФ (Сергиев Посад, Россия)

Гинцбург А.Л., д.м.н., проф., академик РАН, НИИЭИМ им.Н.Ф. Гамалеи (Москва, Россия)

Дятлов И.А., д.м.н., проф., академик РАН, ГНЦ ПМБ (Оболensk, Россия)

Куличенко А.Н., д.м.н., проф., член-корреспондент РАН, Ставропольский НИПЧИ (Ставрополь,
Россия)

Львов Д.К., д.м.н., проф., академик РАН, НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского (Москва,
Россия)

Малеев В.В., д.м.н., проф., академик РАН, ЦНИИ эпидемиологии (Москва, Россия)

Мотин В.Л., проф., Университет штата Техас (Галвестон, США)

Онищенко Г.Г., д.м.н., проф., академик РАН (Москва, Россия)

Ракин А.В., к.б.н., Институт Макса фон Петтенкофера (Мюнхен, Германия)

Рудаков Н.В., д.м.н., проф., Омский НИИ природно-очаговых инфекций (Омск, Россия)

Сергиев В.П., д.м.н., проф., академик РАН, НИИ медицинской паразитологии и тропической
медицины им.Е.И. Марциновского (Москва, Россия)

Скурник М., проф., бактериологии, Университет Хельсинки (Хельсинки, Финляндия)

Титов Л.П., д.м.н., проф., член-корр. НАН Беларуси, иностранный член РАН, Республиканский
научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии (Минск, Беларусь)

Топорков А.В., д.м.н., Волгоградский НИПЧИ (Волгоград, Россия)

Цогбадрах Н., к.м.н., Национальный центр по изучению зоонозных инфекций (Улаанбаатор,
Моголия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Андаев Е.И., д.м.н., Иркутский НИПЧИ (Иркутск, Россия)

Бугоркова С.А., д.м.н., РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия)

Викторов Д.В., д.б.н., Волгоградский НИПЧИ (Волгоград, Россия)

Гулий О.И., д.б.н., ИБФРМ РАН (Саратов, Россия)

Ерошенко Г.А., д.б.н., РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия)

Жарникова И.В., д.б.н., Ставропольский НИПЧИ (Ставрополь, Россия)

Карпунина Л.В., д.б.н., СГАУ им. Н.И. Вавилова (Саратов, Россия)

Красько А.Г., к.м.н., доцент, Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и
микробиологии (Минск, Беларусь)

Кругликов В.Д., д.м.н., Ростовский НИПЧИ (Ростов-на-Дону, Россия, Россия)

Локтев В.Б., д.б.н., проф., ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Кольцово,
Новосибирская область, Россия)

Малецкая О.В., д.м.н., проф., Ставропольский НИПЧИ (Ставрополь, Россия)

Мека-Меченко Т.В., д.м.н., Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им.
М. Айкимбаева (Алматы, Казахстан)

Микеров А.Н., д.б.н., СГМУ им. В.И. Разумовского (Саратов, Россия)

Микшис Н.И., д.м.н., РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия)

Пеньевская Н.А., д.м.н., доцент, Омский НИИ природно-очаговых инфекций (Омск, Россия)

Попов Н.В., д.б.н., проф., РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия)

Попов Ю.А., д.б.н., проф., РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия)

Саяпина Л.В., д.м.н., Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава
России (Москва, Россия)

Смирнова Н.И., д.б.н., проф., РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия)

Топорков В.П., д.м.н., проф., РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия)

Шемакин И.Г., д.б.н., проф., ГНЦ ПМБ (Оболensk, Московская область, Россия)

Щербакова С.А., д.б.н., РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия)

Щуковская Т.Н., д.м.н., проф., РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия)

Усенбаев Н.Т., к.н.м., Республиканский центр карантинных и особо опасных инфекций
(Бишкек, Кыргызстан)

Ответственный секретарь: Т.Б. Караваева.

Тел. (845-2) 51-82-22. Факс (845-2) 51-52-12. E-mail: jour@microbe.ru

Problemy Osobo Opasnykh Infektsii Problems of Particularly Dangerous Infections

2018, Issue 3

Scientific and Practical Peer-Reviewed 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, Director of the Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe"

Editorial Council

Abdikarimov S.T., DMedSc, Associate Prof., Republican Center of Quarantine and Particularly Dangerous Infections (Bishkek, Kyrgyz Republic)

Akimkin V.G., DMedSc, Prof., RAS Member, Central Research Institute of Epidemiology, (Moscow, Russia)

Balakhonov S.V., DMedSc, Prof., Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, (Irkutsk, Russia)

Bondarev V.P., DMedSc, Prof., Center of Expertise and Control of MIBP (Moscow, Russia)

Borisevich S.V., DBioSc, Prof., RAS Cor. Member, 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russia, (Sergiev Possad, Russia)

Gintsburg A.L., DMedSc, Prof., RAS Member, Research Institute of Epidemiology and Microbiology, (Moscow, Russia)

Dyatlov I.A., DMedSc, Prof., RAS Member, State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, (Obolensk, Russia)

Kulichenko A.N., DMedSc, Prof., RAS Cor. Member, Stavropol Research Anti-Plague Institute, (Stavropol, Russia)

L'vov D.K., DMedSc, Prof., RAS Member, D.I.Ivanovsky Research Institute of Virology (Moscow, Russia)

Maleev V.V., DMedSc, Prof., RAS Member, Central Research

Institute of Epidemiology (Moscow, Russia)

Motin V.L., Ph.D., Prof., Texas University (Galveston, USA)

Onishchenko G.G., DMedSc, Prof., RAS Member (Moscow, Russia)

Rakin A.V., Ph.D., Max von Pettenkofer Institute (Munich, Germany)

Rudakov N.V., DMedSc, Prof., Omsk Research Institute of Natural Focal Infections (Omsk, Russia)

Sergiev V.P., DMedSc, Prof., RAS Member, E.I. Martsinovskiy Research Institute of Medical Parasitology and Tropical Medicine (Moscow, Russia)

Skurnik M., Prof. of Bacteriology, University of Helsinki (Helsinki, Finland)

Titov L.P., DMedSc, Prof., Cor. Member of the National Academy of Sciences of Belarus, Foreign RAS Member, Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology (Minsk, Belarus)

Toporkov A.V., DMedSc, Volgograd Research Anti-Plague Institute (Volgograd, Russia)

Tsogbadrakh N., Ph.D., National Centre for Studies of Zoonotic Infections (Ulanbaator, Mongolia)

Editorial Board

Andaev E.I., DMedSc, Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Deputy Director (Irkutsk, Russia)

Bugorkova S.A., DMedSc, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Chief Researcher (Saratov, Russia)

Viktorov D.V., DBioSc, Volgograd Anti-Plague Research Institute, Deputy Director (Volgograd, Russia)

Guliy O.I., DBioSc, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Leading Researcher (Saratov, Russia)

Eroshenko G.A., DBioSc, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Chief Researcher (Saratov, Russia)

Zharnikova I.V., DBioSc, Stavropol Research Anti-Plague Institute, Leading Researcher (Stavropol, Russia)

Karpunina L.V., DBioSc, Prof., N.I.Vavilov Saratov State Agrarian University, Professor (Saratov, Russia)

Kras'ko A.G., Ph. D., Associate Prof., Republican Research and Practical Center for Epidemiology and Microbiology, Head of Laboratory (Minsk, Belarus)

Kruglikov V.D., DMedSc, Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Head of Laboratory (Rostov-on-Don, Russia)

Loktev V.B., DBioSc, Prof., State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", Head of Department (Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia)

Maletskaya O.V., DMedSc, Prof., Stavropol Anti-Plague Research Institute, Deputy Director (Stavropol, Russia)

Meka-Mechenko T.V., DMedSc, M.Aikimbayev Kazakh Scientific Centre for Quarantine & Zoonotic Diseases (Almaty, Republic of Kazakhstan)

Mikero A.N., DBioSc, V.I.Razumovskiy Saratov State Medical University, Professor (Saratov, Russia)

Mikshis N.I., DMedSc, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Chief Researcher (Saratov, Russia)

Pen'evskaya N.A., DMedSc, Associate Prof., Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Head of Department (Omsk, Russia)

Popov N.V., DBioSc, Prof., Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Chief Researcher (Saratov, Russia)

Popov Yu. A., DBioSc, Prof., Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Chief Researcher (Saratov, Russia)

Sayapina L.V., DMedSc, Scientific Center of Expert Evaluation of Medical Application Products, Chief Expert, Moscow

Smirnova N.I., DBioSc, Prof., Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Chief Researcher (Saratov, Russia)

Toporkov V.P., DMedSc, Prof., Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Chief Researcher (Saratov, Russia)

Shemyakin I.G., DBioSc, Prof., State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Deputy Director (Obolensk, Moscow Region, Russia)

Shcherbakova S.A., DBioSc, Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Deputy Director (Saratov, Russia)

Shchukovskaya T.N., DMedSc, Prof., Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Chief Researcher (Saratov, Russia)

Usenbaev N.T., Ph.D, Republican Center of Quarantine and Particularly Dangerous Infections, Deputy Director (Bishkek, Kyrgyz Republic)

Обзоры

- Волкова Н.В., Казачинская Е.И., Щербаков Д.Н.** Экспериментальные вакцины для профилактики геморрагической лихорадки Марбург и биомодели для изучения ее патогенеза 8
- Карнаухов И.Г., Шарова И.Н., Казакова Е.С., Морозов К.М., Щербакова С.А., Кутырев В.В.** Использование мобильных лабораторий биологического профиля за рубежом и в России: реалии сегодняшнего дня и перспективы 16
- Липницкий А.В., Маркин А.М., Шаров Т.Н., Топорков А.В., Викторов Д.В.** Современная эпидемиологическая ситуация по особо опасным микозам в мире и прогноз ее развития 25
- Поршаков А.М., Кононова Ю.В., Локтев В.Б., Boiro M.I.** Рукокрылые как возможный резервуар опасных для человека вирусов на территории Гвинейской Республики. Часть 1 32
- Саяпина Л.В., Гаврилова Н.А., Никитюк Н.Ф., Обухов Ю.И., Бондарев В.П.** К вопросу о применении в практическом здравоохранении гетерологичных препаратов 40

Оригинальные статьи

- Гостищева С.Е., Абзаева Н.В., Иванова Г.Ф., Ростовцева Д.В., Катунина Л.С., Зуенко А.А.** Оценка качества вакцины чумной живой, приготовленной с использованием питательной среды на основе гидролизата кукурузного экстракта сгущенного 46
- Дубянский В.М., Герасименко Е.В., Давыдова Н.А., Шкарлет Г.П., Мозлов Г.А., Белогрудов В.А., Власов А.А., Цапко Н.В., Белявцева Л.И., Бамматов Д.М.** Прогнозирование эпизоотической активности Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы 50
- Кравец Е.В., Дугаржапова З.Ф., Такайшвили В.Е., Иванова Т.А., Чеснокова М.В., Балахонov С.В.** Изучение биологических и молекулярно-генетических свойств штаммов *Bacillus anthracis*, изолированных на территории Сибири и Дальнего Востока (1959–2013 гг.) 54
- Кытманов А.А., Елагин Г.Д., Куклина Г.В., Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Еремкин А.В., Ипатov С.С., Зиганшин Э.Р.** Разработка иммуноферментных моноклональных тест-систем для выявления возбудителей сапа и мелниоза 60

Reviews

- Volkova N.V., Kazachinskaya E.I., Shcherbakov D.N.** Experimental Vaccines for Prevention of Marburg Hemorrhagic Fever and Animal Models for Studying Pathogenesis 8
- Karnaukhov I.G., Sharova I.N., Kazakova E.S., Morozov K.M., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V.** Usage of Mobile Laboratories of Biological Expertise Abroad and in Russia: Present Day Realities and Prospects 16
- Lipnitsky A.V., Markin A.M., Sharov T.N., Toporkov A.V., Viktorov D.V.** Current Epidemiological Situation on Particularly Dangerous Mycoses around the World and Forecast of Its Development 25
- Porshakov A.M., Kononova Yu.V., Loktev V.B., Boiro M.I.** Chiroptera as a Potential Reservoir of Dangerous for Humans Viruses in the Territory of the Republic of Guinea. Part 1 32
- Sayapina L.V., Gavrilova N.A., Nikityuk N.F., Obukhov Yu.I., Bondarev V.P.** Concerning the Application of Heterologous Preparations in Practical Healthcare 40

Original articles

- Gostishcheva S.E., Abzaeva N.V., Ivanova G.F., Rostovtseva D.V., Katunina L.S., Zuenko A.A.** Quality Assessment of the Live Plague Vaccine Prepared Using Nutrient Medium on the Basis of Hydrolysate of Concentrated Corn Steep 46
- Dubyansky V.M., Gerasimenko E.V., Davydova N.A., Shkarlet G.P., Mozlov G.A., Belogrudov V.A., Vlasov A.A., Tsapko N.V., Belyavtseva L.I., Bammатов D.M.** Forecasting of Epizootic Activity of the Central Caucasian Natural High-Mountain Plague Focus 50
- Kravets E.V., Dugarzhapova Z.F., Takaishvili V.E., Ivanova T.A., Chesnokova M.V., Balakhonov S.V.** Biological and Molecular-Genetic Properties of *Bacillus anthracis* Strains Isolated in Siberia and Far East Regions (1959–2013) 54
- Kytmanov A.A., Elagin G.D., Kuklina G.V., Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Eremkin A.V., Ipatov S.S., Ziganshin E.R.** Development of Immuno-Enzymatic Monoclonal Tests-Systems for the Detection of Glanders and Melioidosis Agents 60

Матросов А.Н., Щучинов Л.В., Ермаков Н.М., Захаров К.С., Корнеев М.Г., Чипанин Е.В., Морозов И.М., Свирицкий Д.В., Кузменков В.В., Дегтярев Д.Ю., Денисов А.В., Мищенко А.И., Шефер В.В., Михайлов Е.П., Архипов Г.С., Раздорский А.С., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Попов Н.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Эффективность дезинсекции и дератизации в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы

66

Монахова Е.В., Архангельская И.В., Писанов Р.В., Титова С.В. Особенности первичной структуры цитотоксина MARTX нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* разных серогрупп

73

Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Еремкин А.В., Елагин Г.Д., Куклина Г.В., Барамзина Г.В., Ипатов С.С. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления *Bacillus anthracis*

78

Сагиев З.А., Мусагалиева Р.С., Абдирасилова А.А., Аязбаев Т.З., Кульбаева М.М., Молдагасимова А.Б., Жунусова А.С., Утепова И.Б., Бегимбаева Э.Ж., Избанова У.А., Омашева Г.М., Турлиев З.С., Иманбекова Ж.Ж., Ниязбеков Н.Ш. О завозных случаях холеры в город Алматы в 2017 г., Казахстан.....

83

Хаммадов Н.И., Осянин К.А., Усольцев К.В., Фаизов Т.Х., Хаммадова А.В., Шуралев Э.А. Маркерные локусы генома бруцелл для дифференциальной ПЦР индикации патогенных штаммов.....

88

Краткие сообщения

Савицкая Т.А., Попов В.П., Трифонов В.А., Милова И.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д. Оценка эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по туляремии в Республике Татарстан

94

Matrosov A.N., Shchuchinov L.V., Ermakov N.M., Zakharov K.S., Korneev M.G., Chipanin E.V., Morozov I.M., Svirsky D.V., Kuzmenkov V.V., Degtyarev D.Yu., Denisov A.V., Mishchenko A.I., Shefer V.V., Mikhailov E.P., Arkhipov G.S., Razdorsky A.S., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Popov N.V., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. Effectiveness of Disinsection and Deratization in Gorno-Altai High-Mountain Natural Plague Focus

Monakhova E.V., Arkhangel'skaya I.V., Pisanov R.V., Titova S.V. Peculiarities of Primary MARTX Cytotoxin Structure in Non-Toxigenic *Vibrio cholerae* Strains of Different Serogroups

Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Eremkin A.V., Elagin G.D., Kuklina G.V., Baramzina G.V., Ipatov S.S. Development of Enzyme-Immunoassay for *Bacillus anthracis* Detection

Sagiev Z.A., Musagalieva R.S., Abdirasilova A.A., Ayazbaev T.Z., Kul'baeva M.M., Moldagasimova A.B., Zhunusova A.S., Utepova I.B., Begimbaeva E.Zh., Izbanova U.A., Omasheva G.M., Turliiev Z.S., Imanbekova Zh.Zh., Niyazbekov N.Sh. Concerning imported cases of cholera in the city of Almaty, Kazakhstan, 2017

Khammadow N.I., Osyannin K.A., Usol'tsev K.V., Faizov T.Kh., Khammadowa A.V., Shuralev E.A. Marker Loci in Brucella Genome for Differential PCR Indication of Pathogenic Strains

Brief communications

Savitskaya T.A., Popov V.P., Trifonov V.A., Milova I.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D. Assessment of Epidemiological and Epizootiological Situation on Tularemia in the Republic of Tatarstan

Уважаемые коллеги!

Научно-практический журнал «Проблемы особо опасных инфекций» отмечает свой 50-летний юбилей – 30 августа 1968 года подписан в печать его первый номер.

Журнал «Проблемы особо опасных инфекций» стал первым научным периодическим изданием, выпускаемым учреждением противочумной системы – Российским научно-исследовательским противочумным институтом «Микроб» Роспотребнадзора. С самого начала своего существования журнал стал платформой для научных дискуссий по широкому кругу вопросов, касающихся изучения особо опасных инфекционных болезней. На его страницах публикуют свои статьи и аналитические обзоры как ведущие отечественные и зарубежные ученые, так и молодые специалисты противочумных институтов и практических учреждений.

Сегодня журнал востребован и пользуется заслуженным авторитетом у научной и медицинской общественности. Его читательская аудитория и авторы – это исследователи, врачи и специалисты из Российской Федерации и государств-участников СНГ, работающие в области микробиологии, эпидемиологии, эпизоотологии, иммунологии, генетики, биотехнологии, диагностики и профилактики особо опасных и природно-очаговых инфекций, обеспечения биологической безопасности и санитарной охраны территории.

В состав редакционного совета и редакционной коллегии журнала входят ведущие ученые России, стран СНГ и дальнего зарубежья.

Значительный вклад в успешное решение задач, стоящих перед журналом, принадлежит коллективу редакции, сотрудников которой отличает высокий профессионализм и искренняя заинтересованность в улучшении работы журнала.

Всего за прошедшие 50 лет вышло 136 номеров. За это время изменился формат и дизайн издания, повысилась его информативность, создан современный сайт журнала с англоязычной версией.

Журнал «Проблемы особо опасных инфекций» многие годы входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий Высшей аттестационной комиссии. Он включен в Реферативный журнал и базы данных ВИНИТИ, индексируется в Российском индексе научного цитирования (РИНЦ) и размещен в Научной электронной библиотеке.

Сердечно поздравляю вас с юбилеем и желаю журналу «Проблемы особо опасных инфекций» долголетия, процветания и новых успехов.

*Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации
А.Ю. Попова*

Уважаемые коллеги!

В 2018 г. научно-практический журнал «Проблемы особо опасных инфекций» отмечает свой 50-летний юбилей.

С первых лет существования Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», старейшее в России противочумное научно-исследовательское учреждение, стал заниматься издательской деятельностью – уже в 1922 г. начал выходить журнал «Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии». В состав его редколлегии в разные годы входили такие известные ученые, как Н.Н. Жуков-Вережников, И.Г. Иофф, Е.И. Коробкова, М.П. Покровская, Е.Н. Павловский, В.М. Аристовский. «Вестник микробиологии, эпидемиологии и паразитологии» печатался вплоть до 1941 г. В дальнейшем издавались тематические сборники научных трудов противочумных учреждений страны.

Журнал «Проблемы особо опасных инфекций» издается с 1968 г., 30 августа был подписан в печать его первый номер. Изначально это был рецензируемый периодический сборник, выходивший шесть раз в год. Первым главным редактором и председателем редакционного совета был профессор Н.И. Николаев. В редколлегию входили ведущие специалисты института «Микроб»: А.К. Адамов, П.И. Анисимов, Е.Э. Бахрах, С.Н. Варшавский, М.Н. Джапаридзе, В.П. Козакевич, Б.К. Фенюк и другие. Редакционный совет был представлен сотрудниками республиканских противочумных станций и научно-исследовательских институтов противочумной системы СССР. В обращении к читателям, опубликованном в первом выпуске, было отмечено, что тематика публикаций будет охватывать вопросы, «... входящие в сферу научной и производственной деятельности противочумных учреждений страны». Так 50 лет назад было создано первое в нашей стране уникальное научное периодическое издание, специализирующееся на освещении широкого круга проблем особо опасных инфекционных болезней. На его страницах печатались работы как известных ученых, основоположников научных теорий, ставших классикой отечественной микробиологии, эпидемиологии, инфекционной иммунологии, так и начинающих специалистов, получивших возможность публиковать результаты своих первых исследований.

Всего за прошедшие 50 лет вышло 136 номеров журнала. За это время изменился формат и ди-

зайн издания, создан сайт журнала. Коллективом редакции и редакционной коллегией журнала проводится большая работа по улучшению его научного контента и издательских характеристик. Журнал зарегистрирован в Книжной палате, имеет международный стандартный номер сериальных изданий (ISSN), включен в Реферативный журнал и Базы данных ВИНТИ. Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Directory». С 2001 г. журнал «Проблемы особо опасных инфекций» входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий Высшей аттестационной комиссии. Он индексируется в Российской национальной библиографической базе данных научного цитирования (РИНЦ) и размещен на платформе Научной электронной библиотеки. Выпуски журнала имеются в фондах Национальной медицинской библиотеки США. Журнал распространяется по подписке, подписчиками являются органы, организации и учреждения Роспотребнадзора и профильные научно-исследовательские институты России.

Главный редактор журнала – академик РАН, доктор медицинских наук, профессор В.В. Кутырев. В состав редакционного совета и редакционной коллегии входят известные ученые и специалисты России и зарубежных стран.

В журнале «Проблемы особо опасных инфекций» публикуются работы ведущих ученых профильных научных учреждений России и стран СНГ, а также специалистов практического здравоохранения. Журнал продолжает развиваться и совершенствоваться, открывать новые имена ученых, публиковать результаты передовых исследований, освещать дискуссионные вопросы. Сегодня журнал «Проблемы особо опасных инфекций» является единственным в Российской Федерации научно-практическим изданием, специализирующимся на освещении актуальных проблем особо опасных инфекционных болезней, санитарной охраны территории Российской Федерации и государств-участников СНГ, а также вопросов обеспечения противоэпидемической защиты населения от биологических угроз.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнал «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют авторов и читателей журнала с Юбилеем и выражают уверенность в его дальнейшем успешном развитии.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-8-15

УДК 616.98:578.833.29

Н.В. Волкова, Е.И. Казачинская, Д.Н. Щербаков

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ВАКЦИНЫ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ МАРБУРГ И БИОМОДЕЛИ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ЕЕ ПАТОГЕНЕЗА

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

Лихорадка Марбург – острое природно-очаговое заболевание, характеризующееся тяжелым течением, геморрагическим синдромом, высоким уровнем контагиозности и летальности. Возбудителем заболевания является РНК-содержащий вирус, принадлежащий к семейству филовирусов (*Filoviridae*). Отсутствие вакцин и профилактических препаратов является основной проблемой, с которой сталкиваются врачи и ученые, участвующие в борьбе с лихорадкой Марбург. Разработка эффективных вакцин актуальна для защиты населения, проживающего в природных очагах и медицинского персонала в очагах эпидемий, а также для обеспечения безопасной научной работы в лабораториях BSL-4. В обзоре рассматриваются биомодели, подходящие для изучения патогенеза филовирусных инфекций, доклинического исследования специфической активности и безвредности кандидатных вакцин против лихорадки Марбург, а также различные варианты этих вакцин.

Ключевые слова: вирус Марбург (MARV), биомодели, вакцины.

Корреспондирующий автор: Волкова Наталья Вячеславовна, e-mail: tasha_wolkowa11.93@mail.ru.

Для цитирования: Волкова Н.В., Казачинская Е.И., Щербаков Д.Н. Экспериментальные вакцины для профилактики геморрагической лихорадки Марбург и биомодели для изучения ее патогенеза. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:8–15. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-8-15

N.V. Volkova, E.I. Kazachinskaya, D.N. Shcherbakov

Experimental Vaccines for Prevention of Marburg Hemorrhagic Fever and Animal Models for Studying Pathogenesis

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

Abstract. Marburg fever is an acute natural-focal disease characterized by severe course, hemorrhagic syndrome, high level of contagiousness and lethality. The causative agent of the disease is the RNA-containing virus belonging to the family of filoviruses (*Filoviridae*). The main problem faced by doctors and scientists involved in the fight against Marburg fever is the lack of vaccines and preventive drugs against this disease. The development of effective vaccines against filovirus infection is relevant for protecting the population living in natural foci and medical personnel during epidemic outbreaks, as well as for ensuring safe research work in BSL-4 laboratories. In this regard, this review considers biomodels suitable for studying the pathogenesis of filovirus infections, preclinical studies of specific activity and harmlessness of prototype Marburg virus vaccines and variants of these vaccines.

Key words: Marburg virus (MARV), animal models, vaccines.

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

Corresponding author: Natal'ya V. Volkova, e-mail: tasha_wolkowa11.93@mail.ru.

Citation: Volkova N.V., Kazachinskaya E.I., Shcherbakov D.N. Experimental Vaccines for Prevention of Marburg Hemorrhagic Fever and Animal Models for Studying Pathogenesis. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:8–15. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-8-15

Received 05.09.18. Accepted 13.09.18.

Вирус Марбург впервые выявлен в 1967 г. в Германии и Югославии у научных сотрудников, контактировавших с тканями инфицированных африканских зеленых марышек (*Cercopithecus aethiops*), импортированных из Уганды [1]. В настоящее время семейство *Filoviridae* объединяет два рода вирусов с однотипной морфологией вирионов и структурой генома – *Marburgvirus* (MARV) и *Ebolavirus* (EBOV), опасных для человека и приматов, а также род *Cuevavirus*, патогенность которого для людей и приматов пока не изучена [2].

В 1988 и 1990 гг. в России произошло два случая лабораторного инфицирования MARV (штамм

Popp), первый оказался смертельным [3, 4]. Крупная вспышка лихорадки Марбург (ЛМ) зарегистрирована в 1998–1999 гг. в Восточной провинции Республики Конго, смертность составила 83 %. В ходе вспышки ЛМ 2005 г. в Анголе заболели в основном дети, медицинский персонал госпиталя, родственники, участвовавшие в традиционных ритуальных процедурах похорон, а также сельские целители. Из 252 заболевших погибло 227 человек (90 %) [5]. Случаи ЛМ со смертельными исходами зафиксированы в 2007–2014 гг. [6]. Таким образом, с момента открытия MARV от лихорадки погибло более 500 человек [7], что кажется немного по сравнению с числом по-

гибших (11000 человек) в результате самой крупной вспышки лихорадки Эбола (ЛЭ) Африке в 2014–2015 гг. [8]. Однако никто не может гарантировать, что вирус Марбург в будущем не окажется причиной более масштабной вспышки [7].

Основной путь инфицирования людей при вспышках филовиральных геморрагических лихорадок – контактный, через кровь и другие биологические жидкости инфицированных животных или заболевших людей [4, 9]. Экспериментально доказанный аэрозольный путь инфицирования приматов, морских свинок [10, 11], домашних свиней [12, 13] и, возможно, летучих мышей [14] может способствовать распространению филовирусов в популяции людей, а также стать основой для использования этих патогенов в качестве биологического оружия. В связи с этим разработка эффективных вакцин против филовиральных инфекций актуальна для защиты жителей эндемичных территорий и медицинского персонала, работающего в очагах эпидемии, а также для обеспечения безопасной научной работы в лабораториях BSL-4 [15]. Учитывая, что ареалы циркуляции филовирусов MARV и EBOV в Центральной Африке перекрываются [16] и, вероятно, имеют один природный резервуар в крыланах *Rousettus aegyptiacus* из семейства *Pteropodidae* [14, 17], особый интерес вызывают работы, направленные на получение би- и поливалентных вакцин, содержащих антигены обоих видов филовирусов.

Учитывая высокую патогенность филовирусов для человека, актуальной задачей является выбор экспериментальных моделей животных, имитирующих развитие филовиральной инфекции у человека. Это важно как для изучения патогенеза филовиральных инфекций, так и для доклинического исследования специфической активности и безвредности кандидатных вакцин. Поэтому вопросы оценки эффективности вакцин против филовирусов, в частности против вируса Марбург, в данном обзоре рассмотрены в контексте с существующими экспериментальными моделями животных, использующихся для воспроизведения патологического процесса, а также с симптомами, которые проявляются у людей, заболевших филовиральной инфекцией, вызванной EBOV.

Животные модели. На сегодняшний день не изучена роль домашних животных (собак, кошек и свиней) в циклах передачи филовирусов. Имеются сведения, что, поедая в лесу обезьян, погибших от ЛМ и ЛЭ, собаки могут служить источником заражения для людей, при этом у них болезнь может протекать бессимптомно [18]. Исследование механизма проникновения EBOV в чувствительные клетки с использованием рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, содержащего поверхностный гликопротеин (GP) EBOV, показало, что первичные фибробласты кошек менее восприимчивы к GP-опосредованному заражению, чем у человека и нечеловекообразных приматов (non-human primates, NHPs), но более восприимчивы, чем у собак

[18]. Исследование сывороток крови, полученных от свиней на двух фермах во время вспышки на Филиппинах в 2008 г. филовиральной инфекции, вызванной штаммом *Reston* EBOV, показало наличие специфических антител [19]. Возможность аэрозольной передачи EBOV (*Zaire*) между домашними свиньями подтверждена экспериментально [12]; также показана межвидовая аэрозольная передача EBOV (*Zaire*) между домашними свиньями и NHPs [13].

Рукокрылые наиболее вероятный носитель возбудителя ЛМ, что подтверждается популяционным исследованием, показавшим, что процент заражения людей, посетивших пещеры (места обитания этих животных), выше, чем в среднем по всей популяции местных жителей. Недавно продемонстрирована экспериментальная бессимптомная инфекция, вызванная MARV (*Angola*) у *Rousettus aegyptiacus*. Начиная с пятых суток, у инфицированных животных после подкожного заражения наблюдалась виремия ($1,4\text{--}3,0 \log \text{ТЦПД}_{50}$), которая прекращалась спустя 12 суток. При помощи ПЦР в образцах мочи, оральных и ректальных мазках, выявили генетический материал возбудителя. У здоровых животных, посаженных позже к инфицированным, вирус выявлялся в смывах из полости рта, что подтверждает гипотезу о персистенции MARV в резервуаре, представленном видом *Rousettus aegyptiacus* [14].

Иммунная система кроликов, овец, коз и лошадей в ответ на введение даже больших доз филовирусов реагируют лишь формированием специфических комплементсвязывающих или нейтрализующих антител без явных признаков болезни [20–22].

«Золотой стандарт» животной модели для ЛМ и ЛЭ – нечеловекообразные приматы (non-human primates, NHPs), так как только эта группа животных восприимчива к неадаптированным изолятам филовирусов, а клиническая картина этих инфекций сходна с той, которая наблюдается у человека. Но из-за этических и практических (нет инбредных линий), а также и финансовых соображений, более распространенными исследовательскими моделями являются мелкие инбредные животные (мыши и морские свинки), у которых, как правило, болезнь развивается только при заражении адаптированными штаммами филовирусов [7].

Патогенез филовирусов, адаптированных к грызунам отличается от патологических состояний, развивающихся у человека и NHPs. Лихорадка и кожная сыпь, которые являются основными клиническими признаками ЛМ и ЛЭ у человека и NHPs, отсутствуют у мышей, инфицированных адаптированными к ним штаммами филовирусов. У мышей так же не всегда развиваются дефекты коагуляции. Лихорадка появляется у морских свинок, инфицированных адаптированными к ним филовирусами. У этих животных отсутствует сыпь, но проявляются дефекты коагуляции, включающие снижение количества тромбоцитов и увеличение времени данного процесса.

Из-за этих отличий патогенеза, развивающегося у разных биомоделей, вакцины и терапевтические препараты, которые продемонстрировали эффективность на зараженных адаптированными вирусами грызунах, не защищали NHPs, инфицированных вирусами дикого типа. Поэтому подбор новых моделей грызунов, болезнь у которых лучше бы повторяла симптомы ЛЭ и ЛМ, описанные у людей, по-прежнему является актуальной задачей в исследовании патогенеза филовиральных инфекций и высокопроизводительного скрининга профилактических и терапевтических препаратов до их тестирования на NHPs [23]. Недавно было показано, что у сирийских золотистых хомяков, инфицированных штаммом *Angola* MARV, адаптированным к хомякам, проявились почти все клинические особенности ЛМ, наблюдаемые у людей и NHPs, включая аномалии коагуляции, геморрагические проявления, сыпь и нарушения иммунного ответа. Таким образом, эта биомодель ЛМ представляет собой подходящий инструмент для дальнейшего анализа патогенеза MARV и ускорения разработки терапевтических препаратов для лечения заболевших ЛМ людей [24].

Экспериментальные вакцины против ЛМ. MARV и EBOV относятся к одному семейству на основании строения вирионов и геномной РНК, но по антигенной структуре вирусных белков они имеют значительные отличия. При этом в 2001 г. появлялись сообщения о перекрестной активности антител с гетерологичными нативными антигенами в реакциях ИФА и иммунофлуоресценции. Исследования с использованием белковых микрочипов показали, что антитела сывороток крови людей, переболевших ЛМ или ЛЭ, обладают разной степенью перекрестного взаимодействия с гетерологичными инактивированными MARV и EBOV, а также рекомбинантными белками GP, NP и VP40 [26].

Гликопротеин (GP) формирует шипики на поверхности вириона, обеспечивающие проникновение филовirusа в чувствительные клетки путем рецепторного связывания и слияния с мембраной клеток. В составе белка GP выявлено наличие иммуногенных эпитопов, являющихся мишенью нейтрализующих антител. Наличие гуморального иммунного ответа, направленного на GP, является необходимым и достаточным для защиты организма, поэтому усилия разработчиков вакцин против филовirusов сконцентрированы именно на этом белке [23]. Перекрывание природных ареалов циркуляции MARV и EBOV заставляют ученых обратить внимание на создание двух- (против MARV и EBOV) или трехвалентных (против одного штамма MARV и двух штаммов EBOV) вакцин [14, 16, 17].

Инактивированные вирусные препараты. Серьезным препятствием для производства вакцин против филовirusов на основе инактивированных вирусных препаратов для научных сотрудников является высокий риск заражения, вызванный вероятностью неполной инактивации вирусов [26]. Кроме

того, вакцины на основе инактивированных вирусов показали противоречивые результаты в отношении защиты животных. На основе MARV (штамм *Popp*) получен вирусный препарат, выращенный на диплоидных клетках легкого эмбриона человека (Л68), сконцентрированный, очищенный и инактивированный 0,05 % раствором формалина или гамма облучением. Показано, что двукратная иммунизация с интервалом 14 сут при дозе 7 мкг, вызвала формирование специфического гуморального иммунитета у морских свинок и обезьян *Macaca mulatta*, но при этом антитела иммунизированных животных не обладали нейтрализующим действием и не защищали животных от гибели. Более того, зафиксировано усугубление патологического процесса у инфицированных морских свинок, предварительно иммунизированных инактивированным MARV. Показано также, что продолжительность жизни иммунных животных была ниже, чем у контрольных животных, зараженных той же дозой вируса [27, 28]. Другие исследования демонстрируют, что иммунизация морских свинок цельновирионным MARV (штамм *Musoke*), инактивированным гамма облучением, вызвала наработку нейтрализующих антител и обеспечивала 80 % выживание животных при подкожном и аэрозольном заражении летальной дозой вируса [26].

ДНК-вакцины. ДНК-вакцина – генно-инженерная конструкция, кодирующая протективные антигены возбудителя. ДНК-вакцины дешевле в разработке и безопасны, в отличие от инактивированных вакцин, а также просты в конструировании и могут быть быстро приготовлены в ответ на эпидемическую угрозу. Значительным преимуществом является стабильность таких препаратов, что может быть существенным фактором в Африке, где жаркий климат и слабое развитие инфраструктуры. Кроме того, иммунизированные лица не имеют иммунитета против ДНК-вакцин (как в случае вирусных векторов, см. ниже) и из-за профиля безопасности их можно вводить иммунодефицитным пациентам, что чрезвычайно важно, учитывая высокий процент ВИЧ-инфицированных в странах Африки [29]. Плазмиды, кодирующие GP MARV (*Musoke* или *Ravn*), при введении подкожно в дозе 10 мкг трех- и четырехкратно, продемонстрировали эффективную защиту морских свинок против летальной дозы каждого гомологичного штамма, адаптированного к этим животным. При трехкратном подкожном введении по 20 мкг ДНК-вакцины, кодирующей GP MARV *Musoke*, защита зафиксирована только в 67 % от числа инфицированных *Cynomolgus macaques* [30]. Четырехкратное введение внутримышечно по 4 мг ДНК-вакцины, кодирующей GP MARV *Angola*, позволило добиться 100 % защиты *Cynomolgus macaques* [31].

Проведены исследования безопасности и иммуногенности трехвалентной ДНК-вакцины против MARV (*Angola*) и EBOV (*Zaire* и *Sudan*) на добровольцах в возрастном диапазоне 18–60 лет. При трехкратном внутримышечном введении 4 мг пре-

парата у всех добровольцев наблюдался анти-GP ответ. Показано, что уровень CD8⁺-клеточного ответа был выше, чем ответ, обусловленный CD4⁺ клетками. Важно отметить, что ДНК-вакцины не вызвали у добровольцев серьезных побочных эффектов [32]. Исследования моно- и трехвалентной ДНК-вакцины против MARV (*Angola*) и EBOV (*Zaire* и *Sudan*) в Уганде на добровольцах в возрастном диапазоне 18–50 лет, также показало, что эти вакцины хорошо переносятся и вызывают гуморальный и клеточный иммунные ответы [33].

Иммуногены на основе репликонов вируса венесуэльского энцефалита лошадей (*Venezuelan equine encephalitis virus, VEEV*). Одним из направлений создания вакцинных конструкций против филовирсов является использование конструкций на основе репликонов вируса венесуэльского энцефалита лошадей, содержащих гены, кодирующие гликопротеин (GP) или нуклеопротеин (NP) MARV. Показано, что подобные конструкции защищали морских свинок от летальной дозы адаптированного штамма MARV (штамм *Musoke*). Макаки *Cynomolgus*, иммунизированные репликонами VEEV, экспрессирующими GP MARV (штамм *Musoke*), отдельно или в сочетании с NP, были защищены от летальной инфекции, вызванной гомологичным штаммом, но не гетерологичным MARV (штамм *Ravn*). Кроме того, несмотря на наличие виремии, защита наблюдалась в случае использования вектора, кодирующего только NP MARV. От летальной дозы EBOV и MARV были также защищены *Cynomolgus macaques*, иммунизированные трехвалентной вакциной на основе репликона VEEV, экспрессирующего GP EBOV (*Zaire* и *Sudan*) и MARV [23].

Модифицированный вирус осповакцины Анкара (*Modified Vaccinia Ankara, MVA*). Несмотря на то, что рекомбинантный вирус осповакцины, кодирующий GP EBOV (*Zaire*) показал свою низкую эффективность при испытаниях на животных [24, 31], идут исследования иммуногенности и безопасности многовалентной вакцины против филовирсов на основе MVA, кодирующий GP EBOV (*Zaire* и *Sudan*), MARV и NP *Tai Forest* EBOV на людях. В ходе фазы I клинических испытаний задействовано 87 добровольцев. Вакцинация препаратами Ad26.ZEBOV или MVA-BN-Filo не привела к каким-либо серьезным нежелательным последствиям, иммунный ответ наблюдался после первой вакцинации [34].

Аденовирусный вектор (*Adeno-based vaccines, AdV*). Аденовирусы (семейство ДНК-содержащих вирусов позвоночных, лишенных липопротеиновой оболочки) – весьма привлекательная система для генной терапии из-за их широкого тропизма и способности активировать как врожденный, так и индуцировать специфичный иммунный ответ у млекопитающих. Наиболее часто используемая вакцинная платформа – рекомбинантный аденовирус человека серотипа 5 (rAd5), дефектный по репликации. Двукратная подкожная иммунизация морских

свинок трехвалентным вектором rAd5, содержащим последовательности генов GP трех штаммов MARV (*Musoke*, *Ci67* и *Ravn*) в дозе $5 \cdot 10^{7-8}$ БОЕ, защитила животных от летальных доз гомологичных вирусов на 100 %. Единичная внутримышечная иммунизация вектором rAd5, содержащим последовательность гена GP MARV (*Angola*) в дозе 10^{11} вирусных частиц, позволила полностью защитить обезьян от высокой дозы (1000 БОЕ) гомологичного вируса. Комплексное использование ДНК-вакцинации и аденовирусного вектора также обеспечило 100 % выживаемость обезьян. Пятивалентная вакцина rAd5, содержащая белки GP трех штаммов MARV (*Musoke*, *Ci67* и *Ravn*), а также двух штаммов EBOV (*Zaire* и *Sudan*), индуцировала 100 % защиту обезьян *Cynomolgus macaques* от заражения гомологичными штаммами. Однако использование rAd5 имеет серьезные препятствия из-за распространенности ранее существовавшего иммунитета к природному Ad5, который может существенно снизить иммуногенность вакцин и их клиническую полезность. По оценкам экспертов, распространенность антител к Ad5 в общей популяции людей составляет до 60 %, а в Африке до 83 %. Показано, что у макак, предварительно иммунизированных нативным Ad5, не вырабатывался защитный иммунитет против летальной дозы EBOV [23]. Наличие антител к нативному Ad5 приводит к индукции более низкого GP-специфического гуморального и клеточного ответа после вакцинации людей rAd5-GP EBOV [35]. Тем не менее, вакцина на основе rAd5, кодирующая полноразмерный ген GP EBOV (изолята *Makona*, выделенного в 2014 г. в Гвинее), прошла фазу I клинических испытаний в Китае. В обсуждении результатов исследования указывается, что высокая доза вакцины ($1,6 \cdot 10^{11}$ вирусных частиц) позволила снизить у добровольцев негативное влияние предшествующего иммунитета к нативному вектору [36].

Вектор на основе вируса везикулярного стоматита (*Vesicular stomatitis virus, VSV*). Вирус везикулярного стоматита является естественным патогеном домашнего скота, вызывая потерю молока, везикулярные поражения вокруг сосков, рта и копыт. Люди могут заразиться при контакте с животными в сельской местности. VSV – инфекция, у людей обычно протекает бессимптомно, иногда вызывает лихорадку с миалгией, головной болью и тошнотой. Ряд успешно проведенных исследований на животных позволили разработать эффективную вакцину против EBOV (*Zaire*) на основе рекомбинантного вируса везикулярного стоматита (rVSV). Безопасность rVSV для людей показана недавно в отношении ЛЭ в Западной Африке в фазе III клинических испытаний [37]. Получение аналогичной вакцины против MARV пока находится на стадии исследования на животных. Однократная внутримышечная иммунизация *Cynomolgus macaques* rVSV, экспрессирующего ген GP MARV (*Musoke*) в дозе $2 \cdot 10^7$ БОЕ, вызвала сильный иммунный ответ и полную защиту от внутри-

мышечного заражения (через 28 дней) дозой 10^3 БОЕ как гомологичного MARV (*Musoke*), так и гетерологичных штаммов *Popp*, *Angola* и *Ravn*. Показано, что вакцинная платформа rVSV на 100 % эффективна на модели NHPs против аэрозольного заражения MARV (*Musoke*) [38]. В этой же работе продемонстрировано, что трехвалентная однократная вакцина, состоящая из равных количеств трех векторов rVSV (каждый из которых содержал гены GP EBOV (*Zaire* и *Sudan*) и MARV (*Musoke*)), защищала *Cynomolgus macaques* от заражения летальными дозами EBOV (*Zaire*, *Sudan* и *Tai Forest*) и MARV (*Musoke*) [38].

С использованием модели NHPs проведена оценка длительности иммунного ответа после иммунизации rVSV-GP MARV. Иммунизация дозой $2 \cdot 10^7$ БОЕ привела к индукции антител (в титре 1/12800), которые сохранялись в сыворотке крови у животных через год после вакцинации, что позволило обеспечить защиту этих животных при заражении летальной дозой MARV (*Musoke*). При этом уровень нейтрализующих антител сохранялся на среднем уровне, что может говорить об участии в защите от вирусов механизмов антителозависимой клеточно- или комплемент-опосредованной цитотоксичности [6].

Для снижения побочных явлений, таких как артрит и кожные высыпания, которые наблюдались при испытании вакцины против EBOV на основе rVSV, для конструирования трехвалентной вакцины против EBOV (*Zaire*, *Sudan*) и MARV (*Angola*) использовали аттенуированный rVSV. Анализ этой вакцины, состоящей из равной смеси трех векторов аттенуированного rVSV, каждый из которых содержал гены GP EBOV (*Zaire*, *Sudan*) и MARV (*Angola*), проводили на мышах и NHPs. У животных, иммунизированных внутримышечно, на 14-й день развивался сильный гуморальный иммунный ответ, специфичный в отношении белка GP всех вирусных штаммов, и сбалансированный Т-клеточный иммунитет. Однако специфический иммунный ответ в отношении белка GP MARV значительно ниже при иммунизации трехвалентной вакциной по сравнению с соответствующим моновалентным вариантом, что может быть следствием векторной интерференции или иммунологической конкуренции между различными филовирусными белками GP, когда они представлены в виде мультивалентной вакцины [16].

Вирусоподобные частицы (virus-like particle, VLPs). VLPs структурно имитируют аутентичные вирионы, но не содержат генетического материала, поэтому не являются инфекционными и более безопасны, чем репликативные вакцины [23]. Матриксный белок VP40 филовирусов играет ключевую роль в процессе почкования вирионов. Экспрессия полноразмерного гена VP40 EBOV, клонированного в составе экспрессионного вектора, после трансфекции клеток приводит к выходу вирусоподобных частиц, состоящих только из одного белка [39]. Показано также, что белок VP40 не только самостоятельно формирует VLPs, но и повышает их выход при ко-

экспрессии с другими генами. Комбинация белка VP40 с GP или NP в пять раз увеличивала выход VLPs. Сочетание VP40+GP+NP обеспечивало максимальный урожай VLPs EBOV [40]. Иммуногенность VLPs, состоящих из белков GP и VP40 MARV (*Musoke*), полученных в культуре клеток 293T, оценена на морских свинках и *Cynomolgus macaques*. Морские свинки, иммунизированные внутримышечно трехкратно по 50 мкг с адъювантами RIBI или QS-21 полностью защищены от заражения адаптированными штаммами *Musoke*, *Ci67* и *Ravn*. Защита *Cynomolgus macaques* также была достигнута при внутримышечной иммунизации тремя дозами VLPs в концентрации 1 мг в сочетании с адъювантом, QS-21 [41]. VLPs, полученные с использованием бакуловирусной системы, содержащие белки GP, NP и VP40 MARV (*Angola*), защищали макаков *Cynomolgus* от летальной аэрозольной инфекции MARV (*Angola*) [42].

На основе представленных литературных данных можно сделать заключение, что подходящей моделью для дальнейшего анализа патогенеза MARV является сирийский хомяк, демонстрирующий тяжесть коагулопатии, отсутствующую у мышей и морских свинок, но схожую с картиной нарушения свертываемости крови, наблюдаемой у людей и NHPs.

Среди разработанных вакцин – кандидатов против ЛЭ и ЛМ, самыми успешными оказались вакцины на основе вируса везикулярного стоматита. Безопасность для людей rVSV в качестве вакцинного вектора, псевдотипированного GP EBOV, недавно показана в отношении ЛЭ в Западной Африке в фазе III клинических испытаний. Возможно, что в скором времени появится подобная вакцина и против MARV.

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

Работа выполнена в рамках темы ГЗ-№ 2904-р плана основных мероприятий ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора на 2018 г.

Список литературы

1. Sievert R., Shu H.L., Slenczka W., Peters D., Müller G. On the etiology of an unknown human infection originating from monkeys. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 1967; 92(51):2341–3. DOI: 10.1055/s-0028-1106144.
2. Negredo A., Palacios G., Vazquez-Moron S., Gonzalez F., Dopazo H., Molero F., Juste J., Quetglas J., Savji N., dela Cruz-Martinez M., Herrera J.E., Pizarro M., Hutchison S.K., Echevarria J.E., Lipkin W.I., Tenorio A. Discovery of an Ebolavirus-Like Filovirus in Europe. *PLoS Pathog.* 2011; 7(10):e1002304. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002304.
3. Beer B., Kurth R., Bukreyev A. Characteristics of *Filoviridae*: Marburg and Ebola viruses. *Naturwissenschaften.* 1999; 86(1):8–17. DOI: 10.1007/s001140050562.
4. Никифоров В.В., Туровской Ю.И., Калинин П.П. Случай лабораторного заражения лихорадкой Марбург. *Микробиология.* 1994; 63(3):104–10.
5. Townner J.S., Khristova M.L., Sealy T.K., Vincent M. J., Erickson B. R., Bawiec D.A., Hartman A. L., Comer J. A., Zaki S.R., Ströher U., Gomes da Silva F., del Castillo F., Rollin P. E., Ksiazek T. G., Nichol S. T. Marburgvirus genomics and association with a large hemorrhagic fever outbreak in Angola. *J. Virol.* 2006; 80(13):6497–6. DOI: 10.1128/JVI.00069-06.
6. Mire C.E., Geisbert J.B., Agans K.N., Satterfield B.A., Versteeg K.M., Fritz E.A., Feldmann H., Hensley L.E., Geisbert T.W. Durability of a vesicular stomatitis virus based Marburg vi-

- rus vaccine in nonhuman primates. *PLoS One*. 2014; 9(4):e94355. DOI: 10.1371/journal.pone.0094355.
7. Qiu X., Wong G., Audet J., Cutts T., Niu Y., Booth S., Kobinger G.P. Establishment and characterization of a lethal mouse model for the Angola strain of Marburg virus. *J. Virol.* 2014; 88(21):12703–14. DOI: 10.1128/JVI.01643-14.
8. Sridhar S. Clinical development of Ebola vaccines. *Ther. Adv. Vaccines*. 2015; 3(5–6):125–38. DOI: 10.1177/2051013615611017.
9. Baron R.C., McCormick J.B., Zubeir O.A. Ebola virus disease in southern Sudan. Hospital dissemination and intrafamilial spread. *Bull World Health Organ.* 1983; 61(6):997–1003. PubMed PMID: 6370486.
10. Походаев В.А., Гончар Н.И., Пшеничных В.А. Экспериментальное изучение контактной передачи вируса Марбург. *Вопросы вирусологии*. 1991; (6):506–8.
11. Johnson E., Jaax N., White J. Lethal experimental infection of rhesus monkeys by aerosolized Ebola virus. *Int. J. Exp. Pathol.* 1995; 76(4):227–36. PMID: 1997182.
12. Kobinger G.P., Leung A., Neufeld J., Richardson J.S., Falzarano D., Smith G., Tierney K., Patel A., Weingartl H.M. Replication, pathogenicity, shedding, and transmission of Zaire ebolavirus in pigs. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(2):200–8. DOI: 10.1093/infdis/jir077.
13. Weingartl H.M., Embury-Hyatt C., Nfon C., Leung A., Smith G., Kobinger G. Transmission of Ebola virus from pigs to non-human primates. *Sci. Rep.* 2012; 2:811. DOI: 10.1038/srep00811.
14. Schuh A.J., Amman B.R., Jones M.E.B., Sealy T.K., Uebelhoefer L.S., Spengler J.R., Martin B.E., Coleman-McCray J.A.D., Nichol S.T., Towner J.S. Modelling filovirus maintenance in nature by experimental transmission of Marburg virus between Egyptian roussette bats. *Nat. Commun.* 2017; 8:14446. DOI: 10.1038/ncomms14446.
15. Телесманич Н.Р., Микашинович З.И., Ломаковский Н.С., Лосева Т.Д., Чайка С.О. Биохимия вируса Эбола и молекулярные аспекты биологической защиты. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2015; (3):28–34.
16. Matassov D., Mire C.E., Latham T., Geisbert J.B., Xu R., Ota-Setlik A., Agans K.N., Kobs D.J., Wendling M.Q.S., Burnaugh A., Rudge T.L. Jr., Sabourin C.L., Egan M.A., Clarke D.K., Geisbert T.W., Eldridge J.H. Single dose trivalent vesiculovax vaccine protects macaques from lethal Ebolavirus and Marburgvirus challenge. *J. Virol.* 2017; 92(3):e01190–17. DOI: 10.1128/JVI.01190-17.
17. Paweska J. T., Storm N., Grobbelaar A.A., Markotter W., Kemp A., van Vuren P.J. Experimental inoculation of Egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*) with Ebola virus. *Viruses*. 2016; 8(2):E29. DOI: 10.3390/v8020029.
18. Han Z., Bart S.M., Ruthel G., VandeBurgt N.H., Haines K.M., Volk S.W., Vite C.H., Freedman B.D., Bates P., Harty R.N. Ebola virus mediated infectivity is restricted in canine and feline cells. *Vet. Microbiol.* 2016; 182:102–7. DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.11.011.
19. WHO Report. Ebola Reston virus detected pigs in the Philippines. 2009; 14(4):19105. PubMed PMID: 19215709.
20. Краснянский В.П., Михайлов В.В., Борисевич И.В., Градобоев В.Н., Евсеев А.А., Пшеничных В.А. Получение гипериммунной лошадиной сыворотки против вируса Эбола. *Вопросы вирусологии*. 1994; 39(2):91–2.
21. Чепурнов А.А., Мерзликин Н.В., Чепурнова Т.С., Воробьева М.С. Получение кроличьих антисывороток к вирусу Эбола. *Вопросы вирусологии*. 1994; 39(6):286–8.
22. Чепурнов А.А., Кудоярова-Зубовичине Н.М., Дедкова Л.М. Разработка методов получения специфических иммуноглобулинов для экстренной профилактики лихорадки Эбола и изучение их свойств. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 1998; 68(4):24–9.
23. Nakayama E., Saijo M. Animal models for Ebola and Marburg virus infections. *Front. Microbiol.* 2013; 4:267. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00267.
24. Marzi A., Banadyga L., Haddock E., Thomas T., Shen K., Horne E.J., Scott D.P., Feldmann H., Ebihara H. A hamster model for Marburg virus infection accurately recapitulates Marburg hemorrhagic fever. *Sci. Rep.* 2016; 6:39214. DOI: 10.1038/srep39214.
25. Natesan M., Jensen S.M., Keasey S.L., Kamata T., Kuehne A.I., Stonier S.W., Lutwama J.J., Lobel L., Dye J.M., Ulrich R.G. Human survivors of disease outbreaks caused by Ebola or Marburg virus exhibit cross-reactive and long-lived antibody responses. *Clin. Vaccine Immunol.* 2016; 23(8):717–24. DOI: 10.1128/CI.00107-16.
26. Hevey M., Negley D., VanderZanden L., Tammariello R.F., Geisbert J., Schmaljohn C., Smith J.F., Jahrling P.B., Schmaljohn A.L. Marburg virus vaccines: comparing classical and new approaches. *Vaccine*. 2001; 20(3–4):586–93. PubMed PMID: 11672925.
27. Игнат'ев Г.М., Агафонов А.П., Стрельцова М.А., Кузьмин В.А. Сравнительное изучение некоторых иммунологических показателей при введении инактивированного вируса Марбург морским свинкам. *Вопросы вирусологии*. 1991; 36(2):421–3.
28. Ignat'ev G.M., Agafonov A.P., Streltsova M.A., Kashentseva E. A. Inactivated Marburg virus elicits a nonprotective immune response in Rhesus monkeys. *J. Biotechnol.* 1996; 44(1–3):111–18. DOI: 10.1016/0168-1656(95)00104-2.
29. Grant-Klein R.J., Altamura L.A., Badger C.V., Bounds C.E., VanDeusen N.M., Kwilas S.A., Vu H.A., Warfield K.L., Hooper J.W., Hannaman D., Dupuy L.C., Schmaljohn C.S. Codon-optimized filovirus DNA vaccines delivered by intramuscular electroporation protect cynomolgus macaques from lethal Ebola and Marburg virus challenges. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2015; 11(8):1991–2004. DOI: 10.1080/21645515.2015.1039757.
30. Riemenschneider J., Garrison A., Geisbert J., Jahrling P., Hevey M., Negley D., Schmaljohn A., Leea J., Harta M. K., Vanderzanden L., Custer D., Braya M., Ruffa A., Ivins B., Bassettb A., Rossic C., Schmaljohn C. Comparison of individual and combination DNA vaccines for *B. anthracis*, Ebola virus, Marburg virus and Venezuelan equine encephalitis virus. *Vaccine*. 2003; 21(25–26):4071–80. DOI: 10.1016/S0264-410X(03)00362-1.
31. Geisbert T. W., Bailey M., Geisbert J. B., Asiedu C., Roederer M., Grazia-Pau M., Custers J., Jahrling P., Goudsmit J., Koup R., Nancy J., Sullivan N.J. Vector choice determines immunogenicity and potency of genetic vaccines against Angola Marburg virus in nonhuman primates. *J. Virol.* 2010; 84(19):10386–94. DOI: 10.1128/JVI.00594-10.
32. Sarwar U.N., Costner P., Enama M.E., Berkowitz N., Hu Z., Hendel C.S., Sitar S., Plummer S., Mulangu S., Bailer R.T., Koup R.A., Mascola J.R., Nabel G.J., Sullivan N.J., Graham B.S., Ledgerwood J.E; VRC 206 Study Team. Safety and immunogenicity of DNA vaccines encoding Ebolavirus and Marburgvirus wild-type glycoproteins in a phase I clinical trial. *J. Infect. Dis.* 2015; 211(4):549–57. DOI: 10.1093/infdis/jiu511.
33. Kibuuka H., Berkowitz N.M., Millard M., Enama M.E., Tindikahwa A., Sekiziyivu A.B., Costner P., Sitar S., Glover D., Hu Z., Joshi G., Stanley D., Kunchai M., Eller L.A., Bailer R.T., Koup R.A., Nabel G.J., Mascola J.R., Sullivan N.J., Graham B.S., Roederer M., Michael N.L., Robb M.L., Ledgerwood J.E; RV 247 Study Team. Safety and immunogenicity of Ebola virus and Marburg virus glycoprotein DNA vaccines assessed separately and concomitantly in healthy Ugandan adults: a phase 1b, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Lancet*. 2015; 385(9977):1545–54. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)62385-0.
34. Milligan I.D., Gibani M.M., Sewell R., Clutterbuck E.A., Campbell D., Pledest E., Nuthall E., Voysey M., Silva-Reyes L., Mc Elrath M.J., DeRosa S.C., Frahm N., Cohen K.W., Shukarev G., Orzabal N., van Duijnhoven V., Truysers C., Bachmayer N., Splinter D., Samy N., Pau M.G., Schuitemaker H., Luhn K., Callendret B., Van Hoof J., Douoguih M., Ewer K., Angus B., Pollard A.J., Snape M.D. Safety and immunogenicity of novel adenovirus type 26- and modified vaccinia Ankara-vectored Ebola vaccines: a randomised clinical trial. *JAMA*. 2016; 315(15):1610–23. DOI: 10.1001/jama.2016.4218.
35. Dolzhikova I.V., Tokarskaya E.A., Dzharullaeva A.S., Tikhvatulina A.I., Shcheblyakov D.V., Voronina O.L., Syromyatnikova S.I., Borisevich S.V., Pantyukhov V.B., Babira V.F., Kolobukhina L.V., Naroditsky B.S., Logunov D.Y., Gintsburg A. L. Virus-vectored Ebola vaccines. *Acta Naturae*. 2017; 9(3):4–12.
36. Li J.X., Hou L.H., Meng F.Y., Wu S.P., Hu Y.M., Liang Q., Chu K., Zhang Z., Xu J.J., Tang R., Wang W.J., Liu P., Hu J.L., Luo L., Jiang R., Zhu F.C., Chen W. Immunity duration of a recombinant adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine and a homologous prime-boost immunisation in healthy adults in China: final report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet Glob. Health*. 2017; 5(3):e324–e334. DOI: 10.1016/S2214-109X(16)30367-9.
37. Coller B.G., Blue J., Das R., Dubey S., Finelli L., Gupta S., Helmond F., Grant-Klein R.J., Liu K., Simon J., Troth S., Van Rheeën S., Waterbury J., Wivel A., Wolf J., Heppner D.G., Kemp T., Nichols R., Monath T.P. Clinical development of a recombinant Ebola vaccine in the midst of an unprecedented epidemic. *Vaccine*. 2017; 35(35 Pt A):4465–4469. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.05.097.
38. Geisbert T.W., Geisbert J.B., Leung A., Daddario-Dicaprio K.M., Hensley L.E., Grolla A., Feldmann H. Single-injection vaccine protects nonhuman primates against infection with Marburg virus and three species of Ebola virus. *J. Virol.* 2009; 83(14):7296–304. DOI: 10.1128/JVI.00561-09.
39. Noda T., Sagara H., Suzuki E., Takada A., Kida H., Kawaoka Y. Ebola virus VP40 drives the formation of virus-like filamentous particles along with GP. *J. Virol.* 2002; 76(10):4855–65. PubMed PMID: 11967302.
40. Licata J., Johnson R.F., Han Z., Harty R.N. Contribution of Ebola virus glycoprotein, nucleoprotein, and VP24 to budding of VP40 virus-like particles. *J. Virol.* 2004; 78(14):7344–51. DOI: 10.1128/JVI.78.14.7344-7351.2004.
41. Swenson D.L., Warfield K.L., Larsen T., Alves D.A., Coberley S.S., Bavari S. Monovalent virus-like particle vaccine protects guinea pigs and nonhuman primates against infection with multiple Marburg viruses. *Expert. Rev. Vaccines*. 2008; 7(4):417–29. DOI: 10.1586/14760584.7.4.417.
42. Dye J.M., Warfield K.L., Wells J.B., Unfer R.C., Shulenin S., Vu H., Nichols D.K., Aman M.J., Bavari S. Virus-Like Particle Vaccination Protects Nonhuman Primates from Lethal Aerosol

Exposure with Marburgvirus (VLP Vaccination Protects Macaques against Aerosol Challenges). *Viruses*. 2016; 8(4):94. DOI: 10.3390/v8040094.

References

- Siebert R., Shu H.L., Slenczka W., Peters D., Müller G. On the etiology of an unknown human infection originating from monkeys. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 1967; 92(51):2341–3. DOI: 10.1055/s-0028-1106144.
- Negredo A., Palacios G., Vazquez-Moron S., Gonzalez E., Dopazo H., Molero F., Juste J., Quetglas J., Savji N., dela Cruz-Martinez M., Herrera J.E., Pizarro M., Hutchison S.K., Echevarria J.E., Lipkin W.I., Tenorio A. Discovery of an Ebola-like Filovirus in Europe. *PLoS Pathog.* 2011; 7(10):e1002304. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002304.
- Beer B., Kurth R., Bukreyev A. Characteristics of *Filoviridae*: Marburg and Ebola viruses. *Naturwissenschaften*. 1999; 86(1):8–17. DOI: 10.1007/s001140050562.
- Nikiforov V.V., Turovskoi Yu.I., Kalinin P.P. [A case of laboratory infection with Marburg fever]. *Mikrobiologiya*. 1994; 63(3):104–10. (In Russ.)
- Towner J.S., Khristova M.L., Sealy T.K., Vincent M. J., Erickson B. R., Bawiec D.A., Hartman A. L., Comer J. A., Zaki S.R., Ströher U., Gomes da Silva F., del Castillo F., Rollin P. E., Ksiazek T. G., Nichol S. T. Marburgvirus genomics and association with a large hemorrhagic fever outbreak in Angola. *J. Virol.* 2006; 80(13):6497–6. DOI: 10.1128/JVI.00069-06.
- Mire C.E., Geisbert J.B., Agans K.N., Satterfield B.A., Versteeg K.M., Fritz E.A., Feldmann H., Hensley L.E., Geisbert T.W. Durability of a vesicular stomatitis virus based Marburg virus vaccine in nonhuman primates. *PLoS One*. 2014; 9(4):e94355. DOI: 10.1371/journal.pone.0094355.
- Qiu X., Wong G., Audet J., Cutts T., Niu Y., Booth S., Kobinger G.P. Establishment and characterization of a lethal mouse model for the Angola strain of Marburg virus. *J. Virol.* 2014; 88(21):12703–14. DOI: 10.1128/JVI.01643-14.
- Sridhar S. Clinical development of Ebola vaccines. *Ther. Adv. Vaccines*. 2015; 3(5–6):125–38. DOI: 10.1177/2051013615611017.
- Baron R.C., McCormick J.B., Zubeir O.A. Ebola virus disease in southern Sudan. Hospital dissemination and intrafamilial spread. *Bull World Health Organ.* 1983; 61(6):997–1003. PubMed PMID: 6370486.
- Pokhodae V.A., Gonchar N.I., Pshenichnov V.A. [Experimental study of Marburg virus contact-type transmission]. *Voprosy Virusologii*. 1991; (6):506–8. (In Russ.)
- Johnson E., Jaax N., White J. Lethal experimental infection of rhesus monkeys by aerosolized Ebola virus. *Int. J. Exp. Pathol.* 1995; 76(4):227–36. PMID: PMC1997182.
- Kobinger G.P., Leung A., Neufeld J., Richardson J.S., Falzarano D., Smith G., Tierney K., Patel A., Weingartl H.M. Replication, pathogenicity, shedding, and transmission of Zaire ebolavirus in pigs. *J. Infect. Dis.* 2011; 204(2):200–8. DOI: 10.1093/infdis/jir077.
- Weingartl H.M., Embury-Hyatt C., Nfon C., Leung A., Smith G., Kobinger G. Transmission of Ebola virus from pigs to nonhuman primates. *Sci. Rep.* 2012; 2:811. DOI: 10.1038/srep00811.
- Schuh A.J., Amman B.R., Jones M.E.B., Sealy T.K., Uebelhor L.S., Spengler J.R., Martin B.E., Coleman-McCray J.A.D., Nichol S.T., Towner J.S. Modelling filovirus maintenance in nature by experimental transmission of Marburg virus between Egyptian rousette bats. *Nat. Commun.* 2017; 8:14446. DOI: 10.1038/ncomms14446.
- Telesmanich N.R., Mikashinovich Z.I., Lomakovskiy N.S., Loseva T.D., Chaika S.O. [Biochemistry of Ebola virus and molecular aspects of biological protection]. *Zhurnal Fundamental'noi i Molekulyarnoi Meditsiny i Biologii*. 2015; (3):28–34. (In Russ.)
- Matassov D., Mire C.E., Latham T., Geisbert J.B., Xu R., Ota-Setlik A., Agans K.N., Kobs D.J., Wendling M.Q.S., Burnaugh A., Rudge T.L. Jr., Sabourin C.L., Egan M.A., Clarke D.K., Geisbert T.W., Eldridge J.H. Single dose trivalent vesiculovirus vaccine protects macaques from lethal Ebola virus and Marburgvirus challenge. *J. Virol.* 2017; 92(3):e01190–17. DOI: 10.1128/JVI.01190-17.
- Paweska J. T., Storm N., Grobbelaar A.A., Markotter W., Kemp A., van Vuren P.J. Experimental inoculation of Egyptian fruit bats (*Rousettus aegyptiacus*) with Ebola virus. *Viruses*. 2016; 8(2):E29. DOI: 10.3390/v8020029.
- Han Z., Bart S.M., Ruthel G., VandeBurg N.H., Haines K.M., Volk S.W., Vite C.H., Freedman B.D., Bates P., Harty R.N. Ebola virus mediated infectivity is restricted in canine and feline cells. *Vet. Microbiol.* 2016; 182:102–7. DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.11.011.
- WHO Report. Ebola Reston virus detected pigs in the Philippines. 2009; 14(4):19105. PubMed PMID: 19215709.
- Krasnyansky V.P., Mikhailov V.V., Borisevich I.V., Gradoboev V.N., Evseev A.A., Pshenichnov V.A. [Production of hyper-immune equine serum against Ebola virus]. *Voprosy Virusologii*. 1994; 39(2):91–2. (In Russ.)
- Chepurinov A.A., Merzlikin N.V., Chepurinova T.S., Vorob'eva M.S. [Production of rabbit anti-sera to Ebola virus]. *Voprosy Virusologii*. 1994; 39(6):286–8. (In Russ.)
- Chepurinov A.A., Kudoyarova-Zubovichina N.M., Dedkova L.M. [Development of the methods for specific immunoglobulin production for emergency prophylaxis of Ebola fever and investigation of the immunoglobulin properties]. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences (Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk)*. 1998; 68(4):24–9. (In Russ.)
- Nakayama E., Saijo M. Animal models for Ebola and Marburg virus infections. *Front. Microbiol.* 2013; 4:267. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00267.
- Marzi A., Banadyga L., Haddock E., Thomas T., Shen K., Horne E.J., Scott D.P., Feldmann H., Ebihara H. A hamster model for Marburg virus infection accurately recapitulates Marburg hemorrhagic fever. *Sci. Rep.* 2016; 6:39214. DOI: 10.1038/srep39214.
- Natesan M., Jensen S.M., Keasey S.L., Kamata T., Kuehne A.I., Stonier S.W., Lutwama J.J., Lobel L., Dye J.M., Ulrich R.G. Human survivors of disease outbreaks caused by Ebola or Marburg virus exhibit cross-reactive and long-lived antibody responses. *Clin. Vaccine Immunol.* 2016; 23(8):717–24. DOI: 10.1128/CI.00107-16.
- Hevey M., Negley D., VanderZanden L., Tammariello R.F., Geisbert J., Schmaljohn C., Smith J.F., Jahrling P.B., Schmaljohn A.L. Marburg virus vaccines: comparing classical and new approaches. *Vaccine*. 2001; 20(3–4):586–93. PubMed PMID: 11672925.
- Ignat'ev G.M., Agafonov A.P., Strel'tsova M.A., Kuz'min V.A. [Comparative study of certain immunological features in case of inoculation of guinea pigs with inactivated Marburg virus]. *Voprosy Virusologii*. 1991; 36(2):421–3. (In Russ.)
- Ignat'ev G.M., Agafonov A.P., Strel'tsova M.A., Kashentseva E. A. Inactivated Marburg virus elicits a nonprotective immune response in Rhesus monkeys. *J. Biotechnol.* 1996; 44(1–3):111–18. DOI: 10.1016/0168-1656(95)00104-2.
- Grant-Klein R.J., Altamura L.A., Badger C.V., Bounds C.E., VanDeusen N.M., Kwilas S.A., Vu H.A., Warfield K.L., Hooper J.W., Hannaman D., Dupuy L.C., Schmaljohn C.S. Codon-optimized filovirus DNA vaccines delivered by intramuscular electroporation protect cynomolgus macaques from lethal Ebola and Marburg virus challenges. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2015; 11(8):1991–2004. DOI: 10.1080/21645515.2015.1039757.
- Riemenschneider J., Garrison A., Geisbert J., Jahrling P., Hevey M., Negley D., Schmaljohn A., Leea J., Harta M. K., Vanderzanden L., Custer D., Bray M, Ruffa A, Ivins B, Bassett A, Rossic C, Schmaljohn C. Comparison of individual and combination DNA vaccines for *B. anthracis*, Ebola virus, Marburg virus and Venezuelan equine encephalitis virus. *Vaccine*. 2003; 21(25–26):4071–80. DOI: 10.1016/S0264-410X(03)00362-1.
- Geisbert T. W., Bailey M., Geisbert J. B., Asiedu C., Roederer M., Grazia-Pau M., Custers J., Jahrling P., Goudsmit J., Koup R., Nancy J. Sullivan N.J. Vector choice determines immunogenicity and potency of genetic vaccines against Angola Marburg virus in nonhuman primates. *J. Virol.* 2010; 84(19):10386–94. DOI: 10.1128/JVI.00594-10.
- Sarwar U.N., Costner P., Enama M.E., Berkowitz N., Hu Z., Hendel C.S., Sitar S., Plummer S., Mulangu S., Bailer R.T., Koup R.A., Mascola J.R., Nabel G.J., Sullivan N.J., Graham B.S., Ledgerwood J.E.; VRC 206 Study Team. Safety and immunogenicity of DNA vaccines encoding Ebola virus and Marburgvirus wild-type glycoproteins in a phase I clinical trial. *J. Infect. Dis.* 2015; 211(4):549–57. DOI: 10.1093/infdis/jiu511.
- Kibuuka H., Berkowitz N.M., Millard M., Enama M.E., Tindikahwa A., Sekiziyi A.B., Costner P., Sitar S., Glover D., Hu Z., Joshi G., Stanley D., Kunchai M., Eller L.A., Bailer R.T., Koup R.A., Nabel G.J., Mascola J.R., Sullivan N.J., Graham B.S., Roederer M., Michael N.L., Robb M.L., Ledgerwood J.E.; RV 247 Study Team. Safety and immunogenicity of Ebola virus and Marburg virus glycoprotein DNA vaccines assessed separately and concomitantly in healthy Ugandan adults: a phase 1b, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Lancet*. 2015; 385(9977):1545–54. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)62385-0.
- Milligan I.D., Gibani M.M., Sewell R., Clutterbuck E.A., Campbell D., Pledest E., Nuthall E., Voysey M., Silva-Reyes L., Mc Elrath M.J., DeRosa S.C., Frahm N., Cohen K.W., Shukarev G., Orzabal N., van Duijnhoven W., Truysers C., Bachmayer N., Splinter D., Samy N., Pau M.G., Schuitemaker H., Luhn K., Callendret B., Van Hoof J., Dougouih M., Ewer K., Angus B., Pollard A.J., Snape M.D. Safety and immunogenicity of novel adenovirus type 26- and modified vaccinia Ankara-vectored Ebola vaccines: a randomized clinical trial. *JAMA*. 2016; 315(15):1610–23. DOI: 10.1001/jama.2016.4218.
- Dolzikhova I.V., Tokarskaya E.A., Dzharullaeva A.S., Tukhvatulin A.I., Shcheblyakov D.V., Voronina O.L., Syromyatnikova S.I., Borisevich S.V., Pantukhov V.B., Babira V.F., Kolobukhina L.V., Naroditsky B.S., Logunov D.Y., Gintsburg A. L. Virus-vectored Ebola vaccines. *Acta Naturae*. 2017; 9(3):4–12.
- Li J.X., Hou L.H., Meng F.Y., Wu S.P., Hu Y.M., Liang Q., Chu K., Zhang Z., Xu J.J., Tang R., Wang W.J., Liu P, Hu J.L., Luo L., Jiang R., Zhu F.C., Chen W. Immunity duration of a recombinant

adenovirus type-5 vector-based Ebola vaccine and a homologous prime-boost immunisation in healthy adults in China: final report of a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet Glob. Health*. 2017; 5(3):e324–e334. DOI: 10.1016/S2214-109X(16)30367-9.

37. Collier B.G., Blue J., Das R., Dubey S., Finelli L., Gupta S., Helmond F., Grant-Klein R.J., Liu K., Simon J., Troth S., Van Rheenen S., Waterbury J., Wivel A., Wolf J., Heppner D.G., Kemp T., Nichols R., Monath T.P. Clinical development of a recombinant Ebola vaccine in the midst of an unprecedented epidemic. *Vaccine*. 2017; 35(35 Pt A):4465–4469. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.05.097.

38. Geisbert T.W., Geisbert J.B., Leung A., Daddario-Dicaprio K.M., Hensley L.E., Grolla A., Feldmann H. Single-injection vaccine protects nonhuman primates against infection with Marburg virus and three species of Ebola virus. *J. Virol.* 2009; 83(14):7296–304. DOI: 10.1128/JVI.00561-09.

39. Noda T., Sagara H., Suzuki E., Takada A., Kida H., Kawaoka Y. Ebola virus VP40 drives the formation of virus-like filamentous particles along with GP. *J. Virol.* 2002; 76(10):4855–65. PubMed PMID: 11967302.

40. Licata J., Johnson R.F., Han Z., Harty R.N. Contribution of Ebola virus glycoprotein, nucleoprotein, and VP24 to budding of VP40 virus-like particles. *J. Virol.* 2004; 78(14):7344–51. DOI: 10.1128/JVI.78.14.7344-7351.2004.

41. Swenson D.L., Warfield K.L., Larsen T., Alves D.A., Coberley S.S., Bavari S. Monovalent virus-like particle vaccine

protects guinea pigs and nonhuman primates against infection with multiple Marburg viruses. *Expert. Rev. Vaccines*. 2008; 7(4):417–29. DOI: 10.1586/14760584.7.4.417.

42. Dye J.M., Warfield K.L., Wells J.B., Unfer R.C., Shulenin S., Vu H., Nichols D.K., Aman M.J., Bavari S. Virus-Like Particle Vaccination Protects Nonhuman Primates from Lethal Aerosol Exposure with Marburgvirus (VLP Vaccination Protects Macaques against Aerosol Challenges). *Viruses*. 2016; 8(4):94. DOI: 10.3390/v8040094.

Authors:

Volkova N.V., Kazachinskaya E.I., Shcherbakov D.N. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology “Vector”. Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

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

Поступила 05.09.18.

Принята к публ. 13.09.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-16-24

УДК 614.4:628.1/9

И.Г. Карнаухов, И.Н. Шарова, Е.С. Казакова, К.М. Морозов, С.А. Щербакова, В.В. Кутырев

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОБИЛЬНЫХ ЛАБОРАТОРИЙ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ ЗА РУБЕЖОМ И В РОССИИ: РЕАЛИИ СЕГОДНЯШНЕГО ДНЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

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

Проведен анализ имеющейся информации о наличии и использовании мобильных лабораторий биологического профиля в целях осуществления индикации и идентификации патогенных биологических агентов в зарубежных странах и Российской Федерации. Выделены основные типы мобильных лабораторий, имеющих за рубежом и в России. Представлены основные этапы эволюции создания и применения мобильных лабораторий в системе противочумных учреждений Роспотребнадзора, показано расширение спектра направлений их использования в России. Проанализировано практическое применение российских мобильных лабораторий в России и за рубежом для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия при проведении массовых мероприятий, ликвидации последствий стихийных бедствий, реагировании на эпидемические проявления особо опасных инфекционных болезней. Выделены основные направления использования мобильных лабораторий биологического профиля в России. Освещено их использование в ходе выполнения Российской Федерацией различных программ оказания содействия странам-партнерам по вопросам реализации Международных медико-санитарных правил (2005), борьбы с опасными инфекционными болезнями. Представлены новейшие разработки – модернизированный мобильный комплекс СПЭБ второго поколения, мобильная лаборатория мониторинга и диагностики, аэромобильный противоэпидемический комплекс.

Ключевые слова: мобильные лаборатории биологического профиля, чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера, инфекционные болезни, система противочумных учреждений Роспотребнадзора.

Корреспондирующий автор: Карнаухов Игорь Геннадиевич, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Карнаухов И.Г., Шарова И.Н., Казакова Е.С., Морозов К.М., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Использование мобильных лабораторий биологического профиля за рубежом и в России: реалии сегодняшнего дня и перспективы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:16–24. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-16-24

I.G. Karnaukhov, I.N. Sharova, E.S. Kazakova, K.M. Morozov, S.A. Shcherbakova, V.V. Kutyrev

Usage of Mobile Laboratories of Biological Expertise Abroad and in Russia: Present Day Realities and Prospects

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

Abstract. We analyzed the data on availability and usage of mobile laboratories of biological expertise for indication and identification of pathogenic biological agents in foreign countries and in the Russian Federation. We outlined the major types of mobile units that exist abroad and in Russia. Key stages of evolution in design and deployment of mobile laboratories in the network of plague control institutions of the Rospotrebnadzor were described, as well as the broadening of the range of their use in Russia. We assessed operational use of the Russian mobile laboratories, both in Russia and abroad, in the provision of sanitary-epidemiological welfare during mass events, disaster management, and response to epidemic manifestations of particularly dangerous infectious diseases. Major trends in implementation of mobile units of biological expertise in Russia were identified. We addressed their usage in various State Programs on assistance to partner-countries in the matters of International Health Regulations (2005) implementation, control over dangerous infectious diseases. Advanced inventions – Second generation modernized mobile complex of the specialized anti-epidemic teams, mobile laboratory for monitoring and diagnostics, and airmobile anti-epidemic complex – were discussed.

Key words: mobile laboratories of biological expertise, emergency situations of sanitary-epidemiological character, infectious diseases, Rospotrebnadzor plague control institutions network.

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

Corresponding author: Igor G. Karnaukhov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Karnaukhov I.G., Sharova I.N., Kazakova E.S., Morozov K.M., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Usage of Mobile Laboratories of Biological Expertise Abroad and in Russia: Present Day Realities and Prospects. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:16–24. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-16-24

Received 20.07.18. Accepted 22.08.18.

В настоящее время практически всеми развитыми странами производится и используются мобильные лаборатории биологического профиля, предназначенные для индикации и идентификации патогенных биологических агентов (ПБА) и биологических токсинов [14, 17, 19, 22].

Это могут быть сборно-разборные модульные (перемещаемые любыми видами транспортных средств) и мобильные (смонтированные на базе автошасси) комплексы.

Зарубежные образцы специализированных автотехнологий представлены универсальными ав-

толабораториями РХБ-разведки (радиационной, химической, биологической) [13, 15, 21], а также специализированными машинами биологической разведки. Автолаборатории находятся на вооружении специальных подразделений силовых министерств и ведомств и предназначены для установления фактов преднамеренного применения патогенных биологических агентов [10, 16, 20].

Широкое распространение на современном этапе получили и мобильные лаборатории биологического профиля гражданских ведомств, предназначенные для индикации и идентификации возбудителей опасных инфекционных болезней при возникновении эпидемий.

Мобильные автолаборатории биологического профиля в США. Имеется информация о мобильной РХБ-лаборатории «ALS» (Analytical Laboratory System) на шасси грузового автомобиля GMC 500 производства корпорации «Дженерал моторс», используемой группами быстрого реагирования национальной гвардии сухопутных войск США при применении оружия массового поражения [9].

Для обнаружения ПБА в лаборатории «ALS» используются флюоресцентный микроскоп; прибор для проведения иммунологических исследований M1M американской фирмы «BioVeris»; два бокса микробиологической безопасности третьего класса защиты, универсальный диагностический комплект «JBAIDS» (Joint Biological Agent Identification and Diagnostic System) для идентификации биологических поражающих агентов с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Лаборатория также укомплектована оборудованием для обнаружения химических веществ на основе масс-спектрометрического анализа.

Известно и о мобильных РХБ-лабораториях «CALS2» (Common Analytical Laboratory System). Для министерства обороны и гражданских силовых структур США создано несколько типов РХБ-лабораторий: на шасси грузового автомобиля M1078 фирмы «Stewart & Stevenson»; на базе двухстороннего контейнера переменной емкости; на базе двухосного прицепа, буксируемого седельным тягачом [9].

Мобильными РХБ-лабораториями на шасси грузового фургона «GMC» оснащена служба реагирования на чрезвычайные ситуации с применением опасных химических веществ и биологических агентов CBIRF (Chemical and Biological Incident Response Force) морской пехоты США. Лаборатория оборудована дизель-генератором мощностью 6 кВт, хромато-, масс-, гамма- и ИК-спектрометрами, укладкой для обнаружения БПА, микробиологическим боксом, амплификатором для детекции нуклеиновых кислот с помощью полимеразной цепной реакции и другой аппаратурой [3].

Мобильные лаборатории различного предназначения производит американская компания «Germfree» (USA). Выбор платформ для постройки лабораторий достаточно широк. К их числу отно-

сятся трейлеры, грузовики и транспортные контейнеры. Платформы для мобильных лабораторий соответствуют III уровню биологической безопасности. Лаборатории оснащены автономными системами энергоснабжения, фильтровентиляционными системами с HEPA-фильтрами.

Мобильные автолаборатории биологического профиля в Европе. Вооруженные силы Германии, Швеции и Швейцарии используют мобильную РХБ-лабораторию производства немецкой фирмы «Rheinmetall Land System» [18]. Она включает в себя четыре отдельных модуля (химический, биологический, радиометрический и управления), которые могут прибывать в зону заражения своим ходом или доставляться авиационным транспортом. Модули смонтированы на шасси 5-т грузовиков фирмы «Daimler AG».

Биологический модуль представляет собой лабораторию с уровнем биологической безопасности BSL-3, оснащенную газовым хроматографом, боксом микробиологической безопасности, масс-спектрометром, пробоотборником, микроскопами (люминесцентный, инвертированный и стереоскопический), набором питательных сред, центрифугами, миксерами; автоклавом, фотометром, комплектом для проведения ПЦР-диагностики «Smart Cycler» и аппаратурой для проведения иммуноферментного анализа, а также средствами связи (УКВ-радиостанция, аппаратура цифровой и спутниковой связи) [9].

Научно-техническим центром Министерства обороны Финляндии и фирмой «Инвайроникс» разработана химико-биологическая лаборатория на базе буксируемого четырехосного автомобильного прицепа. Лаборатория может транспортироваться наземным, железнодорожным и воздушным транспортом. Запасы расходного имущества и материалов обеспечивают ее непрерывную эксплуатацию в течение 72 ч.

Лаборатория включает в себя три модуля – биологический, химический и радиологический. Первый из них укомплектован укладкой для проведения полимеразной цепной реакции «Real-time PCR 7300» («Applied Biosystems», США), аппаратурой для идентификации ПБА «Рапид» («Idaho Technologies», США), прибором для проведения иммунологических исследований M1M, а также боксом микробиологической безопасности III класса защиты [9].

Итальянская фирма «CRISTANINI S.p.A» производит автономные лаборатории различного профиля на базе контейнеров, которые могут транспортироваться железнодорожным, воздушным, морским, автомобильным транспортом.

Итальянской фирмой «CRISTANINI S.p.A», совместно с «BioTrace Microsafe», разработана биологическая лаборатория B-LAB/1104, выполненная на базе цельнометаллического контейнера из нержавеющей стали (размер 6,1×2,4×2,4 м).

Лаборатория имеет автономное энергообеспечение, высокий уровень биологической защиты, обеспечиваемый наличием фильтровентиляционных систем, автономную систему водоснабжения с двумя резервуарами для чистой и загрязненной воды по 300 л. Работы можно проводить в автономном режиме в течение 72 ч. Масса полностью снаряженного контейнера 8 т.

В состав специального оборудования биологической лаборатории входят: бокс микробиологической безопасности третьего класса защиты, автоклав, холодильная установка, прибор для проведения иммунологических исследований, универсальный диагностический комплект «JBAIDS» для идентификации ПБА с помощью ПЦР. Стоимость одной такой лаборатории 6 млн долларов США [11].

На оснащении итальянской армии и противопожарной службы находятся автолаборатории на базе автошасси, разработанные фирмой Biotrace Microsafe (Италия) по техническому заданию армии Италии и логистического агентства НАТО [16]. Лаборатории оснащены всеми необходимыми системами жизнеобеспечения, позволяющими работать в автономном режиме, и оборудованием для проведения анализов.

Итальянское отделение организации Красный Крест оснащено мобильными лабораториями контейнерного типа производства фирмы «R.I. SpA - Modular Building System» (Италия) [17]. Основное назначение лабораторий – проведение различных диагностических тестов (клинических, биологических и др.) у больных непосредственно в зоне ЧС. В их оснащении реализован принцип «laboratory in a cartridge» – используются автоматические анализаторы, выдающие результат в режиме реального времени при исследовании 100 мкл крови, сыворотки или плазмы.

Для сил гражданской обороны ФРГ, КНР и Республики Корея специалисты германской фирмы «Gimax-Schmitz» разработали мобильную РХБ-лабораторию.

Для проведения биологического анализа в состав специального оборудования лаборатории включены: комплект отбора биологических проб, перчаточный бокс, автоклав, ламинарный шкаф и комплект для проведения ПЦР-диагностики «Light Cycler».

Имеются также отсек для проведения специальной обработки защитной одежды, средства индивидуальной и коллективной защиты, электрогенератор, компрессор, резервуары для чистой и загрязненной воды, холодильная установка для хранения образцов и реагентов [9].

Разработке мобильных лабораторий различного типа посвящен Европейский проект по мобильным лабораториям (European Mobile Laboratory, EMLab). Он финансировался Управлением по сотрудничеству Генерального директората Европейской комиссии по развитию и сотрудничеству (EuropeAid) и координировался Институтом тропической медицины им. Бернарда Нохта в Гамбурге (Германия).

В разработке мобильных лабораторий принимали участие ведущие научно-исследовательские учреждения здравоохранения стран Европейского союза: Великобритании (Служба общественного здравоохранения Англии, Портон-Даун), Германии (Институт микробиологии Вооруженных сил Германии, Мюнхен; Марбургский университет; Институт им. Роберта Коха, Берлин), Италии (Национальный институт инфекционных болезней им. Ладзаро Спалланцани, Рим), Франции (Лаборатория P4 Национального института здравоохранения и медицинских исследований (INSERM-P4); Институт Пастера, Лион), Швейцарии (Лаборатория г. Спиз), Словении (Люблянский университет) и Венгрии (Национальный центр эпидемиологии, Будапешт) [12].

Использовались мобильные лаборатории в основном двух типов – сборно-разборные модульные (перемещаемые любыми видами транспортных средств) и мобильные (смонтированные на базе автошасси) комплексы.

Сборно-разборные модульные комплексы в разобранном виде представляли собой 10–15 коробок весом 30 кг каждая, способные перемещаться пассажирским авиатранспортом или двумя грузовиками. Лаборатория разворачивается в специальной каркасной палатке и укомплектована необходимым современным оборудованием для проведения исследований (серологических и молекулярно-генетических).

Разработка мобильных лабораторий биологического профиля в Российской Федерации. На оснащении вооруженных сил Российской Федерации имеются мобильные лаборатории биологического профиля для проведения противоэпидемических мероприятий, в том числе индикации ПБА в объектах окружающей среды.

Войска РХБ-защиты снабжены мобильным комплексом «Сыч». Он включает в себя две лаборатории с уровнем биологической защиты BSL-3 и штабной модуль, смонтированные в специальных контейнерах, размещенных на автошасси автомашин КАМАЗ. Лаборатории предназначены для определения наличия в воздухе биологического аэрозоля, проведения индикации ПБА методами ПЦР и иммуноферментного анализа (ИФА). Оснащены боксами биологической безопасности III класса защиты (в одной лаборатории – 2 бокса, в другой – 1). В каждой лаборатории оборудовано по два рабочих места. Фильтровентиляционные системы лабораторий позволяют создавать в рабочих помещениях пониженное давление. Есть также возможность создания повышенного давления в случае необходимости прохождения очага биологического заражения. Лаборатории оборудованы шлюзовыми камерами для передачи материала и санпропускниками с душем. Имеются автономные электрогенераторы.

Штабной модуль оборудован системами связи, видеонаблюдения (видеокамеры смонтированы в помещениях лабораторий). Для личного состава имеются четыре спальных места.

В состав комплекса входит лаборатория эпидразведки и индикации на базе автомашины «Газель». Лаборатория укомплектована оборудованием для отбора проб из объектов окружающей среды (проб воздуха, воды, почвы). Имеется установленное на виброплатформе оборудование для проведения индикации методом ПЦР.

В то же время в гражданской сфере, после созданных в 1973 г. на шасси автомобиля ГАЗ-66 лабораторий АЛ-3 и АЛ-4, до 2006 г. ничего нового не разрабатывалось и мобильные лаборатории для диагностики возбудителей инфекционных болезней практически не использовались.

Разработка мобильных лабораторий биологического профиля в РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. В 2006 г. в РосНИПЧИ «Микроб», совместно с ЗАО «Радиян» (Саратов), на базе полноприводного автомобиля ГАЗ 2705 разработана и создана мобильная лаборатория эпидемиологической разведки и индикации. Разработка защищена патентом (Кутырев В.В. и соавт. Патент № 61209 «Мобильная лаборатория эпидразведки и индикации»). Лаборатория имела автономные системы энергообеспечения, вентиляции, отопления и кондиционирования, а также водоснабжения. Наличие бокса микробиологической безопасности III класса защиты, системы приточно-вытяжной вентиляции с фильтрами тонкой очистки высокой эффективности обеспечивали достаточно высокий уровень биологической безопасности. Лаборатория предназначалась для проведения исследований (индикации ПБА) с помощью методов экспресс и ускоренной диагностики: ПЦР, ИФА, метода флюоресцирующих антигенов (МФА) [2].

В 2007–2008 гг. в РосНИПЧИ «Микроб» впервые в мировой практике научно обоснован, разработан и, совместно с ООО «Автоспектр НН» (Нижний Новгород), создан комплекс мобильных лабораторий специализированной противоэпидемической бригады (СПЭБ) на базе автошасси КАМАЗ 43118 и спецавтоприцепов. Научная новизна инновационных разработок защищена шестью патентами Российской Федерации (Кутырев В.В. и соавт. Патент № 66723 «Мобильный противоэпидемический комплекс»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 65434 «Лаборатория санитарно-гигиенических исследований»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 65435 «Бактериологическая лаборатория»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 65436 «Лаборатория индикации»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 65437 «Лаборатория особо опасных инфекций»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 65833 «Блок поддержки бактериологических исследований»).

Комплекс включал шесть модулей: штабной модуль, лаборатории индикации, особо опасных инфекций, бактериологическую лабораторию, санитарно-гигиеническую лабораторию и блок поддержки бактериологических исследований. Структурно-функциональные и технические особенности лабораторий

мобильного комплекса рассмотрены ранее [6, 7].

В лабораториях мобильного комплекса обеспечен высокий уровень биологической безопасности – BSL-2-3 в соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ).

В отличие от мобильных лабораторий на базе автошасси зарубежного производства, предназначенных, как правило, только для проведения индикации ПБА, мобильный комплекс СПЭБ позволял выполнить в автономных условиях весь комплекс исследований, необходимых для оценки эпидемиологической и санитарно-гигиенической обстановки в зоне ЧС с использованием практически всего комплекса современных методов лабораторного исследования: ПЦР, ИФА, МФА, иммуно-хроматографический анализ (ИХА), классический бактериологический метод, постановка биопроб с использованием лабораторных животных, использование микробиологических автоматических анализаторов, мультилокусное секвенирование. Лаборатории мобильного комплекса СПЭБ (МК СПЭБ) могут перемещаться в зону ЧС как своим ходом по автомагистралям, так и любыми видами транспорта, включая авиационный.

Таковыми комплексами в 2008–2009 гг. укомплектованы СПЭБ пяти противочумных институтов Роспотребнадзора.

В ходе разработки данного комплекса научно обоснованы 10 основных принципов разработки и создания мобильных лабораторий для осуществления лабораторной диагностики инфекционных болезней: соответствие структуры мобильной лаборатории тем функциям, которые она должна выполнять; автономность; мобильность; соответствие требованиям Технического регламента о безопасности колесных транспортных средств и требованиям Правил дорожного движения; высокая технологичность; биологическая безопасность; компактность и эргономичность; комфортность для персонала; экономическая целесообразность; пожарная безопасность [1].

Все вышеперечисленные принципы учтены при создании еще одной оригинальной разработки, проведенной в рамках реализации федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 гг.)». Научно обоснована и создана проектная документация на мобильную лабораторию индикации для осуществления эпизоотологического мониторинга особо опасных и других природно-очаговых инфекций.

Научная новизна данной разработки защищена патентами Российской Федерации (Кутырев В.В. и соавт. Патент № 112112 «Мобильная лаборатория для осуществления эпизоотологического мониторинга особо опасных и других природно-очаговых инфекций»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 98369 «Мобильная лаборатория для осуществления эпизоотологического мониторинга особо опасных и других природно-очаговых инфекций»).

Практический опыт использования мобильных лабораторий биологического профиля в России и за рубежом. Лаборатории МК СПЭБ Роспотребнадзора в последнее десятилетие неоднократно задействовались для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в ходе проведения массовых мероприятий. Это такие масштабные мероприятия, как XXVII Всемирная летняя универсиада 2013 г. в Казани, саммит «Группы двадцати» в Санкт-Петербурге (2013 г.), XXII Олимпийские и XI Паралимпийские зимние игры в Сочи в 2014 г., саммит стран ШОС и государств БРИКС в Уфе в 2015 г., XVI Чемпионат мира по водным видам спорта в Казани в 2015 г., Чемпионат мира по футболу 2018 г. При этом задействовались как МК СПЭБ в полном составе (Казань 2013, Сочи), так и отдельные модули из состава комплекса (Санкт-Петербург, Уфа, Казань 2015, Ростов-на-Дону 2018, Казань 2018) [4, 5].

Необходимо отметить, что СПЭБ противочумных институтов Роспотребнадзора имеют на оснащении и мобильные лаборатории на базе пневмокаркасных модулей, комплементарные по своему назначению и названию лабораториям МК СПЭБ. Данные лаборатории также были востребованы в практической работе СПЭБ, в частности – при обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в зоне вооруженного конфликта в Южной Осетии в 2008 г., при ликвидации последствий масштабного наводнения в Дальневосточном федеральном округе в 2013 г.

Наиболее наглядным примером востребованности мобильных лабораторий биологического профиля стало их широкое использование в 2014–2015 гг. в ходе ликвидации эпидемии болезни, вызванной вирусом Эбола (БВВЭ) в странах Западной Африки, в которых отсутствовала сеть собственных стационарных лабораторий с соответствующим уровнем биологической безопасности. Так, во Фритауне (Сьерра-Леоне) использовались мобильные лаборатории CDC Китая на базе автошасси. В Либерии находились две мобильные лаборатории центра медицинских исследований Военно-морских сил США (OIC NMRC); в Сьерра-Леоне – лаборатории Службы общественного здравоохранения Великобритании (PH England Mobile Lab). В Сьерра-Леоне и Либерию также направили три мобильные лаборатории, произведенные компанией Hospitainer по заказу Министерства иностранных дел Нидерландов. В Гвинее функционировала бельгийская мобильная лаборатория B-LiFE (Biological Light fieldable laboratory), оборудованная на базе контейнеров, которые могут доставляться к месту назначения различными видами транспорта.

В Гвинее также использовались мобильные лаборатории, предоставленные компанией K-Plan (Лион, Франция). Мобильный комплекс в разобранном виде транспортировался в Гвинею пассажирским авиатранспортом. Лабораторию собрали и установили на базе мини-фургона.

С начала эпидемии БВВЭ в странах Западной Африки функционировали мобильные лаборатории Управления Министерства обороны США по снижению угрозы (Сьерра-Леоне, округ Moyamba), Национального института биомедицинских исследований Демократической Республики Конго (Либерия, графство Bong), мобильная лаборатория Института Пастера в Лионе (Гвинея, Macenta).

В целом на территории пораженных стран Западной Африки было развернуто 26 мобильных комплексов.

В борьбе с эпидемией БВВЭ в Гвинейской Республике задействовали две лаборатории из состава мобильного комплекса СПЭБ Роспотребнадзора. Работа СПЭБ продолжалась в автономном режиме с 22.08.2014 г. по 22.01.2016 г. Вахтовым методом в Гвинее отработало более 40 специалистов Роспотребнадзора. За этот период проведено более 13 тыс. исследований на наличие возбудителя Эболы и широкий спектр других инфекционных болезней.

Впервые в новейшей истории Российской Федерации СПЭБ Роспотребнадзора принял участие в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия на территории зарубежного государства. Это стало возможным, в том числе, благодаря наличию мобильных лабораторных комплексов СПЭБ на базе автошасси.

Мобильные лаборатории СПЭБ Роспотребнадзора впервые прошли валидацию на международном уровне – ВОЗ включила их в международную систему ответных мер в борьбе с эпидемией лихорадки Эбола [8].

В дальнейшем две мобильные лаборатории из состава МК СПЭБ передали Российской Федерацией в дар Гвинейской Республике, которые и по настоящее время продолжают функционировать в рамках работы Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней.

Разработка модернизированного мобильного комплекса СПЭБ второго поколения. С учетом опыта работы СПЭБ в Гвинейской Республике, в рамках реализации распоряжения Правительства Российской Федерации от 17.12.2015 г. № 2575-р, в РосНИПЧИ «Микроб» разработан модернизированный мобильный комплекс СПЭБ второго поколения. Объем финансирования составил 158 млн рублей. То есть стоимость одной автолаборатории из состава комплекса составила в среднем около 500 тыс. американских долларов, что в 12 раз меньше стоимости биологической лаборатории итальянского производства, упомянутой выше.

Разработка защищена шестью патентами Российской Федерации (Кутырев В.В. и соавт. Патент № 2623367 «Мобильный противоэпидемический комплекс»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 171529 «Индикационная лаборатория»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 171530 «Бактериологическая лаборатория»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 171531

«Лаборатория поддержки бактериологических исследований»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 171532 «Лаборатория особо опасных инфекций»; Кутырев В.В. и соавт. Патент № 171616 «Санитарно-микробиологическая лаборатория»).

Модернизированный МК СПЭБ включает: мобильный пункт управления и пять лабораторий различного профиля – особо опасных инфекций, индикации, санитарно-микробиологическую и бактериологическую лаборатории, а также блок поддержки бактериологических исследований с уровнем биологической защиты BSL- 3.

Модернизированный МК СПЭБ второго поколения обеспечивает:

1. снижение риска биологической опасности за счет расширения арсенала инженерно-технических средств, обеспечивающих высокий уровень биологической безопасности, соответствующий мировым стандартам в области биологической безопасности, в том числе использования модернизированных боксов микробиологической безопасности повышенного класса защиты; дополнительной установки автоклавов в рабочих помещениях лабораторий; автоматической системы поддержания отрицательного давления воздуха во всех лабораториях с визуализацией его величины; оснащения рабочих помещений лабораторий системой видеорегистрации;

2. работу персонала, лабораторного и высоко-технологичного оборудования в экстремальных климатических условиях за счет использования теплоизоляционных материалов с повышенными характеристиками и увеличения мощности кондиционеров в лабораториях;

3. улучшенные тактико-технические характеристики МК СПЭБ, а именно уменьшение времени развертывания мобильного комплекса СПЭБ за счет применения современных технических средств;

4. внедрение новейших и перспективных диагностических технологий, в том числе полногеномного секвенирования;

5. улучшенные эргономические характеристики.

Модернизированный мобильный комплекс СПЭБ второго поколения по своему инженерно-техническому уровню соответствует современным зарубежным мобильным лабораториям биологического профиля, а по спектру решаемых задач превосходит их.

В рамках реализации распоряжения Правительства РФ от 31.03.2018 г. № 562-р «О предоставлении материально-технической помощи Кыргызской Республике, Монголии, Республике Армения, Республике Узбекистан в 2018–2021 годах» планируется укомплектование всех противочумных институтов Роспотребнадзора модернизированными мобильными комплексами СПЭБ второго поколения.

Использование мобильных лабораторий в рамках оказания Российской Федерацией материально-технической поддержки странам-партнерам. В настоящее время дальнейшее развитие также полу-

чила разработка, связанная с лабораторией эпидразведки и индикации. В рамках исполнения в 2015–2016 гг. распоряжения Правительства РФ № 1965-р от 07.10.2014 г., касающегося оказания Российской Федерацией материально-технической и методической поддержки реализации Международных медико-санитарных правил (2005 г.) на территории государств-участников СНГ, разработана и создана микробиологическая лаборатория экспресс-диагностики на базе автомашины ГАЗ-33027 «ГАЗель Next» повышенной проходимости. Разработка защищена патентом РФ (Кутырев В.В. и соавт. Патент № 165046 «Микробиологическая лаборатория экспресс-диагностики»).

По своим функциям лаборатория аналогична лаборатории эпидразведки и индикации, но имеет ряд конструктивных особенностей – оснащена боксом микробиологической безопасности ИБ класса защиты, имеет санитарный пропускник, пониженное давление в рабочем помещении лаборатории, систему стабилизации лаборатории на местности.

В 2015–2016 гг. осуществлена поставка микробиологических лабораторий экспресс-диагностики на базе автошасси в пять стран СНГ (по две лаборатории в Беларусь, Казахстан, Армению, Кыргызстан, Таджикистан).

В рамках реализации распоряжения Правительства РФ от 26.05.2017 г. № 1060-р в 2017–2018 гг. осуществляются поставки четырех МЛЭД в страны СНГ (Казахстан, Узбекистан, Кыргызстан) и 1 – в Монголию.

В рамках реализации распоряжения Правительства РФ от 31.03.2018 г. № 562-р планируется разработка и создание новой, модернизированной лаборатории эпидразведки и индикации на базе автошасси, а также сборно-разборной лаборатории индикации на основе модульного комплекса.

Использование мобильных лабораторий в ходе эпидемиологического надзора за чумой. Разработка упомянутой выше мобильной лаборатории индикации для осуществления эпизоотологического мониторинга особо опасных и других природно-очаговых инфекций получила дальнейшее развитие в рамках реализации Распоряжения Правительства РФ от 05.09.2016 г. № 1864-р. Разработана и создана мобильная лаборатория мониторинга и диагностики на базе автошасси КАМАЗ 43118 (Кутырев В.В. и соавт. Патент № 180216 «Мобильная лаборатория мониторинга и диагностики особо опасных инфекций»).

Данная лаборатория, по сути, объединила в себе функции трех модулей из состава мобильного комплекса СПЭБ – лаборатории индикации, бактериологической лаборатории и блока поддержки бактериологических исследований. Лаборатория предназначена для укрепления противочумных станций (ПЧС) Роспотребнадзора, осуществляющих мониторинг трансграничных природных очагов чумы. В 2017 г. такие лаборатории установили в Астраханской, Алтайской и Тувинской ПЧС, в 2018 г. будут осна-

щены Читинская и Дагестанская ПЧС. Лаборатория, как и лаборатории МК СПЭБ, имеет все необходимые системы жизнеобеспечения и предназначена для проведения исследований полевого материала как с помощью индикационных методов (ПЦР, ИФА, МФА), так и с помощью бактериологического метода. Уровень биологической защиты лаборатории – BSL-2.

Разработка аэромобильного противоэпидемического комплекса. Последней, инновационной разработкой, связанной с мобильными лабораториями биологического профиля, стал проект аэромобильного противоэпидемического комплекса, представляющего собой вертолет типа Ка-226Т, оснащенный двумя съемными модулями: модуль 1 – для эпидемиологической разведки и индикации и модуль 2 – для медицинской эвакуации больного особо опасными инфекциями.

Модуль 1 предназначен для автономного проведения индикации патогенных биологических агентов и лабораторной диагностики особо опасных инфекционных болезней методами экспресс и ускоренной диагностики в зоне чрезвычайных ситуаций, непосредственно в очаге инфекционной болезни в труднодоступных районах. Он оснащен системой приточно-вытяжной вентиляции с механическим побуждением и кондиционированием приточного воздуха, с фильтрами тонкой очистки воздуха высокой эффективности, позволяющей создать пониженное давление в помещении лаборатории.

Модуль 2 предназначен для перевозки и доставки транспортировочного изолирующего бокса (переносного изолятора), персонала мобильной лаборатории к месту производства исследований и для эвакуации больного особо опасными инфекциями при ликвидации эпидемиологических последствий стихийных бедствий, техногенных катастроф и чрезвычайных биолого-социальных ситуаций. Разработка защищена тремя патентами РФ (Кутырев В.В. и соавт. Патент 2656137 «Аэромобильный противоэпидемический комплекс»; Кутырев В.В. и соавт. Патент на 176563 «Модуль вертолетный для эвакуации больного особо опасными инфекциями»; Кутырев В.В. и соавт. Патент 180617 «Модуль вертолетный эпидемиологической разведки и индикации»).

Заключение. Таким образом, проведенный анализ показывает, что на сегодняшний день в мире практически всеми развитыми странами широко используются мобильные лаборатории биологического профиля. Это могут быть сборно-разборные модульные комплексы, перемещаемые любыми видами транспортных средств, мобильные лаборатории на базе транспортируемых контейнеров или мобильные лаборатории, смонтированные на базе автошасси.

Мобильные лаборатории биологического профиля имеются как на оснащении военных ведомств стран, так и у гражданских структур противоэпидемического профиля. Они могут использоваться как для реагирования на масштабные чрезвычайные

ситуации санитарно-эпидемиологического характера внутри страны, для усиления территориальных противоэпидемических структур, так и для реагирования на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения международного значения в рамках реализации Международных медико-санитарных правил (2005) в составе международных сил реагирования.

В Российской Федерации, начиная с 2006 г., в рамках деятельности Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, активно велись инновационные разработки по проектированию и созданию различных мобильных лабораторий биологического профиля на базе автошасси. Разработаны и созданы мобильные комплексы СПЭБ первого и второго поколения, которые по своему инженерно-техническому уровню соответствуют современным зарубежным мобильным лабораториям биологического профиля, а по спектру решаемых задач превосходят их.

Научно обосновано десять основных принципов разработки и создания мобильных лабораторий на базе автошасси для осуществления лабораторной диагностики инфекционных болезней.

Разработан целый ряд автолабораторий, предназначенных для проведения эпидемиологической разведки, индикации ПБА, проведения эпизоотологического обследования природных очагов особо опасных инфекционных болезней. Создана инновационная концепция аэромобильного противоэпидемического комплекса. Все разработки защищены 20 патентами Российской Федерации.

Основными направлениями использования мобильных лабораторий биологического профиля в России являются:

- реагирование на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера как в России, так и за рубежом;
- усиление территориальных служб санитарно-противоэпидемического профиля при проведении массовых мероприятий;
- проведение эпизоотологического обследования природных очагов инфекционных болезней;
- оказание материально-технической поддержки странам-партнерам Российской Федерации в области борьбы с инфекционными болезнями.

Имеющиеся на оснащении СПЭБ Роспотребнадзора мобильные лаборатории неоднократно использовались для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия на территории России в ходе проведения масштабных спортивных и общественно-политических массовых мероприятий. Мобильный комплекс СПЭБ задействовался в ходе ликвидации эпидемии Эбола в странах Западной Африки.

С 2018 г. мобильные лаборатории начали использоваться при осуществлении эпизоотологического обследования природных очагов чумы и других опасных инфекционных болезней.

Применение мобильных лабораторий для индикации и идентификации возбудителей инфекционных болезней в системе противочумных учреждений Роспотребнадзора позволило поднять на качественно новый уровень готовность к возникновению чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера и значительно повысить эффективность мер реагирования. При этом мобильные лаборатории используются в работе как мобильных противозидемических формирований (СПЭБ Роспотребнадзора), так и стационарных противочумных учреждений (противочумные станции).

Описанные выше российские разработки активно используются в ходе реализации Российской Федерацией различных программ оказания содействия странам-партнерам по вопросам реализации Международных медико-санитарных правил (2005) и борьбы с опасными инфекционными болезнями.

В целом проводимая в Российской Федерации в рамках деятельности Роспотребнадзора работа по проектированию, созданию и использованию мобильных лабораторий биологического профиля полностью соответствует мировым тенденциям в этой области, согласуется с принципами, постулируемыми ВОЗ, Международными медико-санитарными правилами (2005) в отношении борьбы с инфекционными болезнями и реагирования на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера, способствует целям укрепления международного сотрудничества и международного развития, повышению эффективности международных мер реагирования при ЧС в области общественного здравоохранения международного значения. На этом основании можно прогнозировать, что в перспективе в России будет расширяться спектр направлений использования мобильных лабораторий биологического профиля в целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

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

Список литературы

- Карнаухов И.Г., Шарова И.Н., Казакова Е.С., Морозов К.М., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Основные принципы создания мобильных лабораторий на базе автошасси для индикации и идентификации возбудителей инфекционных болезней. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 2:45–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-45-49.
- Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г. Применение мобильных лабораторий для противозидемического обеспечения населения в условиях ЧС. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2007; 1:27–9.
- Мидов К. Специальные подразделения МО США по борьбе с химическим и биологическим терроризмом (2006). Зарубежное военное обозрение. [Электронный ресурс]. URL: <http://pentagonus.ru/publ/3-1-0-43> (дата обращения 27.06.2018).
- Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., редакторы. XXII Олимпийские зимние игры и XI Паралимпийские зимние игры 2014 года в г. Сочи. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия. Тверь: ООО «Издательство «Трида»; 2015. 576 с.
- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. XXVII Всемирная летняя универсиада 2013 года в Казани. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия. Тверь: ООО «Издательство «Трида»; 2013. 528 с.

- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Специализированные противозидемические бригады (СПЭБ): эволюция научной концепции и практического применения. ООО «Буква»; 2014. 572 с.
- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г. Обеспечение модернизации специализированных противозидемических бригад (СПЭБ) на современном этапе. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 3:10–8.
- Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Ликвидация эпидемии Эбола в Гвинейской Республике: опыт работы специализированной противозидемической бригады Роспотребнадзора. М.: ООО «Творческий информационно-издательский центр»; 2016. 354 с.
- Царев А. Мобильные радиационные, химические и биологические лаборатории зарубежных стран. Зарубежное военное обозрение. 2012; 9:41–8 [Электронный ресурс]. URL: <http://warfiles.ru/show-15947-mobilnye-radiacionnye-himicheskie-i-biologicheskie-laboratorii> (дата обращения 20.06.2018).
- Cardozo M., Oliveira V.G.M., Sousa R.B., de Paula R.L. Chemical and biological mobile laboratory: infrastructure employed by Brazilian Army in emergency response actions. *J. Phys.: Conf. Ser.* 2018; 975:012003. DOI: 10.1088/1742-6596/975/1/012003.
- CBRN mobile laboratories and identification and recognition vehicles. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cristanini.it/eng/products/cbrn-decontamination/cbrn-mobile-laboratories-and-identification-and-recognition-vehicles> (дата обращения 21.06.2018).
- European Mobile Lab. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.emlab.eu/> (дата обращения 25.06.2018).
- Goudeau V., Daniel B., Dubot D.J. Mobile laboratories: An innovative and efficient solution for radiological characterization of sites under or after decommissioning. *J. Environ. Radioact.* 2017; pii: S0265-931X(17)30317-X. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2017.04.010.
- Hancock J.R., Jackson Lepage C.R., Lukacs M.J., Froese, D.S.W., Huelin S.D., Saunders A.S., Liu H.Z. The Development and Deployment of a Mobile Chemical Laboratory: A Contribution to Safety and Security at Major Events within Canada DRDC Suffield TR 2012-091; Defence R&D Canada – Suffield; September 2012. [Электронный ресурс]. URL: http://cradpdf.drdc-rddc.gc.ca/PDFs/unc255/p804800_A1b.pdf (дата обращения 21.06.2018).
- Inglis T.J. The lab without walls: a deployable approach to tropical infectious diseases. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013; 88(4):614–8. DOI: 10.4269/ajtmh.12-0704.
- Mari G., Giraudi G., Bellino M., Pazienza M., Garibaldi C., Lancia C. CBRN mobile laboratories in Italy. *Proc. SPIE*. 2009; 73040W. DOI: 10.1117/12.819445.
- Mattacini S., Cortelazzo A., Foglietta G., Tranterici M., Coltellaro A., Gemmellaro O., Tondolo M., Cosentino R., Tripodi R., Lupini G. Laboratory and diagnostic test mobile systems: critical issues and perspectives in the field of major disasters. *Biomedicine & Prevention*. 2017; 4:136, Special issue (Part 2). DOI: 10.19252/0000000088.
- Mobile CBRN reconnaissance systems. [Электронный ресурс]. URL: https://www.rheinmetall-defence.com/en/rheinmetall-defence/systems_and_products/nbc_reconnaissance_systems/index.ph (дата обращения 21.06.2018).
- Parsons A., Matero P., Adams M., Yeh K. Examining the utility and readiness of mobile and field transportable laboratories for biodefence and global health security-related purposes. *Global Security: Health, Science and Policy*. 2018; 3(1):1–13. DOI: 10.1080/23779497.2018.1480403.
- The Agilent Mobile Laboratory for Chemical and Biological Defense. Technical Overview. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5988-9152-EN.pdf> (дата обращения 21.06.2018).
- Toader C., Epure G., Mosteanu D., Epure C., Iorga O., Florin I. Mobile deployable laboratory – chemical module. *International conference KNOWLEDGE-BASED ORGANIZATION*. 2016; 22(30):677–80. DOI: 10.1515/kbo-2016-0116.
- Wölfel R., Stoeker K., Fleischmann E., Gramsamer B., Wagner M., Molkenhuth P., Di Caro A., Glünther S., Ibrahim S., Genzel G.H., Ozin-Hofsäss A.J., Formenty P., Zöller L. Mobile diagnostics in outbreak response, not only for Ebola: a blueprint for a modular and robust field laboratory. *Euro Surveill*. 2015; 20(44):pii=30055. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.44.30055.

References

- Karnaukhov I.G., Sharova I.N., Kazakova E.S., Morozov K.M., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Basic principles of construction of mobile truck-mounted laboratories for indication and identification of infectious disease agents]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 2:45–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-45-49.
- Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G. [The use of mobile laboratories for anti-epidemic protection of the population in emergency situations]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*

[Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2007; 1:27–9.

3. Midov K. [Special units of US MoD for countering chemical and biological terrorist attacks (2006)]. Zarubezhnoe Voennoe Obozrenie. (Cited 27 Jun 2018). [Internet]. Available from: <http://pentagonus.ru/publ/3-1-0-43>.

4. Onishchenko G.G., Kulichenko A.N., editors. [XXII Winter Olympic Games and XI Paralympic Games in Sochi, 2014. Provision of Sanitary-Epidemiological Welfare]. Tver: "Triada" Ltd.; 2015. 576 p.

5. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [XXVII World Summer Universiade, 2013 in Kazan. Provision of Sanitary-Epidemiological Welfare]. Tver: "Triada" Ltd.; 2013. 528 p.

6. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Specialized Anti-Epidemic Teams (SAETs): Evolution of Scientific Concept and Operational Deployment]. Saratov: "Bukva" Ltd.; 2014. 572 p.

7. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Scherbakov D.A., Kazakova E.S., Scherbakova S.A. [Provision of specialized anti-epidemic teams (SAET) modernization at the present stage]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2000; 3:10–8.

8. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Eradication of Ebola Epidemic in the Republic of Guinea: Operational Experience of the Specialized Anti-Epidemic Team of the Rospotrebnadzor]. M.; 2016. 354 p.

9. Tsaraev A. [Mobile radiation, chemical, and biological laboratories of foreign countries]. Zarubezhnoe Voennoe Obozrenie. 2012; 9:41–8. (Cited 20 Jun 2018). [Internet]. Available from: <http://warfiles.ru/show-15947-mobilnye-radiacionnye-himicheskie-i-biologicheskie-laboratorii>.

10. Cardozo M., Oliveira V.G.M., Sousa R.B., de Paula R.L. Chemical and biological mobile laboratory: infrastructure employed by Brazilian Army in emergency response actions. *J. Phys.: Conf. Ser.* 2018; 975:012003. DOI: 10.1088/1742-6596/975/1/012003.

11. CBRN mobile laboratories and identification and recognition vehicles. (Cited 21 Jun 2018). [Internet]. Available from: <http://www.cristanini.it/eng/products/cbrn-decontamination/cbrn-mobile-laboratories-and-identification-and-recognition-vehicles>.

12. European Mobile Lab. (Cited 25 Jun 2018). [Internet]. Available from: <http://www.emlab.eu/>.

13. Goudeau V., Daniel B., Dubot D.J. Mobile laboratories: An innovative and efficient solution for radiological characterization of sites under or after decommissioning. *J. Environ. Radioact.* 2017; pii: S0265-931X(17)30317-X. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2017.04.010.

14. Hancock J.R., Jackson Lepage C.R., Lukacs M.J., Froese, D.S.W., Huelin S.D., Saunders A.S., Liu H.Z. The Development and Deployment of a Mobile Chemical Laboratory: A Contribution to Safety and Security at Major Events within Canada DRDC Suffield TR 2012-091; Defence R&D Canada – Suffield; September 2012 (cited 21 Jun 2018). [Internet]. Available from: http://cradpdf.drdc-rddc.gc.ca/PDFS/unc255/p804800_A1b.pdf.

15. Inglis T.J. The lab without walls: a deployable approach

to tropical infectious diseases. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2013; 88(4):614–8. DOI: 10.4269/ajtmh.12-0704.

16. Mari G., Giraudi G., Bellino M., Paziienza M., Garibaldi C., Lancia C. CBRN mobile laboratories in Italy. *Proc. SPIE.* 2009; 73040W. DOI: 10.1117/12.819445.

17. Mattaccini S., Cortelazzo A., Foglietta G., Tranterici M., Coltellaro A., Gemmellaro O., Tondolo M., Cosentino R., Tripodi R., Lupini G. Laboratory and diagnostic test mobile systems: critical issues and perspectives in the field of major disasters. *Biomedicine & Prevention.* 2017; 4:136, Special issue (Part 2). DOI: 10.19252/0000000088.

18. Mobile CBRN reconnaissance systems. (Cited 21 Jun 2018). [Internet]. Available from: https://www.rheinmetall-defence.com/en/rheinmetall_defence/systems_and_products/nbc_reconnaissance_systems/index.ph.

19. Parsons A., Matero P., Adams M., Yeh K. Examining the utility and readiness of mobile and field transportable laboratories for biodefence and global health security-related purposes. *Global Security: Health, Science and Policy.* 2018; 3(1):1–13. DOI: 10.1080/23779497.2018.1480403.

20. The Agilent Mobile Laboratory for Chemical and Biological Defense. Technical Overview. (Cited 21 Jun 2018). [Internet]. Available from: <https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5988-9152EN.pdf>.

21. Toader C., Epure G., Mosteanu D., Epure C., Iorga O., Florin I. Mobile deployable laboratory – chemical module. *International conference KNOWLEDGE-BASED ORGANIZATION.* 2016; 22(30):677–80. DOI: 10.1515/kbo-2016-0116.

22. Wölfel R., Stoeker K., Fleischmann E., Gramsamer B., Wagner M., Molkenthin P., Di Caro A., Glünther S., Ibrahim S., Genzel G.H., Ozin-Hofsäss A.J., Formenty P., Zöller L. Mobile diagnostics in outbreak response, not only for Ebola: a blueprint for a modular and robust field laboratory. *Euro Surveill.* 2015; 20(44):pii=30055. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.44.30055.

Authors:

Karnaukhov I.G., Sharova I.N., Kazakova E.S., Morozov K.M., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Карнаухов И.Г., Шарова И.Н., Казакова Е.С., Морозов К.М., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Поступила 20.07.18.

Принята к публ. 22.08.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-25-31

УДК 582.28:614.4

А.В. Липницкий, А.М. Маркин, Т.Н. Шаров, А.В. Топорков, Д.В. Викторов

СОВРЕМЕННАЯ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ОСОБО ОПАСНЫМ МИКОЗАМ В МИРЕ И ПРОГНОЗ ЕЕ РАЗВИТИЯ*ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация*

Обзор литературы посвящен эпидемиологическим аспектам распространения в мире особо опасных микозов (кокцидиоидомикоз, гистоплазмоз, бластомикоз, паракокцидиоидомикоз). Представлен прогноз заболеваемости на несколько ближайших лет. Из всех эндемических микозов наибольшую опасность представляет кокцидиоидомикоз, эндемичный для регионов Северной Америки, при заражении которыми чаще всего возникают осложнения, вплоть до диссеминации процесса у иммуноослабленных лиц. Гистоплазмоз, также относящийся к группе особо опасных микозов, поражает как людей, так и животных, эндемичен для Северной, Центральной и Южной Америки, а также Азии и Австралии. Наиболее изученные эндемичные регионы заражения бластомикозом находятся на территории Северной Америки, а паракокцидиоидомикоз эндемичен в странах Латинской Америки. Анализ работ и опубликованных материалов по особо опасным микозам за последние три года свидетельствует о повышении заболеваемости ими в мире. Подобная картина связана, прежде всего, с увеличением количества иммунокомпрометированных субъектов. Важным этапом для улучшения диагностики возбудителей особо опасных микозов является внедрение современных методов ранней диагностики микозов, в частности, молекулярно-генетических и секвенирования генома возбудителя. Это также позволило бы обнаруживать больных вне эндемических очагов.

Ключевые слова: кокцидиоидомикоз, гистоплазмоз, бластомикоз, паракокцидиоидомикоз, заболеваемость, эндемические регионы.

Корреспондирующий автор: Липницкий Анатолий Васильевич, e-mail: Lipnitskii@list.ru.

Для цитирования: Липницкий А.В., Маркин А.М., Шаров Т.Н., Топорков А.В., Викторов Д.В. Современная эпидемиологическая ситуация по особо опасным микозам в мире и прогноз ее развития. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:25–31. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-25-31

A.V. Lipnitsky, A.M. Markin, T.N. Sharov, A.V. Toporkov, D.V. Viktorov

Current Epidemiological Situation on Particularly Dangerous Mycoses around the World and Forecast of Its Development*Volgograd research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation*

Abstract. The literature review focuses on epidemiological aspects of the spread of particularly dangerous mycoses across the world (coccidioidomycosis, histoplasmosis, blastomycosis, paracoccidioidomycosis). Forecast of morbidity rates for the next few years is provided too. Out of all endemic mycoses, coccidioidomycosis, endemic for North America regions, poses the most dangerous threat. In case of the infection, complications are most likely to arise, including the dissemination of the process in immunocompromised persons. Histoplasmosis is also classed as particularly dangerous mycosis. It affects both humans and animals. It is endemic for North, Central and South America, as well as Asia and Australia. The most studied endemic areas of infection with blastomycosis are in the territory of North America, while paracoccidioidomycosis is endemic for Latin America countries. Analysis of academic publications on particularly dangerous mycoses over the last three years testifies to the increase in their morbidity rates around the world. This situation is associated, primarily, with the increment in the number of immunocompromised subjects. An important stage in the improvement of the agent diagnostics is introduction of advanced methods for early diagnostics of mycoses, in particular, molecular-genetic and genome sequencing tools. It could also allow for the detection of patients beyond the limits of endemic foci.

Key words: coccidioidomycosis, histoplasmosis, blastomycosis, paracoccidioidomycosis, morbidity, endemic regions.

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

Corresponding author: Anatoly V. Lipnitsky, e-mail: Lipnitskii@list.ru.

Citation: Lipnitsky A.V., Markin A.M., Sharov T.N., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Current Epidemiological Situation on Particularly Dangerous Mycoses around the World and Forecast of Its Development. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:25–31. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-25-31

Received 30.05.18. *Accepted* 13.06.18.

В последнее время в различных регионах мира наблюдается рост числа зарегистрированных случаев заболевания особо опасными микозами (кокцидиоидомикозом, гистоплазмозом, бластомикозом, паракокцидиоидомикозом) и расширение их зоны эндемичности, что определяет необходимость актуализации ранее опубликованных сведений о рас-

пространенности возбудителей [1], а также оценки рисков их проявления на новых, ранее считавшихся неэндемичными, территориях.

Кокцидиоидомикоз (КМ) – наиболее опасный из эндемических микозов. При инфицировании людей *Coccidioides immitis* и *Coccidioides posadasii* чаще, чем при других особо опасных микозах (ООМ), воз-

никают тяжелые формы заболевания, включающие пневмонию и внелегочную диссеминацию с поражением различных органов. Не только длительное проживание, но даже кратковременное пребывание в гиперэндемичных по кокцидиомикозу регионах юго-запада США (Аризона, Калифорния) критично для развития заболевания с первичными клиническими симптомами респираторной инфекции [18]. У 50–60 % зараженных отмечается субклиническое течение болезни [45]. Клинические симптомы КМ проявляются как у иммунокомпетентных людей, так и у иммунокомпрометированных лиц, однако тяжелые формы заболевания и летальные случаи чаще связаны с иммуносупрессией. Исход обычно зависит от развития клеточного иммунного ответа Т-хелперного типа.

Повышенный риск развития диссеминированного КМ отмечают у реципиентов трансплантатов, в частности аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. При исследовании 21 реципиента трансплантированных органов от больных КМ доноров, у 43 % развивалось заболевание в среднем через 30 дней после трансплантации с летальностью 28,5 %. Пятеро из семи реципиентов, не подвергнутых профилактической терапии, погибли, тогда как одиннадцать, получившие лечение, выжили [4]. Ретроспективный анализ данных о 30870 больных, госпитализированных с диагнозом КМ в США с 2005 по 2012 год, выявил заболеваемость КМ в 46 штатах, но почти половина зарегистрирована в Аризоне (39,1 %) и Калифорнии (36,8). Наиболее высокий уровень летальности отмечен в возрастном диапазоне 61–70 лет. Данные последних лет подтверждают известные факты о более высокой летальности у афроамериканцев по сравнению с другими этническими группами. В других группах риска отмечена связь с заболеваемостью сахарным диабетом.

Возбудители КМ инфицируют не только людей, но и различные виды млекопитающих, рептилий и птиц, однако их роль в качестве резервуаров возбудителей инфекции неизвестна. Не подвергался сомнению однозначный взгляд на КМ как на типичный сапроноз с почвой в качестве источника инфекции. Тем не менее, недавно M.Rayas-Montos *et al.* [38] предположили, что животные обеспечивают постоянство жизненного цикла возбудителей КМ в природе, являясь их связующим звеном с внешней средой, и способствуют распространению грибов в природных условиях эндемических очагов. В значительной степени выводы авторов основываются на результатах молекулярно-генетических исследований, свидетельствующих о том, что экстремальные внешние условия приводят к адаптивным изменениям в геноме *Coccidioides* spp., а именно приобретению новых генов, функция которых связана с взаимодействием гриба и его животных хозяев [43]. Эти генетические изменения направлены на использование грибами в качестве питательного субстрата тканей живых и погибших животных. По мнению авторов это под-

тверждается изоляцией культур *Coccidioides* spp. вблизи нор животных, тогда как в образцах почвы, взятых вдали от них, культуры не получены.

D.M.Simões *et al.* [44], проводившие ретроспективное (с 2009 по 2015 год) изучение КМ у домашних животных в эндемичной зоне США, выявили системные поражения, вызванные *Coccidioides* spp. у собак (75 %) и кошек (54,8). Полагают, что обнаружение КМ у собак может служить индикатором возможного появления случаев заболевания населения, а также способствовать уточнению географических зон распространения КМ [21]. При изучении эндемичности тех или иных территорий по кокцидиомикозу также важна оценка роли отдельных видов дикой фауны в поддержании природных циклов микромицетов. Так, по данным R.Cordeiro *et al.* [13], инфицированные грибом летучие мыши, способные мигрировать на большие расстояния, могут быть резервуарами и распространителями гриба. Они, а также броненосцы, формируют жизненный цикл *Coccidioides* путем трансформации паразитических структур (сферул) в инфекционные формы (артроконидии). Последние с помощью передачи через воздух инфицируют новых хозяев.

В последние годы появились сообщения о расширении эндемичных по КМ регионов, прежде всего на территории США. Полагают, что эти изменения связаны с глобальным потеплением климата [34], которое способствует повышению заболеваемости людей КМ при ингаляционном инфицировании спорами, попадающими в воздух из почвы. Другой механизм может быть связан с увеличением числа наводнений. Показано, что заполнение водой сухой почвы способствует повышенному росту грибов. Описана сезонность КМ в Аризоне, зарегистрированная между июнем–июлем и концом октября–ноябром, когда после влажного периода почва становится сухой и способствует образованию пыли, попадающей в воздух вместе с грибами. О сезонности заболевания можно судить и по изучению пиков инфицирования людей *Coccidioides* spp. Документированные вспышки КМ среди людей описаны после инфицирования, вызванного естественными пыльными бурями.

A.P.Litvintseva *et al.* [31] обнаружили колонизацию почвы *C. immitis* в ранее неэндемичном штате Вашингтон, связанную с заболеваниями людей и подтвержденную генетической идентичностью изолятов из почвы и от одного из больных КМ. При проведении эпидемиологических исследований КМ в неэндемичном штате Миссури, отмечено, что встречаемость КМ у людей возросла от 0,05 на 100 тыс. населения в 2004 г. до 0,28 в 2013 г. Около половины заболевших посещали эндемичные регионы [49]. Недавно впервые появились сообщения о возможном существовании очагов КМ вне американского континента. Культуры гриба получены при вскрытии погибших кур в Нигерии [30] и от пациента, инфицированного в неэндемичном регионе Мексики [15]. Описан случай легочного КМ у 24-летнего пациента

из Эфиопии. Хотя культура возбудителя не была получена, данные гистологического исследования и эффективность лечения противогрибковым препаратом кетоконазолом позволили диагностировать КМ [25].

В своей работе А.М. Tortorano *et al.* [48] приводят данные о новых случаях КМ у жителей Европы после посещения известных эндемичных регионов. Так, первично кожный КМ диагностирован в Италии у монахини, ранее проживавшей в Аргентине. У жителя Испании поражение протезированного колена, вызванное *C. immitis*, диагностировано спустя 56 лет после его выезда из эндемичной зоны КМ в Калифорнии. В дальнейшем он никогда не покидал пределы Испании [5]. Случай КМ у ранее здорового мужчины после посещения США впервые зафиксирован в Дублине (Ирландия) [16].

Гистоплазмоз, вызываемый *Histoplasma capsulatum* поражает как людей, так и животных. Заболевание встречается в Северной, Центральной и Южной Америке, Африке, Индии, Китае, Юго-Восточной Азии, Австралии [8, 24]. В США свыше 40 млн людей заражены гистоплазмозом и ежегодно им инфицируются около 500 человек. С 1938 по 2013 год в США описано 105 вспышек в 26 штатах и на территории Пуэрто-Рико. Как правило, источниками возбудителя инфекции являлась почва в местах скопления птиц, летучих мышей и их экскременты [9].

Большинство описанных случаев гистоплазмоза в Европе связано с иммигрантами, посещавшими эндемичные для микромицетов рода *Histoplasma* регионы. Ранее, по данным рабочей группы, созданной Европейской Конфедерацией медицинской микологии из представителей 10 стран, достоверные случаи гистоплазмоза людей описаны в Италии, Германии и Турции [6]. Ряд врачей-инфекционистов считает диссеминированный гистоплазмоз манифестацией фазы СПИДа у ВИЧ-инфицированных [27]. При этом регистрируют высокий (до 25 %) уровень летальности [37]. В некоторых странах коинфекция гистоплазмоза и туберкулеза у ВИЧ-инфицированных составляет 8–15 % [32]. Иммуносупрессия, связанная с трансплантацией почки, послужила причиной развития гистоплазмоза у 22,7 % реципиентов в Бразилии [25]. Факторами риска являются также диабет и аутоиммунные заболевания.

В последние годы сообщения о больных диссеминированным гистоплазмозом стали поступать не только из регионов с известной эндемичностью. По мнению N.C. Bahr *et al.* [8], наши знания об эндемичности гистоплазмоза неполны, и при диагностике заболеваний у пациентов с иммуносупрессией следует иметь в виду возможность развития гистоплазмоза независимо от места проживания пациента. В отношении обозначения региона как «эндемичный по гистоплазмозу» правильнее использовать термин «не известный по эндемичности». Недавно вспышка заболевания зафиксирована у 13 из 24 туристов после кратковременного посещения тропических лесов в Уганде [14]. Несколько клинических случаев описа-

но на Ямайке [22]. Первый аутохтонный случай гистоплазмоза выявили в Южной Корее [29].

Наиболее изученные эндемичные регионы бластомикоза, обусловленные нахождением в почве возбудителей – диморфных грибов *Blastomyces dermatitidis* и недавно открытого *B. gilchristii*, расположены в Северной Америке по долинам рек Миссисипи, Огайо и Святого Лоуренса, а также в бассейне Великих Озер. В отличие от других ООМ, клинические формы бластомикоза описываются как системные гнойно-гранулематозные поражения [41]. Первично возникает пневмония, хотя грибок может диссеминировать в любой орган, прежде всего в кожу, кости и суставы, а также урогенитальный тракт. Поражаются как иммунокомпетентные, так и иммунокомпрометированные субъекты, но более тяжелые формы болезни отмечены у последних [12]. В штате Индиана при характеристике 14 госпитализированных больных (с 1985 по 2014 год) 27 % имели сахарный диабет, 16 % – нарушения иммунной системы (из них у 9 % СПИД), 90 % – пневмонию, в 48 % случаев – выявлены внелегочные поражения [7]. А.Е. Seitz *et al.* [42] изучили факторы риска развития бластомикоза, обусловившие госпитализацию пациентов в 13 эндемичных штатах США. К группе критериев риска заболевания отнесен возраст свыше 65 лет, а также ряд внешних факторов – снижение максимальных показателей ежегодной температуры воздуха, повышение количества ртути в почве и снижение содержания меди. Показано, что временная иммуносупрессия во время беременности может способствовать диссеминации инфекции и быть связана с риском вертикальной передачи болезни [46]. Недавно впервые представлены результаты широкомасштабного клинического и эпидемиологического исследования бластомикоза у детей в штате Висконсин с 1999 по 2014 год [17]. Из 114 детей с установленным диагнозом бластомикоза у 79 % обнаружили изолированные поражения легких, у 21 % – внелегочные очаги.

В связи с выявлением заболевания бластомикозом некоторых видов млекопитающих, в частности, широко распространенных в эндемичных регионах Канады лисиц, полагают, что они могут являться потенциальным показателем нахождения гриба в почве [35]. Культурой микромицета очень редко выделяют из почвы – основного естественного резервуара гриба. Однако для более точного определения того, насколько важное значение в эпидемиологии бластомикоза имеют факты обнаружения микромицета у различных видов животных, требуются дальнейшие исследования. На сегодняшний день описан первый случай системного поражения *B. dermatitidis*, включающего легкие, лимфатические узлы, селезенку, почки и печень у лемура [39].

Паракокцидиомикоз (ПКМ) эндемичен в Латинской Америке, где 10 млн людей инфицированы его возбудителями – *Paracoccidioides brasiliensis* и *P. lutzii*. Оба возбудителя поражают людей и жи-

вотных, однако у последних заболевание связано преимущественно с *P. brasiliensis* [26]. Большинство случаев заболевания людей фиксируется в Бразилии, где встречаемость на тысячу госпитализированных для ПКМ составляет 7,99, при 7,12 – для КМ и 2,19 – для гистоплазмоза [4]. Естественные ниши обитания возбудителей ПКМ пока точно не определены, однако полагают, что случаи инфицирования домашних и диких животных могут быть маркером наличия возбудителя в объектах внешней среды эндемичных регионах. Известные ранее факты о роли броненосцев в распространении ПКМ недавно дополнены результатами исследования серологическими и молекулярно-генетическими методами образцов от 38 различных видов грызунов [2]. Показано, что они инфицируются возбудителями ПКМ и могут быть значимыми эпидемиологическими маркерами наличия гриба в окружающей среде. Впервые ПКМ выявлен у грызунов родов *Akodon* и *Oryzomys* [19]. Значительное количество сероположительных в отношении ПКМ собак зафиксировано на юге Бразилии [40]. Исследования генетического материала двух видов гриба, выделенных из проб почвы и воздуха, в сравнении с ДНК клинических штаммов, свидетельствуют о возможных экологических различиях *P. brasiliensis* и *P. lutzi* [47]. Культуры грибов достаточно часто изолируются от больных. Однако в связи с миграцией инфицированных людей и длительным инкубационным периодом болезни, получение клинических изолятов не всегда отражает их связь с конкретным местом заражения. По данным R. Bucheri *et al.* [10], у двух пациентов с достоверно точным временем и местом инфицирования первые симптомы появились у одного из них через 45 дней, а у другого – спустя 4 месяца.

Преобладающей является системная хроническая форма болезни. Клинические проявления в виде язв с гранулярной поверхностью отмечены в 70 % случаев [3]. Подострые формы (ювенальный тип) встречаются у молодых людей обоего пола в виде лимфоподобной формы и часто приводят к смерти [33]. ПКМ редко возникает у реципиентов трансплантатов. В литературе описано всего пять таких случаев [20, 36]. Встречаемость и тяжесть проявления ПКМ у людей может быть обусловлена генетическими факторами, такими как полиморфизм единичных нуклеотидов – single nucleotide polymorphisms (SNP), в последовательностях, кодирующих цитокины [11].

Таким образом, анализ публикаций по ООМ за последние три года свидетельствует о повышении заболеваемости в мире. Этот рост связан в основном, с увеличением количества иммунокомпрометированных субъектов. Помимо ВИЧ-инфицированных, значительно возросло число медицинских вмешательств, сопровождающихся развитием иммуносупрессии, таких как трансплантация органов, химиотерапия онкологических и некоторых других соматических заболеваний. Существенным для улучшения

диагностики ООМ, особенно для выявления больных вне эндемических очагов, является внедрение современных методов ранней диагностики микозов, в частности ПЦР в режиме реального времени и секвенирование генома возбудителя. Это позволяет выявить новые регионы распространения ООМ в странах, где существуют благоприятные условия для сохранения возбудителей этих микозов во внешней среде. Можно предположить, что в условиях глобального потепления климата и экологических изменений будет происходить расширение эндемических зон особо опасных микозов в мире.

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

Список литературы

1. Попова А.Ю., Топорков А.В., Липницкий А.В., Половец Н.В., Викторов Д.В. Распространение в мире особо опасных микозов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; 3:120–6.
2. Albano A.P., Klafke G.B., Brandolt T.M., Da Hora V.P., Nogueira C.E., Xavier M.O., Meireles M.C. Seroepidemiology of *Paracoccidioides brasiliensis* infection in horses from Rio Grande do Sul, Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 2015; 46(2):513–7. DOI: 10.1590/S1517-838246246220140559.
3. Amorim Pelliccioli A.C., Neves-Silva R., Santos-Silva A.R., Vargas P.A., Lopes M.A. Synchronous oral paracoccidioidomycosis and pulmonary tuberculosis in an immunocompetent patient. *Mycopathologia*. 2015; 179(5–6):459–64. DOI: 10.1007/s11046-015-9868-3.
4. Arantes T.D., Theodoro R.C., Teixeira Mde M., Bosco Sde M., Bagagli E. Environmental mapping of *Paracoccidioides* spp. in Brazil reveals new clues into genetic diversity, biogeography and Wild Host Association. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(4):e0004606. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004606.
5. Arbeloa-Gutierrez L., Kuberski T., Johnson S.M., Sagastibelza I., Alaez J.I., Pappagianis D. Reactivation of coccidioidomycosis: a prosthetic joint infection in Spain. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2016; 35(2):183–6. DOI: 10.1007/s10096-015-2526-3.
6. Ashbee H.R., Evans E.G., Viviani M.A., Dupont B., Chrysanthou E., Surmont I., Tomsikova A., Vachkov P., Ereno B., Zala J., Tinteln K. ECMM Working Group on Histoplasmosis. Histoplasmosis in Europe: report on an epidemiological survey from the European Confederation of Medical Mycology Working Group. *Med. Mycol.* 2008; 46(1):57–65. DOI: 10.1080/13693780701591481.
7. Azar M.M., Assi R., Relich R.F., Schmitt B.H., Norris S., Wheat L.J., Hage C.A. Blastomycosis in Indiana: clinical and epidemiologic patterns of disease gleaned from a multicenter retrospective study. *Chest*. 2015; 148(5):1276–84. DOI: 10.1378/chest.15-0289.
8. Bahr N.C., Antinori S., Wheat L.J., Sarosi G.A. Histoplasmosis infections worldwide: thinking outside of the Ohio River valley. *Curr. Trop. Med. Rep.* 2015; 2(2):70–80. DOI: 10.1007/s40475-015-0044-0.
9. Benedict K., Rajal K. Mody. Epidemiology of histoplasmosis outbreaks, United States, 1938–2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(3):370–8. DOI: 10.3201/eid2203.151117.
10. Bucheri R., Khoury Z., Barata L.C., Benard G. Incubation period and early natural history events of the acute form of paracoccidioidomycosis: lessons from patients with a single *Paracoccidioides* spp. exposure. *Mycopathologia*. 2016; 181(5–6):435–9. DOI: 10.1007/s11046-015-9976-0.
11. Carvalho F.M., Busser F.D., Freitas V.L., Furuchio C.R., Sadahiro A., Kono A.S., Criado P.R., Moretti M.L., Sato P.K., Shikanai-Yasuda M.A. Polymorphisms on IFNG, IL12B and IL12RB1 genes and paracoccidioidomycosis in the Brazilian population. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 43:245–51. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.05.025.
12. Castillo C.G., Kauffman C.A., Miceli M.H. Blastomycosis. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2016; 30(1):247–64. DOI: 10.1016/j.idc.2015.10.002.
13. Cordeiro Rde A., Silva K.R., Brilhante R.S., Moura F.B., Duarte N.F., Marques F.J., Cordeiro Rde A., Filho R.E., de Araújo R.W., Bandeira Tde J., Rocha M.F., Sidrim J.J. *Coccidioides posadasii* infection in Bats, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(4):668–70. DOI: 10.3201/eid1804.111641.
14. Cottle L.E., Gkrani-Klotsas E., Williams H.J., Brindle H.E., Carmichael A.J., Fry G., Beeching N.J. A multinational outbreak of histoplasmosis following a biology field trip in the Ugandan rain-

- forest. *J. Travel Med.* 2013; 20(2):83–7. DOI: 10.1111/jtm.12012.
15. Duarte-Escalante E., Zúñiga G., Frias-De-León M.G., Canteros C., Castañón-Olivares L.R., Reyes-Montes Mdel R. AFLP analysis reveals high genetic diversity but low population structure in *Coccidioides posadasii* isolates from Mexico and Argentina. *BMC Infect. Dis.* 2013; 13:411. DOI: 10.1186/1471-2334-13-411.
16. Duggan P.T., Deegan A.P., McDonnell T.J. Case of coccidioidomycosis in Ireland. *MJ Case Rep.* 2016; pii: bcr2016215898. DOI: 10.1136/bcr-2016-215898.
17. Frost H.M., Anderson J., Ivacic L., Meece J. Blastomycosis in children: an analysis of clinical, epidemiologic, and genetic features. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 2017; 6(1):49–56. DOI: 10.1093/jpids/piv081.
18. Galgiani J.N., Ampel N.M., Blair J.E., Catanzaro A., Geertsma F., Hoover S.E., Johnson R.H., Kusne S., Lisse J., MacDonald J.D., Meyerson S.L., Raksin P.B., Siever J., Stevens D.A., Sunenshine R., Theodore N. 2016 Infectious diseases society of America (IDSA) clinical practice guideline for the treatment of *Coccidioidomycosis*. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 63(6):e112–46. DOI: 10.1093/cid/ciw360.
19. Giacomazzi J., Baethgen L., Carneiro L.C., Millington M.A., Denning D.W., Colombo A.L., Pasqualotto A.C. The burden of serious human fungal infections in Brazil. *Mycoses.* 2016; 59(3):145–50. DOI: 10.1111/myc.12427.
20. Góes H.F., Durães S.M., Lima C.S., Souza M.B., Vilar E.A., Dalston M.O. Paracoccidioidomycosis in a renal transplant recipient. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 2016; 58:12. DOI: 10.1590/S1678-9946201658012.
21. Grayzel S.E., Martínez-López B., Sykes J.E. Risk factors and spatial distribution of canine coccidioidomycosis in California, 2005–2013. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64(4):1110–19. DOI: 10.1111/tbed.12475.
22. Gughani H.C., Denning D.W. Estimated burden of serious fungal infections in Jamaica by literature review and modelling. *West Indian Med. J.* 2015; 64(3):245–9. DOI: 10.7727/wimj.2014.204.
23. Guimarães L.F., Halpern M., de Lemos A.S., de Gouvêa E.F., Gonçalves R.T., da Rosa Santos M.A., Nucci M., Santoro-Lopes G. Invasive fungal disease in renal transplant recipients at a Brazilian Center: local epidemiology matters. *Transplant. Proc.* 2016; 48(7):2306–09. DOI: 10.1016/j.transproceed.2016.06.019.
24. Hage C.A., Azar M.M., Bahr N., Loyd J., Wheat L.J. Histoplasmosis: up-to-date evidence-based approach to diagnosis and management. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 36(5):729–45. DOI: 10.1055/s-0035-1562899.
25. Hagos G., Esayas R. Pulmonary coccidioidomycosis presenting as a mass, an uncommon disease entity in Ethiopia. *Ethiop. Med. J.* 2015; 53(1):35–7.
26. Headley S.A., Pretto-Giordano L.G., Di Santis G.W., Gomes L.A., Macagnan R., da Nóbrega D.F., Leite K.M., de Alcântara B.K., Itano E.N., Alfieri A.A., Ono M.A. *Paracoccidioides brasiliensis*-associated dermatitis and lymphadenitis in a dog. *Mycopathologia.* 2017; 182(3–4):425–34. DOI: 10.1007/s11046-016-0075-7.
27. Hoffmann E.R., Dabot T.C., Paskulin D.D., Monteiro A.A., Falci D.R., Linhares T., Flores J.M., Goldani L.Z. Disseminated histoplasmosis and AIDS: a prospective and multicentre study to evaluate the performance of different diagnostic tests. *Mycoses.* 2017; 60(1):20–4. DOI: 10.1111/myc.12536.
28. Jambalang A.R., Ogo I.N., Ibu J.O., Gisilambe M., Bertu W., Jwanda L., Benjamin B., Chukwukere S., Nasir Y., Sanda N., Benschak A. Coccidioidomycosis in Chicken Pullets in Jos, Plateau State, Nigeria: A Case Report. *Nigerian Veterinary Journal.* 2010; 31(3):249–51.
29. Jung E.J., Park D.W., Choi J.W., Choi W.S. Chronic cavity pulmonary histoplasmosis in a non-HIV and immunocompromised patient without overseas travel history. *Yonsei Med. J.* 2015; 56(3):871–4. DOI: 10.3349/ymj.2015.56.3.871.
30. Kusne S., Taranto S., Covington S., Kaul D.R., Blumberg E.A., Wolfe C., Green M. *Coccidioidomycosis* Transmission through organ transplantation: a report of the OPTN Ad Hoc Disease Transmission Advisory Committee. *Am. J. Transplant.* 2016; 16(12):3562–67. DOI: 10.1111/ajt.13950.
31. Litvintseva A.P., Marsden-Haug N., Hurst S., Hill H., Gade L., Driebe E.M., Ralston C., Roe C., Barker B.M., Goldoft M., Keim P., Wohrle R., Thompson G.R., Engelthaler D.M., Brandt M.E., Chiller T. Valley fever: finding new places for an old disease: *Coccidioides immitis* found in Washington State soil associated with recent human infection. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60(1):e1–3. DOI: 10.1093/cid/ciu681.
32. López Daneri A.G., Arechavala A., Iovannitti C.A., Mujica M.T. Disseminated histoplasmosis in patients with AIDS. Buenos Aires, 2009–2014. *Medicina (Buenos Aires).* 2016; 76(6):332–7.
33. Marques S.A., Joel C.L., Rosângela M.P., Mariângela E.A. Paracoccidioidomycosis: acute-subacute clinical form, juvenile type. *An. Bras. Dermatol.* 2016; 91(3):384–6. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20164953.
34. Mirsaedi M., Motahari H., Taghizadeh K.M., Sharifi A., Campos M., Schraufnagel D.E. Climate change and respiratory infections. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2016; 13(8):1223–30. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201511-729PS.
35. Nemeth N.M., Campbell G.D., Oesterle P.T., Shiore L., McEwen B., Jardine C.M. Red fox as sentinel for *Blastomyces dermatitidis*, Ontario, Canada. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(7):1275–7. DOI: 10.3201/eid2207.151789.
36. Pontes A.M., Borborema J., Correia C.R., de Almeida W.L., Maciel R.F. A rare paracoccidioidomycosis diagnosis in a kidney transplant receptor: case report. *Transplant. Proc.* 2015; 47(4):1048–50. DOI: 10.1016/j.transproceed.2015.03.006.
37. Putot A., Perrin S., Jolivet A., Vantilcke V. HIV-associated disseminated histoplasmosis in western French Guiana, 2002–2012. *Mycoses.* 2015; 58(3):160–6. DOI: 10.1111/myc.12293.
38. Reyes-Montes M., María A.P., Jorge L.O., María G.F., Erick M.H., Roberto A., Esperanza D.E. The habitat of *Coccidioides* spp. and the role of animals as reservoirs and disseminators in nature. *BMC Infect. Dis.* 2016; 16:550. DOI: 10.1186/s12879-016-1902-7.
39. Rosser M.F., Lindemann D.M., Barger A.M., Allender M.C., Hsiao S.H., Howes M.E. Systemic blastomycosis in a captive red ruffed lemur (*Varecia rubra*). *J. Zoo Wildl. Med.* 2016; 47(3):912–6. DOI: 10.1638/2016-0019.1.
40. Sbeghen M.R., Zanata T.B., Macagnan R., de Abreu K.C., da Cunha W.L., Watanabe M.A., de Camargo Z.P., Ono M.A. *Paracoccidioides brasiliensis* infection in small wild mammals. *Mycopathologia.* 2015; 180(5–6):435–40. DOI: 10.1007/s11046-015-9928-8.
41. Scuderi S., O'Brien B., Robertson I., Weedon D. Heterogeneity of blastomycosis-like pyoderma: a selection of cases from the last 35 years. *Australas J. Dermatol.* 2017; 58(2):139–41. DOI: 10.1111/ajd.12446.
42. Seitz A.E., Adjemian J., Steiner C.A., Prevots D.R. Spatial epidemiology of blastomycosis hospitalizations: detecting clusters and identifying environmental risk factors. *Med. Mycol.* 2015; 53(5):447–54. DOI: 10.1093/mmy/myv014.
43. Sharpton T.J., Stajich J.E., Rounsley S.D., Gardner M.J., Wortman J.R., Jordan V.S., Maiti R., Kodira C.D., Neafsey D.E., Zeng Q., Hung C.Y., McMahan C., Muszewska A., Grynberg M., Mandel M.A., Kellner E.M., Barker B.M., Galgiani J.N., Orbach M.J., Kirkland T.N., Cole G.T., Henn M.R., Birren B.W., Taylor J.W. Comparative genomic analyses of the human fungal pathogens *Coccidioides* and their relatives. *Genome Res.* 2009; 19(10):1722–31. DOI: 10.1101/gr.087551.108.
44. Simões D.M., Dial S.M., Coyner K.S., Schick A.E., Lewis T.P. Retrospective analysis of cutaneous lesions in 23 canine and 17 feline cases of coccidioidomycosis seen in Arizona, USA (2009–2015). *Vet. Dermatol.* 2016; 27(5):346–e87. DOI: 10.1111/vde.12356.
45. Sotello D., Rivas M., Fuller A., Mahmood T., Orellana-Barrios M., Nugent K. Coccidioidomycosis with diffuse myliary pneumonia. *Proc. (Bayl. Univ. Med. Cent.).* 2016; 29(1):39–41. DOI: 10.1080/08989280.2016.11929351.
46. Surprenant D., Kaniszewska M., Hutchens K., Go C., O'Keefe P., Swan J., Tunga R. Blastomycosis and pregnancy: an unusual postpartum disease course. *Case Rep. Dermatol.* 2015; 7(2):107–12. DOI: 10.1159/000431033.
47. Teles A.J., Klafke G.B., Cabana A.L., Albano A.P., Xavier M.O., Meireles M.C. Serological investigation into *Paracoccidioides brasiliensis* infection in dogs from Southern Rio Grande do Sul, Brazil. *Mycopathologia.* 2016; 181(3–4):323–8. DOI: 10.1007/s11046-015-9972-4.
48. Tortorano A.M., Carminati G., Tosoni A., Tintelnot K. Primary cutaneous coccidioidomycosis in an Italian nun working in South America and review of published literature. *Mycopathologia.* 2015; 180(3–4):229–35. DOI: 10.1007/s11046-015-9895-0.
49. Turabelidze G., Aggu-Sher RK, Jahanpour E, Hinkle CJ; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Coccidioidomycosis in a state where it is not known to be endemic – Missouri, 2004–2013. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2015; 64(23):636–9.

References

1. Popova A.Yu., Toporkov A.V., Lipnitsky A.V., Polovets N.V., Viktorov D.V. [Spread of particularly dangerous mycoses across the world]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii.* 2016; 3:120–6.
2. Albano A.P., Klafke G.B., Brandolt T.M., Da Hora V.P., Nogueira C.E., Xavier M.O., Meireles M.C. Seroepidemiology of *Paracoccidioides brasiliensis* infection in horses from Rio Grande do Sul, Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 2015; 46(2):513–7. DOI: 10.1590/S1517-838246246220140559.
3. Amorim Pellicoli A.C., Neves-Silva R., Santos-Silva A.R., Vargas P.A., Lopes M.A. Synchronous oral paracoccidioidomycosis and pulmonary tuberculosis in an immunocompetent patient. *Mycopathologia.* 2015; 179(5–6):459–64. DOI: 10.1007/s11046-015-9868-3.
4. Arantes T.D., Theodoro R.C., Teixeira Mde M., Bosco Sde M., Bagagli E. Environmental mapping of *Paracoccidioides* spp. in Brazil reveals new clues into genetic diversity, biogeography and

- Wild Host Association. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(4):e0004606. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004606.
5. Arbeloa-Gutierrez L., Kuberski T., Johnson S.M., Sagastibelza I., Alaez J.I., Pappagianis D. Reactivation of coccidioidomycosis: a prosthetic joint infection in Spain. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2016; 35(2):183–6. DOI: 10.1007/s10096-015-2526-3.
 6. Ashbee H.R., Evans E.G., Viviani M.A., Dupont B., Chrysanthou E., Surmont I., Tomsikova A., Vachkov P., Enero B., Zala J., Tintelnot K. ECMM Working Group on Histoplasmosis. Histoplasmosis in Europe: report on an epidemiological survey from the European Confederation of Medical Mycology Working Group. *Med. Mycol.* 2008; 46(1):57–65. DOI: 10.1080/13693780701591481.
 7. Azar M.M., Assi R., Relich R.F., Schmitt B.H., Norris S., Wheat L.J., Hage C.A. Blastomycosis in Indiana: clinical and epidemiologic patterns of disease gleaned from a multicenter retrospective study. *Chest.* 2015; 148(5):1276–84. DOI: 10.1378/chest.15-0289.
 8. Bahr N.C., Antinori S., Wheat L.J., Sarosi G.A. Histoplasmosis infections worldwide: thinking outside of the Ohio River valley. *Curr. Trop. Med. Rep.* 2015; 2(2):70–80. DOI: 10.1007/s40475-015-0044-0.
 9. Benedict K., Rajal K. Mody. Epidemiology of histoplasmosis outbreaks, United States, 1938–2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(3):370–8. DOI: 10.3201/eid2203.151117.
 10. Buccheri R., Khoury Z., Barata L.C., Benard G. Incubation period and early natural history events of the acute form of paracoccidioidomycosis: lessons from patients with a single *Paracoccidioides* spp. exposure. *Mycopathologia.* 2016; 181(5–6):435–9. DOI: 10.1007/s11046-015-9976-0.
 11. Carvalho F.M., Busser F.D., Freitas V.L., Furucho C.R., Sadahiro A., Kono A.S., Criado P.R., Moretti M.L., Sato P.K., Shikanai-Yasuda M.A. Polymorphisms on IFNG, IL12B and IL12RB1 genes and paracoccidioidomycosis in the Brazilian population. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 43:245–51. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.05.025.
 12. Castillo C.G., Kauffman C.A., Miceli M.H. Blastomycosis. *Infect. Dis. Clin. North Am.* 2016; 30(1):247–64. DOI: 10.1016/j.idc.2015.10.002.
 13. Cordeiro Rde A., Silva K.R., Brilhante R.S., Moura F.B., Duarte N.F., Marques F.J., Cordeiro Rde A., Filho R.E., de Araújo R.W., Bandeira Tde J., Rocha M.F., Sidrim J.J. *Coccidioides posadasii* infection in Bats, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(4):668–70. DOI: 10.3201/eid1804.111641.
 14. Cottle L.E., Gkrania-Klotsas E., Williams H.J., Brindle H.E., Carmichael A.J., Fry G., Beeching N.J. A multinational outbreak of histoplasmosis following a biology field trip in the Ugandan rainforest. *J. Travel Med.* 2013; 20(2):83–7. DOI: 10.1111/jtm.12012.
 15. Duarte-Escalante E., Zúñiga G., Frias-De-León M.G., Canteros C., Castañón-Olivares L.R., Reyes-Montes Mdel R. AFLP analysis reveals high genetic diversity but low population structure in *Coccidioides posadasii* isolates from Mexico and Argentina. *BMC Infect. Dis.* 2013; 13:411. DOI: 10.1186/1471-2334-13-411.
 16. Duggan P.T., Deegan A.P., McDonnell T.J. Case of coccidioidomycosis in Ireland. *MJ Case Rep.* 2016; pii: bcr2016215898. DOI: 10.1136/bcr-2016-215898.
 17. Frost H.M., Anderson J., Ivacic L., Meece J. Blastomycosis in children: an analysis of clinical, epidemiologic, and genetic features. *J. Pediatric Infect. Dis. Soc.* 2017; 6(1):49–56. DOI: 10.1093/jpids/piv081.
 18. Galgiani J.N., Ampel N.M., Blair J.E., Catanzaro A., Geertsma F., Hoover S.E., Johnson R.H., Kusne S., Lisse J., MacDonald J.D., Meyerson S.L., Raksin P.B., Siever J., Stevens D.A., Sunenshine R., Theodore N. 2016 Infectious diseases society of America (IDSA) clinical practice guideline for the treatment of *Coccidioidomycosis*. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 63(6):e112–46. DOI: 10.1093/cid/ciw360.
 19. Giacomazzi J., Baethgen L., Carneiro L.C., Millington M.A., Denning D.W., Colombo A.L., Pasqualotto A.C. The burden of serious human fungal infections in Brazil. *Mycoses.* 2016; 59(3):145–50. DOI: 10.1111/myc.12427.
 20. Góes H.F., Durães S.M., Lima C.S., Souza M.B., Vilar E.A., Dalston M.O. Paracoccidioidomycosis in a renal transplant recipient. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 2016; 58:12. DOI: 10.1590/S1678-9946201658012.
 21. Grayzel S.E., Martínez-López B., Sykes J.E. Risk factors and spatial distribution of canine coccidioidomycosis in California, 2005–2013. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64(4):1110–19. DOI: 10.1111/tbed.12475.
 22. Guignani H.C., Denning D.W. Estimated burden of serious fungal infections in Jamaica by literature review and modelling. *West Indian Med. J.* 2015; 64(3):245–9. DOI: 10.7727/wimj.2014.204.
 23. Guimarães L.F., Halpern M., de Lemos A.S., de Gouvêa E.F., Gonçalves R.T., da Rosa Santos M.A., Nucci M., Santoro-Lopes G. Invasive fungal disease in renal transplant recipients at a Brazilian Center: local epidemiology matters. *Transplant. Proc.* 2016; 48(7):2306–09. DOI: 10.1016/j.transproceed.2016.06.019.
 24. Hage C.A., Azar M.M., Bahr N., Loyd J., Wheat L.J. Histoplasmosis: up-to-date evidence-based approach to diagnosis and management. *Semin. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 36(5):729–
 45. DOI: 10.1055/s-0035-1562899.
 25. Hagos G., Esayas R. Pulmonary coccidioidomycosis presenting as a mass, an uncommon disease entity in Ethiopia. *Ethiop. Med. J.* 2015; 53(1):35–7.
 26. Headley S.A., Pretto-Giordano L.G., Di Santis G.W., Gomes L.A., Macagnan R., da Nóbrega D.F., Leite K.M., de Alcântara B.K., Itano E.N., Alfieri A.A., Ono M.A. *Paracoccidioides brasiliensis*-associated dermatitis and lymphadenitis in a dog. *Mycopathologia.* 2017; 182(3–4):425–34. DOI: 10.1007/s11046-016-0075-7.
 27. Hoffmann E.R., Daboit T.C., Paskulin D.D., Monteiro A.A., Falci D.R., Linhares T., Flores J.M., Goldani L.Z. Disseminated histoplasmosis and AIDS: a prospective and multicentre study to evaluate the performance of different diagnostic tests. *Mycoses.* 2017; 60(1):20–4. DOI: 10.1111/myc.12536.
 28. Jambalang A.R., Ogo I.N., Ibu J.O., Gisilambe M., Bertu W., Jwender L., Benjamin B., Chukwukere S., Nasir Y., Sanda N., Benschak A. Coccidioidomycosis in Chicken Pullets in Jos, Plateau State, Nigeria: A Case Report. *Nigerian Veterinary Journal.* 2010; 31(3):249–51.
 29. Jung E.J., Park D.W., Choi J.W., Choi W.S. Chronic cavitary pulmonary histoplasmosis in a non-HIV and immunocompromised patient without overseas travel history. *Yonsei Med. J.* 2015; 56(3):871–4. DOI: 10.3349/ymj.2015.56.3.871.
 30. Kusne S., Taranto S., Covington S., Kaul D.R., Blumberg E.A., Wolfe C., Green M. *Coccidioidomycosis* Transmission through organ transplantation: a report of the OPTN Ad Hoc Disease Transmission Advisory Committee. *Am. J. Transplant.* 2016; 16(12):3562–67. DOI: 10.1111/ajt.13950.
 31. Litvintseva A.P., Marsden-Haug N., Hurst S., Hill H., Gade L., Driebe E.M., Ralston C., Roe C., Barker B.M., Goldoft M., Keim P., Wohrle R., Thompson G.R., Engelthaler D.M., Brandt M.E., Chiller T. Valley fever: finding new places for an old disease: *Coccidioides immitis* found in Washington State soil associated with recent human infection. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60(1):e1–3. DOI: 10.1093/cid/ciu681.
 32. López Daneri A.G., Arechavala A., Iovannitti C.A., Mujica M.T. Disseminated histoplasmosis in patients with AIDS. Buenos Aires, 2009–2014. *Medicina (Buenos Aires).* 2016; 76(6):332–7.
 33. Marques S.A., Joel C.L., Rosângela M.P., Mariângela E.A. Paracoccidioidomycosis: acute-subacute clinical form, juvenile type. *An. Bras. Dermatol.* 2016; 91(3):384–6. DOI: 10.1590/abd1806-4841.20164953.
 34. Mirsaedi M., Motahari H., Taghizadeh K.M., Sharifi A., Campos M., Schraufnagel D.E. Climate change and respiratory infections. *Ann. Am. Thorac. Soc.* 2016; 13(8):1223–30. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201511-729PS.
 35. Nemeth N.M., Campbell G.D., Oesterle P.T., Shirose L., McEwen B., Jardine C.M. Red fox as sentinel for *Blastomyces dermatitidis*, Ontario, Canada. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(7):1275–7. DOI: 10.3201/eid2207.151789.
 36. Pontes A.M., Borborema J., Correia C.R., de Almeida W.L., Maciel R.F. A rare paracoccidioidomycosis diagnosis in a kidney transplant recipient: case report. *Transplant. Proc.* 2015; 47(4):1048–50. DOI: 10.1016/j.transproceed.2015.03.006.
 37. Putot A., Perrin S., Jolivet A., Vantilcke V. HIV-associated disseminated histoplasmosis in western French Guiana, 2002–2012. *Mycoses.* 2015; 58(3):160–6. DOI: 10.1111/myc.12293.
 38. Reyes-Montes M., María A.P., Jorge L.O., María G.F., Erick M.H., Roberto A., Esperanza D.E. The habitat of *Coccidioides* spp. and the role of animals as reservoirs and disseminators in nature. *BMC Infect. Dis.* 2016; 16:550. DOI: 10.1186/s12879-016-1902-7.
 39. Rosser M.F., Lindemann D.M., Barger A.M., Allender M.C., Hsiao S.H., Howes M.E. Systemic blastomycosis in a captive red ruffed lemur (*Varecia rubra*). *J. Zoo Wildl. Med.* 2016; 47(3):912–6. DOI: 10.1638/2016-0019.1.
 40. Sbeghen M.R., Zanata T.B., Macagnan R., de Abreu K.C., da Cunha W.L., Watanabe M.A., de Camargo Z.P., Ono M.A. *Paracoccidioides brasiliensis* infection in small wild mammals. *Mycopathologia.* 2015; 180(5–6):435–40. DOI: 10.1007/s11046-015-9928-8.
 41. Scuderi S., O'Brien B., Robertson I., Weedon D. Heterogeneity of blastomycosis-like pyoderma: a selection of cases from the last 35 years. *Australas J. Dermatol.* 2017; 58(2):139–41. DOI: 10.1111/ajd.12446.
 42. Seitz A.E., Adjemian J., Steiner C.A., Prevots D.R. Spatial epidemiology of blastomycosis hospitalizations: detecting clusters and identifying environmental risk factors. *Med. Mycol.* 2015; 53(5):447–54. DOI: 10.1093/mmy/myv014.
 43. Sharpton T.J., Stajich J.E., Rounsley S.D., Gardner M.J., Wortman J.R., Jordan V.S., Maiti R., Kodira C.D., Neafsey D.E., Zeng Q., Hung C.Y., McMahan C., Muszewska A., Grynberg M., Mandel M.A., Kellner E.M., Barker B.M., Galgiani J.N., Orbach M.J., Kirkland T.N., Cole G.T., Henn M.R., Birren B.W., Taylor J.W. Comparative genomic analyses of the human fungal pathogens *Coccidioides* and their relatives. *Genome Res.* 2009; 19(10):1722–31. DOI: 10.1101/gr.087551.108.
 44. Simões D.M., Dial S.M., Coyner K.S., Schick A.E., Lewis T.P. Retrospective analysis of cutaneous lesions in 23 canine and 17

feline cases of coccidioidomycosis seen in Arizona, USA (2009–2015). *Vet. Dermatol.* 2016; 27(5):346–e87. DOI: 10.1111/vde.12356.

45. Sotello D., Rivas M., Fuller A., Mahmood T., Orellana-Barrios M., Nugent K.. Coccidioidomycosis with diffuse miliary pneumonia. *Proc. (Bayl. Univ. Med. Cent.)*. 2016; 29(1):39–41. DOI: 10.1080/08998280.2016.11929351.

46. Surprenant D., Kaniszewska M., Hutchens K., Go C., O’Keefe P., Swan J., Tunga R. Blastomycosis and pregnancy: an unusual postpartum disease course. *Case Rep. Dermatol.* 2015; 7(2): 107–12. DOI: 10.1159/000431033.

47. Teles A.J., Klafke G.B., Cabana A.L., Albano A.P., Xavier M.O., Meireles M.C. Serological investigation into *Paracoccidioides brasiliensis* infection in dogs from Southern Rio Grande do Sul, Brazil. *Mycopathologia.* 2016; 181(3–4):323–8. DOI: 10.1007/s11046-015-9972-4.

48. Tortorano A.M., Carminati G., Tosoni A., Tintelnot K. Primary cutaneous coccidioidomycosis in an Italian nun working in South America and review of published literature. *Mycopathologia.* 2015; 180(3–4):229–35. DOI: 10.1007/s11046-015-9895-0.

49. Turabelidze G, Aggu-Sher RK, Jahanpour E, Hinkle

CJ; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Coccidioidomycosis in a state where it is not known to be endemic – Missouri, 2004–2013. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2015; 64(23):636–9.

Authors:

Lipnitsky A.V., Markin A.M., Sharov T.N., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Volgograd Research Anti-Plague Institute. 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Об авторах:

Липницкий А.В., Маркин А.М., Шаров Т.Н., Топорков А.В., Викторов Д.В. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Поступила 30.05.18.

Принята к публ. 13.06.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-32-39

УДК 616.98:578 (665.2)

А.М. Поршаков¹, Ю.В. Кононова², В.Б. Локтев², М.И. Boiro³**РУКОКРЫЛЫЕ КАК ВОЗМОЖНЫЙ РЕЗЕРВУАР ОПАСНЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА ВИРУСОВ НА ТЕРРИТОРИИ ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКИ. ЧАСТЬ 1**¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;²ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», п. Кольцово, Российская Федерация;³Исследовательский институт прикладной биологии, Киндия, Гвинейская Республика

Рукокрылые – один из наиболее многочисленных отрядов млекопитающих, способных выступать в качестве природных хозяев и переносчиков различных вирусов, бактерий и патогенных грибов. В период 2007–2013 гг. у рукокрылых обнаружено 248 новых вирусов, относящихся к 24 семействам. В последние годы целый ряд новых инфекций, которые провоцировали тяжелые заболевания у людей, были связаны с переносчиками – летучими мышами. Сегодня их рассматривают как возможный источник вирусов Эбола, Марбург и Хендра, возбудителей тяжелого острого респираторного синдрома, а также многих других летальных болезней. Особое внимание рукокрылым стало уделяться после установления факта их вовлечения в циркуляцию эболавируса Заир и их возможного участия в формировании природных очагов этой инфекции. В настоящее время природным резервуаром эболавируса Заир, а также некоторых других филовирусов (*Filoviridae*), считаются рукокрылые. Помимо филовирусов от рукокрылых на Африканском континенте выделяли другие значимые для здравоохранения вирусы – лиссавирусы (*Rhabdoviridae*, *Lyssavirus*), хенипавирусы (*Paramixoviridae*, *Henipavirus*) и коронавирусы (*Coronaviridae*, *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*), которые также могут циркулировать среди рукокрылых в Западной Африке. В представленной работе проанализированы имеющиеся в литературных источниках сведения о распространении рукокрылых на территории Африканского континента, их видовое разнообразие, особенности экологии и поведения. Представлены сведения о том, для каких инфекций они могут служить потенциальными носителями. Имеется описание особенностей взаимодействия людей, проживающих на Африканском континенте, с летучими мышами разных видов. Представленный обзор посвящен анализу результатов изучения популяционных, экологических и эпидемиологических факторов, влияющих на поддержание циркуляции ряда наиболее опасных для человека вирусов (филовирусов, лиссавирусов, хенипавирусов и коронавирусов) среди африканских рукокрылых. Обосновывается необходимость изучения вышеперечисленных факторов для популяций рукокрылых Гвинейской Республики.

Ключевые слова: рукокрылые, крыланы, спутниковая телеметрия, эболавирус Заир, Гвинейская Республика.

Корреспондирующий автор: Поршаков Александр Михайлович, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Поршаков А.М., Кононова Ю.В., Локтев В.Б., Boiro М.И. Рукокрылые как возможный резервуар опасных для человека вирусов на территории Гвинейской Республики. Часть 1. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 3:32–39. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-32-39

А.М. Porshakov¹, Yu.V. Kononova², V.B. Loktev², M.I. Boiro³**Chiroptera as a Potential Reservoir of Dangerous for Humans Viruses in the Territory of the Republic of Guinea. Part 1**¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation; ²State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol'tovo, Russian Federation; ³Research Institute of Applied Biology, Kindia, Republic of Guinea

Abstract. Chiroptera is one of the largest in numbers orders of mammals which can take on the role of natural host and vector of various viruses, bacteria, and pathogenic fungi. Over the period of 2007–2013, 248 new viruses pertaining to 24 families were detected in chiropterans. Lately, a range of novel infections that provoked severe diseases in humans were associated with bats-carriers. Presently they are viewed as a potential reservoir of Ebola, Marburg, and Hendra viruses, severe acute respiratory syndrome agents, as well as many other lethal diseases. Chiropterans started drawing particular attention after establishment of the fact that they are involved in circulation of ebolavirus Zaire and possibly participate in the formation of natural foci of this infection. Currently chiropterans are considered to be natural reservoirs of ebolavirus Zaire and some other filoviruses (*Filoviridae*). Accept from filoviruses, other significant for public healthcare viruses were isolated from chiropterans on the African continent – lyssaviruses (*Rhabdoviridae*, *Lyssavirus*), henipaviruses (*Paramixoviridae*, *Henipavirus*), and coronaviruses (*Coronaviridae*, *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*) that can also circulate among chiropterans in West Africa. The data available from literature sources on dissemination of chiropterans in the territory of the African continent, their species diversity, peculiarities of ecology and behavior are analyzed in this paper. The information on the infections for which chiropterans can serve as potential reservoirs is also provided. Specifics of interaction between the population residing on African continent and bats of different species are described too. The review is devoted to the assessment of results of studies on population, ecological, and epidemiological factors contributing to maintenance of circulation of a number of dangerous for humans viruses (filoviruses, lyssaviruses, henipaviruses, and coronaviruses) among African chiropterans. The need for further investigation of the mentioned factors affecting chiropteran populations in the Republic of Guinea is substantiated.

Key words: chiropterans, fruit-bats, space telemetry, ebolavirus Zaire, Republic of Guinea.

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

Corresponding author: Alexander M. Porshakov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Porshakov A.M., Kononova Yu.V., Loktev V.B., Boiro M.I. Chiroptera as a Potential Reservoir of Dangerous for Humans Viruses in the Territory of the Republic of Guinea. Part 1. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:32–39. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-32-39

Received 18.01.18. *Accepted* 30.01.18.

Рукокрылые (*Chiroptera*) – отряд млекопитающих, насчитывающий более 1300 видов, по численности занимает второе место после грызунов [14]. Согласно современной систематике отряд делится на два подотряда – *Yinpterochiroptera* и *Yangochiroptera* [5]. Рукокрылые распространены повсеместно, за исключением полярных широт и высокогорий. Они способны преодолевать значительные расстояния, некоторые виды могут формировать многочисленные колонии и становиться частью синантропных биоценозов. Для многих видов рукокрылых показано носительство вирусов, бактерий и патогенных грибов [34]. В период 2007–2013 гг. у рукокрылых обнаружено 248 новых вирусов, относящихся к 24 семействам [41]. Высказывается также предположение, что имеющиеся данные по разнообразию уже известных вирусных агентов у рукокрылых очень ограничены недостаточным объемом исследования этих животных. В настоящее время рукокрылые считаются природным резервуаром эболавируса Заир, а также некоторых других филловирусов (*Filoviridae*) [27]. Помимо этого от рукокрылых на Африканском континенте выделяли другие значимые для здравоохранения вирусы – лиссавирусы (*Rhabdoviridae*, *Lyssavirus*), хенипавирусы (*Paramixoviridae*, *Henipavirus*) и коронавирусы (*Coronaviridae*, *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*), которые также могут циркулировать среди данного отряда в Западной Африке (рисунок).

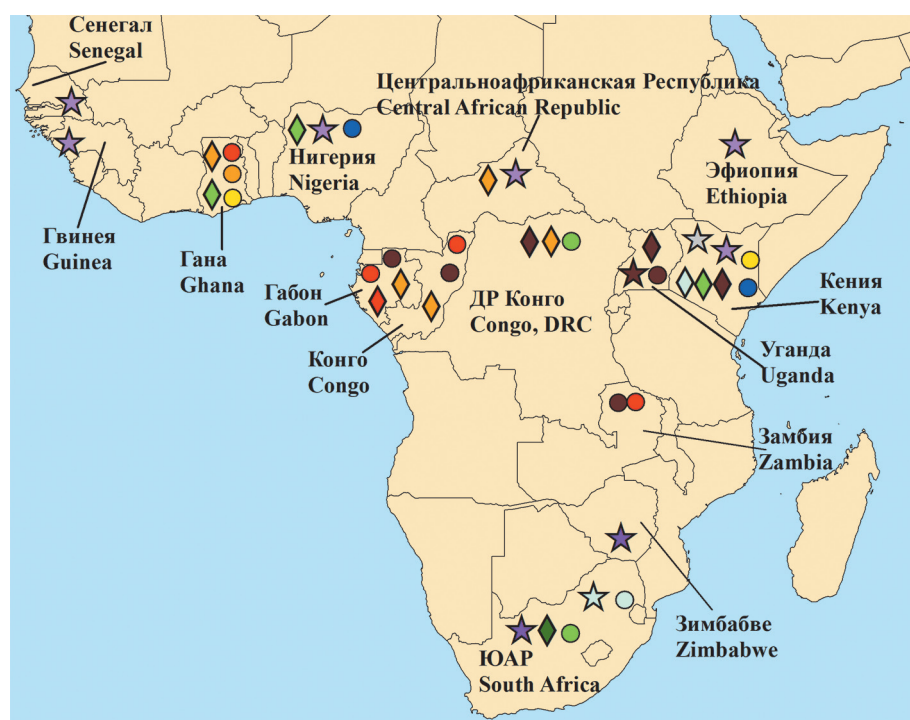
На Африканском континенте насчитывается 258 видов рукокрылых, что составляет приблизительно 25 % мирового разнообразия этого отряда млекопитающих [7]. Их фауна в Гвинейской Республике включает 66 видов, из которых к подотряду *Yinpterochiroptera* относятся 30 (включая 11 видов крылановых), а к подотряду *Yangochiroptera* – 36 видов [16]. Некоторые рукокрылые (23 вида), обитающие на территории Гвинеи, являются редкими или находятся под угрозой потери среды обитания [38]. В таблице представлены данные по видам рукокрылых, встречающихся в Гвинейской Республике, которые могут быть потенциальными носителями особо опасных вирусных агентов.

Многие из представленных в таблице видов рукокрылых образуют колонии от сотни до сотен тысяч особей, некоторые (*R. aegyptiacus*, *M. schreibersii*, *N. thebaica*, *E. helvum*, *N. gambiensis*, *N. capensis*) способны находить дневные местообитания в населенных пунктах. Для *R. aegyptiacus* и *E. helvum* доказана сезонная миграция в пределах ареала – до 500 км у *R. aegyptiacus* и до 2500 км у *E. helvum* [8, 33]. С учетом особенностей экологии обитающих на территории Гвинейской Республики видов рукокрылых, потенциальных носителей особо опасных вирусов,

можно предполагать возможность циркуляции этих вирусов и их занос в соседние страны.

Некоторые особенности циркуляции вирусных патогенов в популяциях рукокрылых. Отличительными чертами рукокрылых, затрудняющими наблюдение за этими животными, являются скрытный образ жизни, преимущественно ночная активность и способность преодолевать значительные расстояния. В начале прошлого века для изучения перемещения рукокрылых стали применять кольцевание, благодаря чему были установлены пути миграции и их сезонные перемещения [3]. Недостатком этого метода мониторинга является необходимость массового повторного отлова животных. С 60-х годов прошлого столетия для изучения перемещения различных животных стала использоваться радиотелеметрия, что позволило вести дистанционное наблюдение [32]. Этот метод успешно применен для изучения перемещения как насекомоядных, так и плодоядных рукокрылых [32, 11]. Позже стала применяться спутниковая телеметрия с использованием различных спутниковых систем [2]. Благодаря этим методам установлена дальность миграций пальмового крылана [33]. Для использования и накопления данных о перемещении животных, полученных с разных спутниковых систем, создан банк данных Movebank (www.movebank.org), где представлены данные спутниковой телеметрии для пальмового крылана в Гане, Буркина-Фасо и Замбии. В то же время ни в одной стране Западной Африки, где регистрировались случаи болезни, вызванной эболавирусом Заир, в настоящее время нет постоянного наблюдения за перемещением и миграциями рукокрылых, потенциальными носителями этого вируса. Отсутствует систематизированная информация об инфекционных заболеваниях, характерных для различных видов рукокрылых, в том числе о вспышках заболеваний в локальных популяциях этих животных.

Вопрос о генетической предрасположенности отдельных видов рукокрылых к поддержанию циркуляции конкретных видов вирусов остается плохо изученным. Так, в циркуляцию вируса бешенства в Бразилии вовлечены рукокрылые 41 вида (насекомоядные, плодоядные, гематофаги), относящиеся к семействам Phyllostomidae, Vespertilionidae и Molossidae, что свидетельствует о восприимчивости рукокрылых к этому вирусу независимо от их таксономической принадлежности [36]. Обнаружение антител и РНК филловирусов и хенипавирусов у генетически отдаленных видов рукокрылых также свидетельствует об отсутствии выраженной генетической предрасположенности к инфицированию этими вирусами [27, 35]. С.С.В. Young и К.Д. Olival показали,



Выявление филовирусов, лиссаириусов, хенипавириусов и коронавирусов у рукокрылых Африканского континента

Detection of filoviruses, lyssaviruses, henipaviruses and coronaviruses in chiropterans from African continent

○ – антитела / antibody ◇ – РНК / RNA ☆ – изоляция вируса / virus isolation

Филовирусы / Filoviruses:

■ – Эболавириусы / Ebolavirus
■ – Марбургвириус / Marburgvirus

Коронавириусы / Coronaviridae:

■ – SARS-подобный / SARS-like
■ – MERS-подобный / MERS-like

Хенипавириус / Henipavirus

■ – Хенипавириус / Henipavirus

Лиссавириусы / Lyssavirus:

■ – вирус бешенства / Rabies lyssavirus

■ – Ларос бат / Lagos bat virus (LBV)

■ – Мокола / Mokola virus (MOKV)

■ – Дювенхейдж / Duvnhage virus

■ – Шимони бат / Shimoni bat virus

что чаще всего вирусы или их маркеры (антиген и РНК/ДНК) обнаруживались у рукокрылых семейства Vespertilionidae (22 вирусных семейства), далее по частоте встречаемости следовали Rhinolophidae (19), Hipposideridae (17) и Pteropodidae (13), у представителей остальных 10 семейств рукокрылых вирусы обнаруживались намного реже [41]. Можно предполагать, что представители некоторых семейств рукокрылых могут обладать предрасположенностью к различным видам вирусов. Однако недостаточность исследований в этой области не позволяет пока делать выводы о наличии строгой генетической предрасположенности рукокрылых к сохранению отдельных уже известных видов вирусов, патогенных для человека.

Любая популяция животных-носителей вирусов характеризуется циклическими изменениями численности и размеров ареала, что приводит к изменениям в активности природных очагов. Для некоторых природно-очаговых инфекций, в частности, клещевого вирусного энцефалита, установлено, что активация эпизоотического процесса в очагах часто происходит на фоне падения численности лесных грызунов, прокормителей основного переносчика (*Ixodes persulcatus*) вируса [6]. Вполне вероятно, что

в основе колебаний напряженности эпизоотического процесса в природных очагах лежат также естественные изменения показателей специфического иммунитета позвоночных-хозяев [1, 4]. Таким образом, колебания численности и демографическая структура популяции прокормителя являются важными показателями для прогнозирования активизации природного очага.

Аналогичная взаимосвязь между зараженностью вирусом Марбург и численностью популяции наблюдалась у египетских летучих собак в Уганде после вспышки 2007–2008 гг. Непосредственно после вспышки вирусная РНК выявлялась у 5,1 % этих рукокрылых из большой колонии в пещере Китака [39]. В 2012 г. B.R. Amman *et al.* выявили ее приблизительно у 13 % взрослых и молодых особей из этой же пещеры. При этом в 2012 г. популяция рукокрылых находилась в стадии восстановления после массового истребления колонии в 2007–2008 гг. и составляла на момент исследования приблизительно 1–5 % от первоначальной численности – 40–100 тыс. особей [9].

Демографическая и социальная структура популяции также имеет значение для поддержания циркуляции вирусов. Для Марбургвируса было по-

Рукокрылые Гвинеи Республики, потенциальные носители особо опасных вирусов
Chiropterans of the Republic of Guinea, potential carriers of particularly dangerous viruses

Виды рукокрылых	Вирусы (выделение вирусного агента или обнаружение вирусной РНК)	Особенности экологии и поведения рукокрылых
<i>Hypsignathus monstrosus</i>	Филовирусы (Эболавирус Заир), Хенипавирус [23, 12]	Дневки в группах до 5 особей, в густой растительности
<i>Myonycteris torquata</i> (ssp. <i>leptodon</i>)	Филовирусы (Эболавирус Заир), Хенипавирус [23, 12]	Дневки поодиночке или небольшими группами, в густой растительности
<i>Rousettus aegyptiacus</i>	Филовирусы (вирус Марбург), Лиссавирус (Лагос бат), Хенипавирус [12, 37, 21]	Большие колонии до нескольких тысяч особей (десятки тысяч). Дневки в пещерах, шахтах, тоннелях, открытых скважинах, бункерах, развалинах. Миграции в пределах ареала
<i>Miniopterus inflatus</i>	Филовирусы (вирус Марбург) [37]	Дневки небольшими группами в пещерах, тоннелях
<i>Miniopterus schreibersii</i>	Лиссавирус (Дювенхейдж) [26, 29]	Колонии до нескольких сотен особей. Дневки в пещерах, тоннелях
<i>Nycteris thebaica</i>	Лиссавирус (Дювенхейдж) [26, 29]	Колонии до 100 особей. Дневки в пещерах, шахтах, тоннелях, в дуплах деревьев, под эстакадами дорог
<i>Eidolon helvum</i>	Лиссавирус (Лагос бат), Хенипавирус [12, 21]	Колонии до нескольких сот тысяч особей. Дневки на деревьях, в т.ч. в городских парках. Мигрируют на большие расстояния
<i>Micropteropus pusillus</i>	Лиссавирус (Лагос бат) [21]	Дневки небольшими группами на растительности
<i>Nycteris gambiensis</i>	Лиссавирус (Лагос бат) [21]	Колонии от десятков до сотен особей. Дневки в пещерах, дуплах деревьев, в зданиях
<i>Hipposideros vittatus</i> (ранее <i>Hipposideros comersoni</i>)	Лиссавирус (Шимони бат), Коронавирус (SARS-подобный) [20, 31]	Колонии до нескольких тысяч особей. Дневки в пещерах, на деревьях, в зданиях. Мигрируют в пределах основного ареала
<i>Epomophorus gambianus</i>	Хенипавирус [12]	Колонии до 100 особей. Дневки на растительности
<i>Neoromicia capensis</i>	Коронавирус (MERS-подобный) [17]	Колонии до 20 особей. Дневки под корой деревьев, на чердаках, в трещинах стен

казано, что наиболее восприимчивыми к инфицированию являются молодые (6 мес.) особи египетских летучих собак независимо от пола, что может быть связано с исчезновением протективных материнских антител [8, 39]. Предполагается, что эффективному инфицированию молодых особей способствует их социальное положение в колонии, согласно которому животные этой возрастной группы выдвигаются из центра пещеры к периферии, где формируют небольшие группы с высокой плотностью; при этом наблюдается их более тесный контакт с инфицированными Марбургвирусом экскрементами [8]. При обследовании представителей этого вида на наличие антител к эболавирусу Заир и Марбургвирусу отсутствовала разница в доле иммунных животных среди самок и самцов, взрослых и молодых особей. Исключение составили беременные самки, среди которых доля серопозитивных к эболавирусу Заир существенно выше, чем у небеременных. Для Марбургвируса подобного явления не наблюдалось [39].

На активизацию циркуляции вирусов внутри популяции рукокрылых оказывает влияние сезонное изменение численности, связанное с размножением. Это явление наблюдалось J.F. Drexler *et al.* в течение трех лет в колонии больших ночниц (*Myotis myotis*) при оценке уровня инфицированности коронавирусами [13], а также K. Patyk *et al.* при изучении многолетней динамики зараженности американских рукокрылых вирусом бешенства [28]. Размножение африканских рукокрылых, как плодоядных, так и насекомоядных, также имеет сезонный характер, зависящий от обеспеченности кормовыми ресурсами. Брачный период и рождение потомства происходят в определенный

период, с частотой один–два раза в год в зависимости от вида. Ретроспективный анализ вспышек заболевания, вызванного Марбургвирусом у людей, показал совпадение начала большинства вспышек с сезонами рождаемости у египетских летучих собак [8]. С учетом этого, D.T. Nauman была рассчитана модель, согласно которой эффективное поддержание циркуляции филовирусов в популяциях рукокрылых возможно у видов с двумя сезонами рождаемости в течение года и высокой численностью локальной популяции при 21-дневном инкубационном периоде инфекции. Предложенная модель хорошо согласуется с экспериментальными данными. Так, редкие находки РНК эболавирусов и антител к ним отмечались у видов с двумя сезонами рождаемости в год, но с небольшой численностью популяции (*H. monstrosus*, *E. franqueti*, *Myonycteris torquata* (ssp. *leptodon*)) или с высокой численностью популяции, но с одним сезоном рождаемости (*E. helvum*). Этим также можно объяснить низкую частоту обнаружения РНК Марбургвируса у рукокрылых рода подковогубов (*Hipposideros*) с одним сезоном рождаемости, обитающих в одних пещерах с инфицированными египетскими летучими собаками, несмотря на принадлежность тех и других к одному подотряду *Ynpterochiroptera* [15]. Численность локальной популяции является также принципиальным условием для поддержания циркуляции в ней различных вирусов. Исходя из этого, можно объяснить отсутствие вспышек геморрагической лихорадки Марбург у людей в северных частях ареала *R. aegyptiacus* – на Ближнем Востоке и Кипре, где численность колоний на несколько порядков ниже, чем в саваннах и тропических лесах.

С помощью корреляционного анализа установлено, что разнообразие вирусов также зависит от статуса вида, определенного IUCN, и генетической структуры популяции [40]. Согласно предположениям авторов, разнообразие вирусов тем больше, чем выше экологическая угроза для вида. Предполагается, что повышенное количество особей, склонных к вирусоносительству, может быть вызвано снижением коллективного иммунитета в популяции. Недостатком предложенной гипотезы является отсутствие данных по численности, распространению и таксономическому положению некоторых видов рукокрылых, а также прямых данных о состоянии коллективного иммунитета в локальных популяциях.

Корреляционный анализ также подтверждает предположение, что уровень инфицированности животных различными вирусами положительно коррелирует с массой тела животного, географическими особенностями (высокая степень фрагментации ареала) и количеством обследованных животных [24]. Это справедливо как для генетически отдаленных, так и для генетически близких видов. В то же время экспериментальные результаты в ряде случаев не согласовывались как с гипотезой A.S. Turmelle и K.J. Olival, так и G.D. Maganga *et al.* Согласно обеим гипотезам, тип дневных мест обитания рукокрылых не должен оказывать влияния на склонность к вирусоносительству, однако X. Pourrut *et al.* показали, что доля серопозитивных к Марбургвирусу египетских летучих собак, отловленных в пещерах, существенно выше, чем среди этих животных из других мест обитания [30].

Анализ доступной литературы показал, что в настоящее время нет данных об экологии многих видов рукокрылых Гвинейской Республики, направлении и частоте сезонных миграций, а также о количестве участвующих в них видах. Отсутствует информация о динамике численности различных видов, в том числе вследствие эпизоотий или активного вмешательства человека. Исследования, проводимые в ряде африканских стран (в том числе эндемичных по эболавирусам и Марбургвирусу), выявили определенные взаимосвязи между состоянием популяций рукокрылых, их экологией и способностью поддерживать циркуляцию многих опасных для человека вирусов. С учетом влияния экологических и популяционных факторов на способность рукокрылых выступать в качестве резервуаров опасных для человека вирусных патогенов, представляется целесообразным изучение этих факторов у рукокрылых Гвинейской Республики.

Эпидемиологические особенности контакта людей с рукокрылыми в отдельных регионах Африки. На основании описанных в литературе случаев, заражение человека от рукокрылых различными вирусами происходит, как правило, вследствие повреждений кожи и слизистых, нанесенных животным человеку [29], либо при посещении закры-

тых мест дневных убежищ рукокрылых (пещеры, шахты), во время которых возможен контакт с контаминированными вирусом экскрементами животных [8]. Кроме вышеперечисленных форм контакта людей и рукокрылых, в некоторых регионах Африки плодоядные рукокрылые являются объектом охоты с целью потребления в пищу, а также компонентом религиозных ритуалов [10, 18]. Пальмовые крыланы (представители одного из массовых видов африканских рукокрылых) образуют большие колонии в городских парках, что способствует контакту жителей с контаминированной экскрементами животных растительностью и фруктами [18].

С целью определения рисков для жителей Ганы от зоонозов, связанных с охотой на пальмового крылана, A.O. Kamins *et al.* в период 2009–2011 гг. проведено эпидемиологическое исследование среди жителей различных населенных пунктов на юге страны, включая столицу [19]. Задачами исследования были выявление целевых групп для эпиднадзора, потенциальных сложностей, актуальных для управления вспышками, а также определение социокультурных причин этого явления. Ими установлено, что для добычи животных чаще (особенно в сельской местности) используются огнестрельное оружие и рогатки, в то время как «бескровные» способы (отлов сетями или ручная поимка животных на колониях) практикуются значительно реже. Все опрошенные охотники отмечали контакт с кровью крыланов и нанесенные ими царапины, при этом ни один из них не использовал защитные перчатки во время охоты. Авторы обнаружили, что мясо крыланов, за редкими исключениями, употребляется термически обработанным. В целом, в южных регионах Ганы с целью употребления в пищу ежегодно добывается до 128 тыс. пальмовых крыланов [18].

P. Anti *et al.* при исследовании различных видов взаимодействия между людьми и рукокрылыми в трех сельских общинах Ганы в период 2011–2012 гг. показано, что более 60 % респондентов имели контакт с рукокрылыми, причем только 31–45 % (в зависимости от общины) из них контактировали с этими животными во время целевого посещения пещер, в то время как для остальных местами контактов с рукокрылыми были жилища, фермы, рабочие помещения и школы [10]. Почти половина респондентов (46,5 %) употребляли в пищу мясо рукокрылых, и более половины из них (60 %) принимали участие в охоте. Авторами установлен факт широкого потребления мяса рукокрылых – продажа копченых тушек на многочисленных общинных рынках и в ресторанах, а также продажа охотниками добытых животных в другие районы Ганы и за ее пределы [10]. В некоторых районах Демократической Республики Конго (ДРК), где практикуется употребление в пищу мяса рукокрылых, существует запрет на этот вид пищи женщинам детородного возраста, однако им не запрещено разделять тушки и готовить, что заметно увеличивает риск инфицирования этой демографи-

ческой группы различными патогенами, в том числе филловиррусами [22]. Е.М. Leroy *et al.* в ДРК отмечено использование во время охоты на крыланов дробовиков, рогаток и мачете, что приводило к обширной контаминации кровью животных мест охоты и многочисленным контактам охотников с кровью животных [22].

В Гвинейской Республике в районе населенных пунктов, где в декабре 2013 г. появились первые заболевшие болезнью, вызванной вирусом Эбола, А. Marí Saéz *et al.* (апрель 2014 г.) проведены полевые исследования, включавшие также сбор эпидемиологических данных. Согласно опросам местных жителей, часть из них ежегодно принимала участие в охоте на крыланов, сообщалось о наличии больших колоний крыланов в труднодоступных районах юго-восточной Гвинеи, их ежегодных массовых миграциях, а также о существовании пещер с крупными колониями рукокрылых в биосферном заповеднике Зиама. Относительно насекомоядных рукокрылых установлено, что их часто ловят дети и поджаривают тушки животных на небольших кострах [25]. Анализ данных по эпидемиологическим аспектам контакта человека и рукокрылых, представленных в литературе, показал, что исследование подобного рода А. Marí Saéz *et al.* было первым в Гвинейской Республике.

Заключение. Таким образом, для контроля распространения инфекций, передаваемых рукокрылыми в Гвинейской Республике, необходимо учитывать совокупность популяционных и экологических показателей для разных видов рукокрылых (особенно массовых) с использованием современных методов дистанционного наблюдения. Необходимо также создание базы данных по динамике численности и сезонным перемещениям животных, что может быть использовано органами здравоохранения Гвинейской Республики для организации противоэпидемических мероприятий в случаях появления заболевших с симптомами, характерными для переносимых рукокрылыми вирусных инфекций. В связи с крайне ограниченными данными о контактах человека с рукокрылыми в Гвинейской Республике, в том числе с учетом последствий таких контактов для общественного здравоохранения, необходимо проведение широких эпидемиологических исследований в разных районах страны с применением современных методов статистического анализа, что позволит определить группы риска и разработать схемы предотвращения распространения опасных для человека вирусов, носителями которых являются рукокрылые.

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

Список литературы

1. Бахвалова В.Н., Морозова О.В., Матвеева В.А., Панов В.В., Матвеев Л.Э., Добровольский А.К. Взаимоотношения клещей *Ixodes persulcatus* и вируса клещевого энцефалита с красной полевкой (*Clethrionomys rutilus*) в Западной Сибири.

Паразитология. 2003; 37(1):18–30.

2. Беляев М.Ю., Викельски М., Лампен М., Легостаев В.П., Мюллер У., Науманн В., Тертицкий Г.М., Юрина О.А. Технология изучения перемещения животных и птиц на земле с помощью аппаратуры ICARUS на российском сегменте МКС. *Космическая техника и технологии.* 2015; 3:38–51.

3. Курсков А.Н. Рукокрылые охотники. М.: Лесная промышленность; 1978. 136 с.

4. Мошкин М.П., Добровольский А.К., Мак В.В., Панов В.В., Добровольская Е.А. Иммунореактивность полевок рода *Clethrionomys* на разных фазах популяционного цикла. *Доклады Академии наук.* 1995; 345(2):280–2.

5. Система отряда рукокрылых *Chiroptera*. [Электронный ресурс]. URL: <http://zmmu.msu.ru/bats/science/system/system.html> (дата обращения 23.10.2017).

6. Шилова С.А. О возможности прогнозирования заболеваемости клещевым энцефалитом. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* 1963; 3:296–301.

7. AfricanBats. [Электронный ресурс]. URL: www.african-bats.org (дата обращения 23.10.2017).

8. Amman B.R., Carroll S.A., Reed Z.D., Sealy T.K., Balinandi S., Swanepoel R., Kemp A., Erickson B.R., Comer J.A., Campbell S., Cannon D.L., Khristova M.L., Atimmedi P., Paddock C.D., Crockett R.J., Flietstra T.D., Warfield K.L., Unfer R., Katongole-Mbidde E., Downing R., Tappero J.W., Zaki S.R., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T., Towner J.S. Seasonal pulses of Marburg virus circulation in juvenile *Rousettus aegyptiacus* bats coincide with periods of increased risk of human infection. *PLoS Pathog.* 2012; 8(10):e1002877. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002877.

9. Amman B.R., Nyakarahuka L., McElroy A.K., Dodd K.A., Sealy T.K., Schuh A.J., Shoemaker T.R., Balinandi S., Atimmedi P., Kaboyo W., Nichol S.T., Towner J.S. Marburgvirus resurgence in Kitaka mine bat population after extermination attempts, Uganda. *Emerg. Infect. Diseases.* 2014; 20(10):1761–4. DOI: 10.3201/eid2010.140696.

10. Anti P., Owusu M., Agbenyega O., Annan A., Badu E.K., Nkrumah E.E., Tschapka M., Oppong S., Adu-Sarkodie Y., Drosten C. Human-bat interactions in rural West Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(8):1418–21. DOI: 10.3201/eid2108.142015.

11. Brigham R.M. Flexibility in foraging and roosting behaviour by the big brown bat (*Eptesicus fuscus*). *Can. J. Zool.* 1991; 69(1):117–21. DOI: 10.1139/z91-017.

12. Drexler J.F., Corman V.M., Müller M.A., Maganga G.D., Vallo P., Binger T., Gloza-Rausch F., Cottontail V.M., Rasche A., Yordanov S., Seebens A., Knörnschild M., Oppong S., Adu Sarkodie Y., Pongombo C., Lukashev A.N., Schmidt-Chanasit J., Stöcker A., Carneiro A.J., Erbar S., Maisner A., Fronhoffs F., Buettner R., Kalko E.K., Kruppa T., Franke C.R., Kallies R., Yandoko E.R., Herrler G., Reusken C., Hassanin A., Krüger D.H., Matthee S., Ulrich R.G., Leroy E.M., Drosten C. Bats host major mammalian paramyxoviruses. *Nat. Commun.* 2012; 3:796. DOI: 10.1038/ncomms1796.

13. Drexler J.F., Corman V.M., Wegner T., Tateno A.F., Zerbini R.M., Gloza-Rausch F., Seebens A., Müller M.A., Drosten C. Amplification of emerging viruses in a bat colony. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(3):449–56. DOI:10.3201/eid1703.100526.

14. Fenton M.B., Simmons N.B. Bats, a world of science and mystery. The University of Chicago Press; 2015. 240 p.

15. Hayman D.T.S. Biannual birth pulses allow filoviruses to persist in bat populations. *Proc. Biol. Sci.* 2015; 282(1803):20142591. DOI: 10.1098/rspb.2014.2591.

16. iNaturalist.org. Bats of Guinea. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.inaturalist.org/guides/81> (дата обращения 23.10.2017).

17. Ithete N.L., Stoffberg S., Corman V.M., Cottontail V.M., Richards L.R., Schoeman M.C., Drosten C., Drexler J.F., Preiser W. Close relative of human Middle East respiratory syndrome coronavirus in bat, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(10):1697–9. DOI: 10.3201/eid1910.130946.

18. Kamins A.O., Restif O., Ntiemo-Baidu Y., Suu-Ire R., Hayman D.T., Cunningham A.A., Wood J.L., Rowcliffe J.M. Uncovering the fruit bat bushmeat commodity chain and the true extent of fruit bat hunting in Ghana, West Africa. *Biol. Conserv.* 2011; 144(12):3000–8. DOI: 10.1016/j.biocon.2011.09.003.

19. Kamins A.O., Rowcliffe J.M., Ntiemo-Baidu Y., Cunningham A.A., Wood J.L., Restif O. Characteristics and risk perceptions of Ghanaians potentially exposed to bat-borne zoonoses through bushmeat. *Ecohealth.* 2015; 12(1):104–20. DOI: 10.1007/s10393-014-0977-0.

20. Kuzmin I.V., Niezgoda M., Franka R., Agwanda B., Markotter W., Breiman R.F., Shieh W.J., Zaki S.R., Rupprecht C.E. Marburg virus in fruit bat, Kenya. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(2):352–4. DOI: 10.3201/eid1602.091269.

21. Kuzmin I.V., Niezgoda M., Franka R., Agwanda B., Markotter W., Beagley J.C., Urazova O.Y., Breiman R.F., Rupprecht C.E. Lagos bat virus in Kenya. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(4):1451–61. DOI: 10.1128/JCM.00016-08.

22. Leroy E.M., Epelboin A., Mondonge V., Pourrut X., Gonzalez J.P., Muyembe-Tamfum J.J., Formenty P. Human Ebola

outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6):723–8. DOI: 10.1089/vbz.2008.0167.

23. Leroy E.M., Kumulungui B., Pourrut X., Rouquet P., Hassanin A., Yaba P., Délicat A., Paweska J.T., Gonzalez J.P., Swanepoel R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature*. 2005; 438(7068):575–6. DOI: 10.1038/438575a.

24. Maganga G.D., Bourgarel M., Vallo P., Dallo T.D., Ngoagouni C., Drexler J.F., Drosten C., Nakouné E.R., Leroy E.M., Morand S. Bat distribution size or shape as determinant of viral richness in african bats. *PLoS One*. 2014; 9(6):e100172. DOI: 10.1371/journal.pone.0100172.

25. Mari Saéz A., Weiss S., Nowak K., Lapeyre V., Zimmermann F., Dux A., Kühl H.S., Kaba M., Regnaut S., Merkel K., Sachse A., Thiesen U., Villányi L., Boesch C., Dabrowski P.W., Radonić A., Nitsche A., Leendertz S.A., Petterson S., Becker S., Krähling V., Couacy-Hymann E., Akoua-Koffi C., Weber N., Schaade L., Fahr J., Borchert M., Gogarten J.F., Calvignac-Spencer S., Leendertz F.H. Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO Mol. Med.* 2015; 7(1):17–23. DOI: 10.15252/emmm.201404792.

26. Moratelli R., Calisher C.H. Bats and zoonotic viruses: can we confidently link bats with emerging deadly viruses? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2015; 110(1):1–22. DOI: 10.1590/0074-02760150048.

27. Olival K.J., Hayman D.T.S. Filoviruses in Bats: Current Knowledge and Future Directions. *Viruses*. 2014; 6:1759–88. DOI: 10.3390/v6041759.

28. Patyk K., Turmelle A., Blanton J.D., Rupprecht C.E. Trends in national surveillance data for bat rabies in the United States: 2001–2009. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12(8):666–73.

29. Paweska J.T., Blumberg L.H., Liebenberg C., Hewlett R.H., Grobbelaar A.A., Leman P.A., Croft J.E., Nel L.H., Nutt L., Swanepoel R. Fatal human infection with Rabies-related Duvenhage virus, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(12):1965–7. DOI: 10.3201/eid1212.060764.

30. Pourrut X., Souris M., Towner J.S., Rollin P.E., Nichol S.T., Gonzalez J.P., Leroy E. Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in Gabonese bat populations, and a high seroprevalence of both viruses in *Rousettus aegyptiacus*. *BMC Infect. Dis.* 2009; 9:159. DOI: 10.1186/1471-2334-9-159.

31. Quan P.L., Firth C., Street C., Henriquez J.A., Petrosov A., Tashmukhamedova A., Hutchison S.K., Egholm M., Osinubi M.O.V., Niezgoda M., Ogunkoya A.B., Briese T., Rupprecht C.E., Lipkin W.I. Identification of a Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-Like Virus in a Leaf-Nosed Bat in Nigeria. *mBio*. 2010; 1(4):e00208-10. DOI: 10.1128/mBio.00208-10.

32. Refucha S., Bartonička T., Jedlička P., Čížek M., Hlouša O., Lučan R., Horáček I. The BAARA (Biological Automated RADiotracking) System: A new approach in ecological field studies. *PLoS One*. 2015; 10(2):e0116785. DOI: 10.1371/journal.pone.0116785.

33. Richter H.V., Cumming G.S. First application of satellite telemetry to track African straw-coloured fruit bat migration. *J. Zool.* 2008; 275:172–6. DOI: 10.1111/j.1469-7998.2008.00425.x.

34. Schountz T. Immunology of bats and their viruses: challenges and opportunities. *Viruses*. 2014; 6(12):4880–901. DOI: 10.3390/v6124880.

35. Sherrini B.A., Chong T.T. Nipah Encephalitis – An Update. *Med. J. Malaysia*. 2014; 69 Suppl A:103–11.

36. Sodrè M.M., da Gama A.R., de Almeida M.F. Updated list of bat species positive for rabies in Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2010; 52(2):75–81. DOI: 10.1590/S0036-46652010000200003.

37. Swanepoel R., Smit S.B., Rollin P.E., Formenty P., Leman P.A., Kemp A., Burt F.J., Grobbelaar A.A., Croft J., Bausch D.G., Zeller H., Leirs H., Braack L.E., Libande M.L., Zaki S., Nichol S.T., Ksiazek T.G., Paweska J.T., International Scientific and Technical Committee for Marburg Hemorrhagic Fever Control in the Democratic Republic of Congo. Studies of reservoir hosts for Marburg virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(12):1847–51. DOI: 10.3201/eid1312.071115.

38. The IUCN Red List of Threatened Species. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.iucnredlist.org> (дата обращения 23.10.2017).

39. Towner J.S., Amman B.R., Sealy T.K., Carroll S.A., Comer J.A., Kemp A., Swanepoel R., Paddock C.D., Balinandi S., Khristova M.L., Formenty P.B., Albarino C.G., Miller D.M., Reed Z.D., Kayiwa J.T., Mills J.N., Cannon D.L., Greer P.W., Byaruhanga E., Farnon E.C., Atimmedi P., Okware S., Katongole-Mbidde E., Downing R., Tappero J.W., Zaki S.R., Ksiazek T.G., Nichol S.T., Rollin P.E. Isolation of genetically diverse Marburg viruses from Egyptian fruit bats. *PLoS Pathog.* 2009; 5(7):e1000536. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000536.

40. Turmelle A.S., Olival K.J. Correlates of Viral Richness in Bats (Order Chiroptera). *Ecohealth*. 2009; 6(4):522–39. DOI: 10.1007/s10393-009-0263-8.

41. Young C.C.W., Olival K.J. Optimizing viral discovery

in bats. *PLoS One*. 2016; 11(2):e0149237. DOI: 10.1371/journal.pone.0149237.

References

1. Bakhvalova V.N., Morozova O.V., Matveeva V.A., Panov V.V., Matveev L.E., Dobrotvorskyy A.K. [Interaction between *Ixodes persulcatus* ticks and tick-borne encephalitis virus and northern red-backed vole (*Clethrionomys rutilus*) in West Siberia]. *Parazitologiya*. 2003; 37(1):18–30.

2. Belyaev M.Yu., Vikel'sky M., Lampen M., Legostaev V.P., Myuller U., Naumann V., Tertitsky G.M., Yurina O.A. [Technology for studies of animal and bird migration routes using ICARUS system on board the Russian segment of ISS]. *Kosmicheskaya Tekhnika i Tekhnologiya*. 2015; 3:38–51.

3. Kurskov A.N. [Chiropteran Hunters]. M.: “Lesnaya Promyshlennost”; 1978. 136 p.

4. Moshkin M.P., Dobrotvorskyy A.K., Mak V.V., Panov V.V., Dobrotvorskaya E.A. [Immune-responsiveness of genus *Clethrionomys* voles at different stages of population cycle]. *Reports of Academy of Sciences*. 1995; 345(2):280–2.

5. [Chiropteran Order System]. [Internet]. (Cited 23 Oct 2017). Available from <http://zmmu.msu.ru/bats/science/system/system.html>.

6. Shilova S.A. [Concerning the possibility to forecast tick-borne encephalitis incidence]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni*. 1963; 3:296–301.

7. AfricanBats. [Internet]. (Cited 23 Oct 2017). Available from: www.africanbats.org.

8. Amman B.R., Carroll S.A., Reed Z.D., Sealy T.K., Balinandi S., Swanepoel R., Kemp A., Erickson B.R., Comer J.A., Campbell S., Cannon D.L., Khristova M.L., Atimmedi P., Paddock C.D., Crockett R.J., Flietstra T.D., Warfield K.L., Unfer R., Katongole-Mbidde E., Downing R., Tappero J.W., Zaki S.R., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T., Towner J.S. Seasonal pulses of Marburg virus circulation in juvenile *Rousettus aegyptiacus* bats coincide with periods of increased risk of human infection. *PLoS Pathog.* 2012; 8(10):e1002877. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002877.

9. Amman B.R., Nyakarahuka L., McElroy A.K., Dodd K.A., Sealy T.K., Schuh A.J., Shoemaker T.R., Balinandi S., Atimmedi P., Kaboyo W., Nichol S.T., Towner J.S. Marburgvirus resurgence in Kitaka mine bat population after extermination attempts, Uganda. *Emerg. Infect. Diseases*. 2014; 20(10):1761–4. DOI: 10.3201/eid2010.140696.

10. Anti P., Owusu M., Agbenyega O., Annan A., Badu E.K., Nkrumah E.E., Tschapka M., Oppong S., Adu-Sarkodie Y., Drosten C. Human-bat interactions in rural West Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(8):1418–21. DOI: 10.3201/eid2108.142015.

11. Brigham R.M. Flexibility in foraging and roosting behaviour by the big brown bat (*Eptesicus fuscus*). *Can. J. Zool.* 1991; 69(1):117–21. DOI: 10.1139/z91-017.

12. Drexler J.F., Corman V.M., Müller M.A., Maganga G.D., Vallo P., Binger T., Gloza-Rausch F., Cottontail V.M., Rasche A., Yordanov S., Seebens A., Knörnschild M., Oppong S., Adu Sarkodie Y., Pongombo C., Lukashev A.N., Schmidt-Chanasit J., Stöcker A., Carneiro A.J., Erbar S., Maisner A., Fronhoffs F., Buettner R., Kalko E.K., Kruppa T., Franke C.R., Kallies R., Yandoko E.R., Herrler G., Reusken C., Hassanin A., Krüger D.H., Matthee S., Ulrich R.G., Leroy E.M., Drosten C. Bats host major mammalian paramyxoviruses. *Nat. Commun.* 2012; 3:796. DOI: 10.1038/ncomms1796.

13. Drexler J.F., Corman V.M., Wegner T., Tateno A.F., Zerbini R.M., Gloza-Rausch F., Seebens A., Müller M.A., Drosten C. Amplification of emerging viruses in a bat colony. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(3):449–56. DOI: 10.3201/eid1703.100526.

14. Fenton M.B., Simmons N.B. Bats, a world of science and mystery. The University of Chicago Press; 2015. 240 p.

15. Hayman D.T.S. Biannual birth pulses allow filoviruses to persist in bat populations. *Proc. Biol. Sci.* 2015; 282(1803):20142591. DOI: 10.1098/rspb.2014.2591.

16. iNaturalist.org. Bats of Guinea. [Internet]. (Cited 23 Oct 2017). Available from: <http://www.inaturalist.org/guides/81>.

17. Ithete N.L., Stoffberg S., Corman V.M., Cottontail V.M., Richards L.R., Schoeman M.C., Drosten C., Drexler J.F., Preiser W. Close relative of human Middle East respiratory syndrome coronavirus in bat, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(10):1697–9. DOI: 10.3201/eid1910.130946.

18. Kamins A.O., Restif O., Ntiama-Baidu Y., Suu-Ire R., Hayman D.T., Cunningham A.A., Wood J.L., Rowcliffe J.M. Uncovering the fruit bat bushmeat commodity chain and the true extent of fruit bat hunting in Ghana, West Africa. *Biol. Conserv.* 2011; 144(12):3000–8. DOI: 10.1016/j.biocon.2011.09.003.

19. Kamins A.O., Rowcliffe J.M., Ntiama-Baidu Y., Cunningham A.A., Wood J.L., Restif O. Characteristics and risk perceptions of Ghanaians potentially exposed to bat-borne zoonoses through bushmeat. *Ecohealth*. 2015; 12(1):104–20. DOI: 10.1007/s10393-014-0977-0.

20. Kuzmin I.V., Niezgoda M., Franka R., Agwanda B.,

- Markotter W., Breiman R.F., Shieh W.J., Zaki S.R., Rupprecht C.E. Marburg virus in fruit bat, Kenya. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(2):352–4. DOI: 10.3201/eid1602.091269.
21. Kuzmin I.V., Niezgodna M., Franka R., Agwanda B., Markotter W., Beagley J.C., Urazova O.Y., Breiman R.F., Rupprecht C.E. Lagos bat virus in Kenya. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(4):1451–61. DOI: 10.1128/JCM.00016-08.
22. Leroy E.M., Epelboin A., Mondonge V., Pourrut X., Gonzalez J.P., Muyembe-Tamfum J.J., Formenty P. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6):723–8. DOI: 10.1089/vbz.2008.0167.
23. Leroy E.M., Kumulungui B., Pourrut X., Rouquet P., Hassanin A., Yaba P., Delicat A., Paweska J.T., Gonzalez J.P., Swanepoel R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature.* 2005; 438(7068):575–6. DOI: 10.1038/438575a.
24. Maganga G.D., Bourgarel M., Vallo P., Dallo T.D., Ngoagouni C., Drexler J.F., Drosten C., Nakouné E.R., Leroy E.M., Morand S. Bat distribution size or shape as determinant of viral richness in african bats. *PLoS One.* 2014; 9(6):e100172. DOI: 10.1371/journal.pone.0100172.
25. Mari Saéz A., Weiss S., Nowak K., Lapeyre V., Zimmermann F., Dux A., Kühl H.S., Kaba M., Regnaut S., Merkel K., Sachse A., Thiesen U., Villányi L., Boesch C., Dabrowski P.W., Radonić A., Nitsche A., Leendertz S.A., Petterson S., Becker S., Krähling V., Couacy-Hymann E., Akoua-Koffi C., Weber N., Schaade L., Fahr J., Borchert M., Gogarten J.F., Calvignac-Spencer S., Leendertz F.H. Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO Mol. Med.* 2015; 7(1):17–23. DOI: 10.15252/emmm.201404792.
26. Moratelli R., Calisher C.H. Bats and zoonotic viruses: can we confidently link bats with emerging deadly viruses? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2015; 110(1):1–22. DOI: 10.1590/0074-02760150048.
27. Olival K.J., Hayman D.T.S. Filoviruses in Bats: Current Knowledge and Future Directions. *Viruses.* 2014; 6:1759–88. DOI: 10.3390/v6041759.
28. Patyk K., Turmelle A., Blanton J.D., Rupprecht C.E. Trends in national surveillance data for bat rabies in the United States: 2001–2009. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12(8):666–73.
29. Paweska J.T., Blumberg L.H., Liebenberg C., Hewlett R.H., Grobbelaar A.A., Leman P.A., Croft J.E., Nel L.H., Nutt L., Swanepoel R. Fatal human infection with Rabies-related Duvenhage virus, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(12):1965–7. DOI: 10.3201/eid1212.060764.
30. Pourrut X., Souris M., Towner J.S., Rollin P.E., Nichol S.T., Gonzalez J.P., Leroy E. Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in Gabonese bat populations, and a high seroprevalence of both viruses in *Rousettus aegyptiacus*. *BMC Infect. Dis.* 2009; 9:159. DOI: 10.1186/1471-2334-9-159.
31. Quan P.L., Firth C., Street C., Henriquez J.A., Petrosov A., Tashmukhamedova A., Hutchison S.K., Egholm M., Osinubi M.O.V., Niezgodna M., Ogunkoya A.B., Briese T., Rupprecht C.E., Lipkin W.I. Identification of a Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-Like Virus in a Leaf-Nosed Bat in Nigeria. *mBio.* 2010; 1(4):e00208-10. DOI: 10.1128/mBio.00208-10.
32. Reŕucha Š., Bartonička T., Jedlička P., Čížek M., Hlouša O., Lučan R., Horáček I. The BAARA (Biological Automated RADiotracking) System: A new approach in ecological field studies. *PLoS One.* 2015; 10(2):e0116785. DOI: 10.1371/journal.pone.0116785.
33. Richter H.V., Cumming G.S. First application of satellite telemetry to track African straw-coloured fruit bat migration. *J. Zool.* 2008; 275:172–6. DOI: 10.1111/j.1469-7998.2008.00425.x.
34. Schountz T. Immunology of bats and their viruses: challenges and opportunities. *Viruses.* 2014; 6(12):4880–901. DOI: 10.3390/v6124880.
35. Sherrini B.A., Chong T.T. Nipah Encephalitis – An Update. *Med. J. Malaysia.* 2014; 69 Suppl A:103–11.
36. Sodré M.M., da Gama A.R., de Almeida M.F. Updated list of bat species positive for rabies in Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo.* 2010; 52(2):75–81. DOI: 10.1590/S0036-46652010000200003.
37. Swanepoel R., Smit S.B., Rollin P.E., Formenty P., Leman P.A., Kemp A., Burt F.J., Grobbelaar A.A., Croft J., Bausch D.G., Zeller H., Leirs H., Braack L.E., Libande M.L., Zaki S., Nichol S.T., Ksiazek T.G., Paweska J.T., International Scientific and Technical Committee for Marburg Hemorrhagic Fever Control in the Democratic Republic of Congo. Studies of reservoir hosts for Marburg virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(12):1847–51. DOI: 10.3201/eid1312.071115.
38. The IUCN Red List of Threatened Species. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.iucnredlist.org> (дата обращения 23.10.2017).
39. Towner J.S., Amman B.R., Sealy T.K., Carroll S.A., Comer J.A., Kemp A., Swanepoel R., Paddock C.D., Balinandi S., Khristova M.L., Formenty P.B., Albarino C.G., Miller D.M., Reed Z.D., Kayiwa J.T., Mills J.N., Cannon D.L., Greer P.W., Byaruhanga E., Farnon E.C., Atimniedi P., Okware S., Katongole-Mbidde E., Downing R., Tappero J.W., Zaki S.R., Ksiazek T.G., Nichol S.T., Rollin P.E. Isolation of genetically diverse Marburg viruses from Egyptian fruit bats. *PLoS Pathog.* 2009; 5(7):e1000536. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000536.
40. Turmelle A.S., Olival K.J. Correlates of Viral Richness in Bats (Order Chiroptera). *Ecohealth.* 2009; 6(4):522–39. DOI: 10.1007/s10393-009-0263-8.
41. Young C.C.W., Olival K.J. Optimizing viral discovery in bats. *PLoS One.* 2016; 11(2):e0149237. DOI: 10.1371/journal.pone.0149237.

Authors:

Porshakov A.M. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rus-rapi@microbe.ru.

Kononova Yu.V., Loktev V.B. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology “Vector”. Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Boiro M.I. Research Institute of Applied Biology. Kindia, Republic of Guinea.

Об авторах:

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

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

Бойро М.И. Исследовательский институт прикладной биологии, Киндия, Гвинейская Республика

Поступила 18.01.18.

Принята к публ. 30.01.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-40-45

УДК 616.9:615.28

Л.В. Саяпина, Н.А. Гаврилова, Н.Ф. Никитюк, Ю.И. Обухов, В.П. Бондарев

**К ВОПРОСУ О ПРИМЕНЕНИИ В ПРАКТИЧЕСКОМ ЗДРАВООХРАНЕНИИ
ГЕТЕРОЛОГИЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ***ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация*

В статье проведен анализ востребованности гетерологичных препаратов и показана необходимость их применения в практическом здравоохранении. В настоящее время в Российской Федерации зарегистрировано 15 гетерологичных иммуноглобулинов и сывороток, из них девять – против бактериальных и вирусных инфекций (сибирская язва, дифтерия, столбняк, ботулизм, бешенство, противогангренозная), одна – против яда змей, пять – иммуноглобулины антигистаминные отечественных и зарубежных производителей. Анализ данных показал, что наиболее востребованы в клинической практике иммуноглобулин антирабический, противодифтерийная и противоботулиническая сыворотки типов А, В и Е. Выпуск же других лекарственных препаратов данной группы, например, сыворотки противогангренозной, имеет тенденцию к снижению. Достаточное обеспечение лечебно-профилактических учреждений данными препаратами имеет большое значение для оказания своевременной медицинской помощи при инфекционных заболеваниях, таких как сибирская язва, дифтерия, столбняк, ботулизм, бешенство, а также при укусах змей. В профилактике и лечении некоторых заболеваний (экстренная помощь при сибирской язве, бешенстве, укусах ядовитых змей) гетерологичные препараты до сих пор зачастую не имеют альтернативы. Основной проблемой регулирования обращения гетерологичных препаратов является отсутствие критериев качества, эффективности и безопасности, предъявляемых к другим иммунобиологическим препаратам. Выработка единых требований к стандартизации гетерологичных сывороток и иммуноглобулинов различной специфичности, принципов оценки их эффективности и безопасности, необходима для гармонизации действующих инструкций по медицинскому применению. Разработанные ранее подходы ВОЗ для гетерологичных сывороток к ядам змей могут использоваться для проведения мониторинга и процесса гармонизации нормативно-правовых документов по совершенствованию, оценке качества, эффективности и безопасности аналогичных препаратов, находящихся в обращении на фармацевтическом рынке Российской Федерации.

Ключевые слова: гетерологичные сыворотки и иммуноглобулины, бактериальные и вирусные инфекции, рекомендации ВОЗ.

Корреспондирующий автор: Саяпина Лидия Васильевна, e-mail: Sayapina@expmed.ru.

Для цитирования: Саяпина Л.В., Гаврилова Н.А., Никитюк Н.Ф., Обухов Ю.И., Бондарев В.П. К вопросу о применении в практическом здравоохранении гетерологичных препаратов. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 3:40–45. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-40-45

L.V. Sayapina, N.A. Gavrilova, N.F. Nikityuk, Yu.I. Obukhov, V.P. Bondarev**Concerning the Application of Heterologous Preparations in Practical Healthcare***Scientific Centre on Expertise of Medicinal Application Products, Moscow, Russian Federation*

Abstract. The paper presents the data on the assessment of the demand for heterologous drugs and highlights the need for their use in practical healthcare. Currently, 15 heterologous immunoglobulins and sera are registered in the Russian Federation. Nine of them are against bacterial and viral infections (anthrax, diphtheria, tetanus, botulism, rabies, anti-gangrenous), one – against snake venom, five other – anti-thymocyte immunoglobulins produced by domestic and foreign manufacturers. Analysis of the data has demonstrated that anti-rabies immunoglobulin, anti-diphtheria and anti-botulinic sera, A, B and E type are the most in-demand. Production of other therapeutic drugs from this group, for instance, anti-gangrenous serum, tends to decline. Adequate provision of medical curative and preventive institutions with these preparations is a significant element in timely treatment of infectious diseases such as anthrax, diphtheria, tetanus, botulism, rabies, as well as snake bites. In prophylaxis and treatment of certain diseases (emergency aid in case of anthrax, rabies, venomous snake bites) heterologous preparations still oftentimes do not have an alternative. The key problem in regulation of heterologous preparation circulation is absence of quality, efficacy and safety criteria applicable to other immunobiological preparations. Development of unified requirements to standardization of heterologous sera and immunoglobulins of various specificity, principles of efficacy and safety evaluation is necessary for harmonization of current guidelines on medical use. Earlier elaborated by WHO approaches to heterologous sera to venoms of snakes can be used for monitoring and harmonization of normative legal documents on the improvement, evaluation of quality, efficacy and safety of alternative drugs being in circulation in the pharmaceutical market of the Russian Federation.

Key words: heterologous sera and immunoglobulins, bacterial and viral infections, WHO recommendations.

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

Corresponding author: Lidiya V. Sayapina, e-mail: Sayapina@expmed.ru.

Citation: Sayapina L.V., Gavrilova N.A., Nikityuk N.F., Obukhov Yu.I., Bondarev V.P. Concerning the Application of Heterologous Preparations in Practical Healthcare. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2018; 3:40–45. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-40-45
Received 22.06.18. *Accepted* 28.06.18.

На фармацевтическом рынке для оказания экстренной и профилактической медицинской помощи при инфекционных заболеваниях имеются гетерологические сыворотки и иммуноглобулины. Гетерологические препараты, наряду с вакцинами, являются одними из первых иммунобиологических лекарственных средств, широко использующихся на протяжении многих лет в борьбе с инфекционными болезнями (сибирская язва, бешенство, ботулизм, столбняк, гангрена и др.), при укусах ядовитых змей и в трансплантологии. Их получают из сыворотки крови животных, чаще лошадей, иммунизированной определенной вакциной или специфическим антигеном. Они представляют собой очищенные антитоксины, иммуноглобулины или их фрагменты, направленные против возбудителей инфекций и их токсинов.

Целью работы является анализ востребованности гетерологических лекарственных препаратов, находящихся в обращении в Российской Федерации (РФ), и применения их в практическом здравоохранении.

Область применения гетерологических сывороток и иммуноглобулинов. Гетерологические сыворотки и иммуноглобулины составляют важную группу для профилактики и лечения некоторых инфекционных болезней, таких как сибирская язва, дифтерия, столбняк, ботулизм. Особенно они актуальны в странах, расположенных в труднодоступных регионах со слабым экономическим развитием или при возникновении чрезвычайных ситуаций, когда именно сыворотки зачастую являются единственным средством оказания экстренной медицинской помощи [3, 10, 11, 18, 19, 20, 22, 24].

Однако область применения гетерологических препаратов не ограничивается только профилактикой инфекционных болезней. В последнее время значительный интерес вызывают сыворотки против ядов змей, совершенствованию которых уделяется большое внимание как со стороны ВОЗ, так и со стороны ведущих мировых медицинских агентств [7, 8, 16, 20, 23, 31, 34]. Помимо этого, высоко оцениваются по своей эффективности в области трансплантологии препараты антитимоцитарного иммуноглобулина, полученные из сывороток крови кроликов и лошадей [1, 21].

Вместе с тем, как в России, так и за рубежом, нормативно-правовые акты регулирования обращения гетерологических препаратов в недостаточной мере соответствуют современным реалиям. Отсутствие единых требований к препаратам данной группы по показателям оценки качества, эффективности и безопасности связано с одной стороны с их давним применением, а с другой – со снижением в последние годы потребности в ряде гетерологических препаратов на фоне использования современных лекарственных средств и новых стандартов лечения.

Основной проблемой регулирования обращения препаратов данной группы является несогласован-

ность критериев качества, эффективности и безопасности с требованиями, предъявляемыми к другим, более современным иммунобиологическим препаратам. Следует отметить, что на фоне многолетнего успешного применения гетерологических иммуноглобулинов и сывороток в практическом здравоохранении, отсутствие актуализированной нормативно-правовой базы значительно затрудняет работу регуляторных органов в сфере их экспертной оценки, регулирования и обращения на рынке. Сложившаяся ситуация также усложняет проведение работ в области совершенствования имеющихся и разработки новых препаратов аналогичного назначения.

Анализ востребованности гетерологических иммунобиологических препаратов, зарегистрированных в РФ. В настоящее время в Российской Федерации зарегистрировано 15 гетерологических иммуноглобулинов и сывороток, из них девять против бактериальных и вирусных инфекций (сибирская язва, дифтерия, столбняк, ботулизм, бешенство, противогангренозная), один – против яда змей, пять – иммуноглобулины антитимоцитарные отечественных и зарубежных производителей (таблица).

Зарегистрированные в РФ препараты гетерологических сывороток и иммуноглобулинов

Registered in RF preparations of heterologous sera and immunoglobulins

Препараты	Производитель
Сыворотки	
Сыворотки противоботулинические типа А, типа В и типа Е лошадиные очищенные концентрированные жидкие	АО НПО «Микроген», РФ
Сыворотка противодифтерийная лошадиная очищенная концентрированная	
Сыворотка противостолбнячная лошадиная очищенная концентрированная	
Сыворотка против яда гадюки обыкновенной лошадиная очищенная концентрированная жидкая	
Сыворотка противогангренозная поливалентная лошадиная очищенная концентрированная	
Иммуноглобулин сибирезавенный	
Иммуноглобулин противосибирезавенный лошадиный	ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» МО РФ
Иммуноглобулины антирабические	
Иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий	ЗАО «Биолек», Украина
Иммуноглобулин антирабический из сыворотки крови лошади жидкий	ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», РФ
Иммуноглобулины антитимоцитарные	
Тимоглобулин кроличий	Имтикс-Сангстат, Франция Джензайм Европа Б.В., Нидерланды
Антилимфолин кроличий	ФГУ «РГНКЦ Росздрава», РФ
Атгам лошадиный	Фармация и Апджон Кампани, США
АТГ-Фрезениус С кроличий	Фрезениус Биотех ГмбХ, Германия
Графалон кроличий	Неовий Биотех ГмбХ, Германия

Высокая востребованность гетерологичных лекарственных препаратов, возможно, объясняется сложностью иммунизации доноров для получения гомологичных иммуноглобулинов против опасных инфекций, ботулизма и ядов змей с аналогичными показаниями.

Анализ доступных литературных данных показывает, что наиболее востребованными в клинической практике среди гетерологичных препаратов являются иммуноглобулин антирабический, противодифтерийная и противоботулинические сыворотки типов А, В и Е. Выпуск же других препаратов, например, сыворотки противогангренозной, значительно снизился по сравнению с прошлыми годами.

Возникший дисбаланс применения гетерологичных препаратов прежде всего связан с интенсивным развитием фармации, появлением новых более эффективных лекарственных средств, в том числе противобактериальных, новых медицинских материалов и, соответственно, стандартов лечения. В связи со снижением потребности в большинстве гетерологичных препаратов и нерентабельности их производства, ряд ведущих производителей прекращают их выпуск.

Вместе с тем, заслуживает внимания ситуация, возникающая вокруг сывороток против ядов змей. Компания Санофи Пастер в 2014 г. выступила с заявлением о прекращении выпуска препарата FAV-Africa – сыворотки против ядов десяти видов змей, который широко был востребован в странах Африки и Европы. В России в последние годы также отмечается резкое сокращение производства сывороток против ядов змей, в первую очередь, из-за трудности иммунизации доноров и их изготовления.

Сложившиеся обстоятельства вызвали дополнительный интерес регуляторных органов к данной группе препаратов. Принято решение о проведении мониторинга востребованности зарегистрированных гетерологичных препаратов, а также, по мере необходимости, актуализации и гармонизации нормативно-правовых актов, регулирующих их обращение в современных условиях.

Учитывая вышеизложенное, по инициативе ВОЗ в 2016 г. подготовлен список необходимых гетерологичных препаратов и выработаны критерии оценки их эффективности и безопасности с учетом современного уровня знаний и подходов [31, 32].

В результате проделанной работы экспертными группами ВОЗ подготовлены документы, определяющие требования к производству, контролю и регулированию обращения сывороток против яда змей. Помимо этого детально определены критерии и методы оценки эффективности препаратов при проведении доклинических исследований. В дальнейшем материалы по оценке качества, эффективности и безопасности этих препаратов вошли в Руководство ВОЗ по стандартизации биологических препаратов [32, 33].

Важно отметить, что общие принципы оценки

качества, эффективности и безопасности, разработанные для препаратов сывороток против ядов змей, могут быть использованы при экспертной оценке других гетерологичных сывороток и иммуноглобулинов. В конечном итоге данный подход позволит решить проблемы, связанные с обеспечением жизненно необходимыми (указанными выше) лекарственными средствами.

Несмотря на достигнутые успехи современной медицины, до настоящего времени полностью не решены вопросы, традиционно связанные с использованием гетерологичных препаратов. В профилактике и лечении опасных инфекционных заболеваний (экстренная помощь при сибирской язве, бешенстве, укусах ядовитых змей) гетерологичные препараты до сих пор зачастую не имеют альтернативы.

Только в Российской Федерации существует более 35 тыс. стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов, в которых периодически происходят вспышки заболевания сельскохозяйственных животных, что представляет постоянную угрозу заражения, развития эпизоотий и эпидемий сибирской язвы [6, 7]. В связи с этим актуальным остается своевременное введение единственного в мире противосибирезявленного иммуноглобулина лицам, не привитым против сибирской язвы и имеющим прямой контакт с инфицированным материалом – при уходе за больными животными, при убойе, разделке туш, приготовлении и употреблении в пищу мяса больных животных [2, 9].

Широкое распространение бешенства среди различных видов животных также представляет опасность заражения для людей. Анализ данных ВОЗ о распространении бешенства в мире и Российской Федерации за последнее десятилетие свидетельствует о сложившейся неблагоприятной эпидемической ситуации. Ежегодно в России в медицинской помощи после укуса дикими или домашними животными с применением антирабического иммуноглобулина в комбинации с антирабической вакциной нуждаются около 500 тыс. человек.

Проведение массовой вакцинации в соответствии с Национальным календарем профилактических прививок широких слоев населения способствовало снижению заболеваемости дифтерией. В результате этого значительно снизились потребности в противодифтерийной сыворотке, которая применяется для экстренной профилактики и лечения в практическом здравоохранении уже более 100 лет [4, 5, 14, 27, 30].

В соответствии с рекомендациями ВОЗ этот препарат включен в список жизненно необходимых лекарственных средств, так как в настоящее время на фоне постоянной циркуляции штаммов *Corynebacterium*, широких миграционных процессов населения и несогласованности схем вакцинации в разных географических регионах мира, регистрируются единичные вспышки дифтерии, даже в неэндемичных странах [14, 30].

Учитывая неблагоприятную обстановку по заболеваемости дифтерией, ВОЗ настоятельно рекомендует каждой стране иметь собственный, постоянно возобновляемый запас противодифтерийной сыворотки, что особенно актуально для тех географических регионов, где затруднена организация проведения массовой вакцинации населения [13].

Среди инфекционных заболеваний пристального внимания со стороны медицинских служб заслуживает ботулизм, являющийся одной из наиболее тяжелых бактериальных токсикоинфекций, которая даже при использовании современных методов терапии, нередко является причиной гибели пациентов. В России ежегодно регистрируются от 400 до 500 случаев заболевания людей, употреблявших продукты, содержащие ботулотоксин. По данным Роспотребнадзора, летальность среди больных в настоящее время составляет 15–30 %. Следует отметить, что наряду с патогенетическим и симптоматическим лечением, главная роль принадлежит противоботулиническим сывороткам, способным нейтрализовать ботулинические токсины.

Кроме этого, не исключается возможность использования дифтерийного и ботулинического токсинов, обладающих высокой биологической активностью и токсичностью, при проведении террористических актов.

В последние годы сыворотка против газовой гангрены рассматривается только с исторической точки зрения. Вместе с тем, в военное время в комплексе с хирургическими мероприятиями введение сыворотки помогло спасти многих пациентов от ампутации нижних и верхних конечностей. В то же время развитие современной хирургии, в том числе военно-полевой, ее высокая мобильность и наличие современных лекарственных средств не исключают использования гетерологичной сыворотки для предотвращения газовой гангрены, причинами развития которой в мирное время могут быть травмы различного характера и осложнения после хирургических вмешательств [6, 12, 28].

Применение гетерологичных сывороток и иммуноглобулинов в странах Европы и США. Необходимо отметить, что во многих странах Европы и США применение гетерологичных сывороток рекомендуется Федеральными медицинскими агентствами, что отражено в специальных руководствах и нормативно-правовых документах. При этом существующие стандарты лечения препаратами гетерологичных сывороток и иммуноглобулинов могут значительно отличаться при их использовании в разных странах.

В США, в соответствии с протоколом Центра по контролю и профилактике инфекционных заболеваний, лечение сывороткой получают все пациенты, которые имеют предполагаемый или подтвержденный диагноз дифтерии [17, 29]. Следует отметить, что, в отличие от приведенных выше рекомендаций, в отечественной инструкции по применению сыво-

ротки противодифтерийной лошадиной очищенной не предусмотрено введение сыворотки с профилактической целью до постановки диагноза.

В рекомендациях по применению противоботулинических сывороток различных европейских производителей (Novartis Behring и Pasteur Ltd) описывается несколько терапевтических подходов, отсутствующих в инструкции для отечественного препарата, а именно, возможность дробного и повторного введения сыворотки при сохранении симптомов интоксикации [15, 26].

На российском рынке представлено несколько групп гетерологичных препаратов с различными областями применения (профилактика и лечение инфекционных заболеваний, экстренная терапия при укусах ядовитых змей, трансплантология). Оценка качества препаратов проводится в соответствии с Фармакопейными статьями ГФ, а безопасность гарантируется соблюдением Правил надлежащего производства (GMP) технологического процесса, а также транспортировкой и хранением плазмы животных, выполнением современных требований по обеспечению вирусной и прионной безопасности [25].

Проведенный анализ показывает, что источником информации и основой для разработки новых эффективных подходов к лечению и профилактике отечественными иммуноглобулинами и сыворотками может служить опыт применения гетерологичных препаратов, находящихся в обращении в разных странах. Однако отсутствие единых требований приводит к несогласованности между собой действующих инструкций по медицинскому применению гетерологичных сывороток и иммуноглобулинов одного фармакотерапевтического класса, вследствие чего медицинские работники не в полной мере информированы об эффективности и безопасности того или иного лекарственного препарата.

Выводы.

1. Обеспечение практических учреждений гетерологичными препаратами имеет важное значение для оказания своевременной помощи при некоторых инфекционных заболеваниях (бешенство, сибирская язва, ботулизм, дифтерия), а также укусах ядовитых змей.

2. Выработка единых требований к стандартизации препаратов гетерологичных сывороток и иммуноглобулинов различной специфичности, принципов оценки их эффективности и безопасности, необходимы для гармонизации действующих инструкций по медицинскому применению.

3. Подходы, разработанные ВОЗ, для гетерологичных сывороток к ядам змей, могут быть применены в процессе разработки нормативно-правовых документов с целью гармонизации вопросов по оценке качества, эффективности и безопасности аналогичных препаратов, находящихся в обращении на фармацевтическом рынке Российской Федерации.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых

интересов, связанных с написанием статьи.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590046-9).

Список литературы

- Арзуманов С.В., Типцов Д.В., Митиш А.Е., Грамотнев А.К. Опыт применения различных протоколов индукционной терапии источающими антителами при трансплантации почки. *Трансплантология*. 2015; 2:14–9.
- Инструкция и методические указания по лабораторной, клинической диагностике, профилактике и лечению сибирской язвы у людей. М.; 1980. 64 с.
- Колесников А.В., Рябо А.К., Шемякин И.Г., Козырь А.В. Современные подходы к разработке специфической терапии особо опасных токсикоинфекций. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2015; 70(4):428–34. DOI: 10.15690/vgramn.v70.i4.1408.
- Корженкова М.П., Берко А.И., Малышев Н.А. Диагностика и лечение токсической дифтерии. Часть 1. Ранняя диагностика токсической дифтерии. *Лечащий врач*. 2009; 10:26–30.
- Корженкова М.П., Свиридов В.В., Берко А.И., Малышев Н.А., Гальвидис И.А., Яковлева И.В., Буркин М.А. Диагностика и лечение токсической дифтерии. Часть 2. Высокие дозы противодифтерийной сыворотки в лечении токсических форм дифтерии. *Лечащий врач*. 2010; 6:63–7.
- Мельдин И.И., Никитенко В.И., Афуков И.В., Котлубаев Р.С., Арестова С.В., Куркин А.П., Кремин А.С., Садыков Н.Г., Чарухов Б.Э., Павлов В.А. Клинический случай открытого перелома обеих костей предплечья, осложненного анаэробной клостридиальной инфекцией, газовой гангреней смешанной формы, у ребенка 11 лет. *Детская хирургия*. 2014; 18(5):51–2.
- Миронов А.Н., Бушменков Д.С., Данилина Т.В., Колбасов С.Е. Изучение острой токсичности и влияния на системы и органы лабораторных животных препарата «Сыворотка против яда гадюки обыкновенной». *Сибирский медицинский журнал*. 2010; 99(8):33–6.
- Перелыгина О.В., Комаровская Е.И., Мухамина А.В., Саяпина Л.В., Обухов Ю.И., Бондарев В.П. Гетерологические сывороточные препараты в практике современной медицины. *Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение*. 2017; 17(1):41–7.
- Профилактика сибирской язвы. СП 3.1.7.2629-10. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.garant.ru> (дата обращения 14.05.2018).
- Рязанова А.Г., Цыганкова О.И., Аксенова Л.Ю., Варфоломеева Н.Г., Головинская Т.М., Буравцева Н.П., Еременко Е.И., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая и эпизоотологическая ситуация по сибирской язве в 2014 г., прогноз на 2015 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 1:26–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-1-26-29.
- Шестакова И.В. Сибирская язва ошибок не прощает: оценка информации после вспышки на Ямале летом 2016 года. *Журнал инфектологии*. 2016; 8(3):5–27.
- Amimoto K., Ohgitani T., Sasaki O., Oishi E., Katayama S., Isogai M. Protective effect of Clostridium septicum katayama-toxoid vaccine against challenge with spores in guinea pigs. *J. Vet. Med. Sci.* 2002; 64(1): 67–9. DOI: 10.1292/jvms.64.67.
- Begg N. Manual for the Management and Control of Diphtheria in the European Region. Expanded Programme on Immunization. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.who.int/iris/handle/10665/108107> (дата обращения 14.02.2018).
- Both L., White J., Mandal S., Efstratiou A. Access to diphtheria antitoxin for therapy and diagnostics. *Euro Surveill*. 2014; 19(24):1–6.
- Cangen – BAT, Botulism Antitoxin Heptavalent (A, B, C, D, E, F, G) – (Equine), Sterile Solution for Injection: FDA. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.fda.gov/downloads/UCM345147.pdf> (дата обращения 14.02.2018).
- Casewell N.R., Cook D.A., Wagstaff S.C., Nasidi A., Durfa N., Wuster W., Harrison R.A. Pre-clinical assays predict pan-African Echis viper efficacy for a species-specific antivenom. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2010; 4(10):e851. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000851.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Notice to readers: availability of diphtheria antitoxin through an investigational new drug protocol. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 1997; 46(17):380. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00047446.htm> (дата обращения 14.02.2018).
- Guidance document on use of medicinal products for the treatment and prophylaxis of biological agents that might be used as weapons of bioterrorism: EMA/ CPMP/4048/01/2014, rev.6. [Электронный ресурс]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2010/01/WC500049399.pdf (дата обращения 14.02.2018).
- Human Rabies Prevention. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cdc.gov/rabies/prevention/index.html> (дата обращения 14.05.2018).
- Kasturiratne A., Wickremasinghe A.R., de Silva N., Gunawardena N.K., Pathmeswaran A., Premaratna R., Savioli L., Lalloo D.G., de Silva H.J. The global burden of snakebite: A literature analysis and modeling based on regional estimates of envenoming and deaths. *PLoS Med.* 2008; 5(11):e218. DOI: 10.1371/journal.pmed.0050218.
- Marsh J.C., Ball S.E., Cavenagh J., Darbyshire P., Dokal I., Gordon-Smith E.C., Keidan J., Laurie A., Martin A., Mercieca J., Killick S.B., Stewart R., Yin J.A. British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia. *Br. J. Haematol.* 2009; 147(1):43–70. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07842.x.
- Microorganisms in foods: microbiological testing in food safety management, usefulness of testing for clostridium botulinum in powdered infant formula and dairy-based ingredients for infant formula: ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2014. Dated: 17 January 2014 (revision 1). [Электронный ресурс]. http://www.icmsf.org/wp-content/uploads/2018/02/ICMSF_Infant_Formula_Testing_Revision1-20140117.pdf (дата обращения 14.02.2018).
- Ovine specific immunoglobulin (Fab) fragments raised against Vipera berus venom for the treatment of snakebite envenomation: Public summary of opinion on orphan designation: EMA/COMP/615279/2015. [Электронный ресурс]. URL: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2015/11/WC500196610.pdf (дата обращения 14.02.2017).
- Preventing Tetanus, Diphtheria, and Pertussis Among Adults: Use of Tetanus Toxoid, Reduced Diphtheria Toxoid and Acellular Pertussis Vaccine. *MMWR Recomm. Rep.* 2006; 55(RR-17):1–37. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5517a1.htm> (дата обращения 14.05.2018).
- Requirements for the collection, processing and quality control of blood, blood components and plasma derivatives (Requirements for Biological Substances No. 27, revised 1992). WHO Technical Report Series. No. 840, 1994. P. 34–99. [Электронный ресурс]. URL: http://www.who.int/bloodproducts/publications/WHO_TRS_840_A2.pdf (дата обращения 14.05.2018).
- Sanofi Pasteur Limited–Botulism Antitoxin Bivalent (Equine) Types A and B: FDA. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/LicensedProductsBLAs/FractionatedPlasmaProducts/UCM199550.pdf> (дата обращения 14.02.2018).
- Schwartz R.S. Paul Ehrlich's magic bullets. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350(11):1079–80. DOI: 10.1056/NEJMp048021.
- Stevens D.L., Tweten R., Awad M.M., Rood J.I., Bryant A.E. Clostridial gas gangrene: evidence that a and q toxins differentially modulate the immune response and induce acute tissue necrosis. *J. Infect. Dis.* 1997; 176:189–95.
- Use of Diphtheria Antitoxin (DAT) for Suspected Diphtheria Cases. Centers for Disease Control and Prevention Atlanta. Protocol-03/26/2014-Revised. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cdc.gov/diphtheria/downloads/protocol.pdf> (дата обращения 14.02.2018).
- Wagner K.S., White J.M., Lucenko I., Mercer D., Crowcroft N.S., Neal S., Efstratiou A. Diphtheria Surveillance Network Diphtheria in the Postepidemic Period, Europe, 2000–2009. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(2):217–25. DOI: 10.3201/eid1802.110987.
- WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins. WHO Technical Report Series. No. 1004, 2017. P. 204–388. [Электронный ресурс]. URL: http://www.who.int/bloodproducts/AntivenomGLrevWHO_TRS_1004_web_Annex_5.pdf?ua=1 (дата обращения 20.06.2018).
- WHO Expert Committee on Biological Standardization / WHO technical reports series. 2003. [Электронный ресурс]. URL: http://www.who.int/biologicals/WHO_TRS_927.pdf (дата обращения 13.02.2018).
- WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO technical reports series. 2017. [Электронный ресурс]. URL: http://www.who.int/biologicals/WHO_TRS_1004_web.pdf (дата обращения 13.02.2018).
- Wolf A., Mazenot C., Spadoni S., Calvet F., Demoncheaux J.P. FAV-Africa: a polyvalent antivenom serum used in Africa and Europe. *Med. Trop. (Mars)*. 2011; 71(6):537–40.

References

- Arzumanov S.V., Tiptsov D.V., Mitish A.E., Gramotnev A.K. [Experience in application of various protocols for the induction treatment with depleting antibodies in case of kidney transplantation]. *Transplantologiya*. 2015; 2:14–9.
- [Instructions and methodological recommendations on laboratory, clinical diagnostics, prevention and treatment of anthrax in humans]. M.: 1980. 64 p.
- Kolesnikov A.V., Ryabko A.K., Shemyakin I.G., Kozyr' A.V. [Modern approaches to the development of specific treatment of particularly dangerous toxicoinfections]. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk (RAMS Bulletin)*. 2015; 70(4):428–34. DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1408.
- Korzhenskova M.P., Berko A.I., Malyshev N.A. [Diagnostics and treatment of toxic diphtheria. Part 1. Early diagnostics of toxic diphtheria]. *Lechashchii Vrach*. 2009; 10:26–30.
- Korzhenskova M.P., Sviridov V.V., Berko A.I., Malyshev N.A., Gal'vidis I.A., Yakovleva I.V., Burkin M.A. [Diagnostics and treatment of toxic diphtheria. Part 2. High-dose antidiphtheric serum in treatment of toxic form of diphtheria]. *Lechashchii Vrach*. 2010; 6:63–7.
- Mel'tsin I.I., Nikitenko V.I., Afukov I.V., Kotlubayev R.S., Arestova S.V., Kurkin A.P., Kremin A.S., Sadykov N.G., Charukhov B.E., Pavlov V.A. [Clinical case of open fracture of both bones of forearm, complicated by anaerobic clostridial infection, gas gangrene of mixed form, in an 11-year-old child]. *Detskaya Khirurgiya*. 2014; 18(5):51–2.
- Mironov A.N., Bushmenkov D.S., Danilina T.V., Kolbasov S.E. [Study of acute toxicity and effect of the preparation "Serum against venom of common northern viper" on the systems and organs of laboratory animals]. *Sibirskii Meditsinskii Zhurnal*. 2010; 99(8):33–6.
- Perelygina O.V., Komarovskaya E.I., Mukhamina A.V., Sayapina L.V., Obukhov Yu.I., Bondarev V.P. [Heterologous serum preparations in modern medicine practice]. *Biopreparaty. Profilaktika. Diagnostika. Lechenie*. 2017; 17(1):41–7.
- [Prophylaxis of Anthrax]. Sanitary Regulations 3.1.7.2629-10. (Cited 14 May 2018). [Internet]. Available from: <http://www.garant.ru>
- Ryazanova A.G., Tsygankova O.I., Aksenova L.Yu., Varfolomeeva N.G., Golovinskaya T.M., Buravtseva N.P., Eremenko E.I., Kulichenko A.N. [Epidemiological and epizootiological situation on anthrax in 2014, forecast for 2015]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; 1:26–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-1-26-29.
- Shestakova I.V. [Anthrax does not forgive mistakes: assessment of the data obtained after the outbreak in Yamal, in summer 2016]. *Zhurnal Infekologii*. 2016; 8(3):5–27.
- Amimoto K., Ohgita T., Sasaki O., Oishi E., Katayama S., Isogai M. Protective effect of Clostridium septicum alpha-toxoid vaccine against challenge with spores in guinea pigs. *J. Vet. Med. Sci.* 2002; 64(1): 67–9. DOI: 10.1292/jvms.64.67.
- Begg N. Manual for the Management and Control of Diphtheria in the European Region. Expanded Programme on Immunization. (Cited 14 Feb 2018). [Internet]. Available from: <http://www.who.int/iris/handle/10665/108107>
- Both L., White J., Mandal S., Efstratiou A. Access to diphtheria antitoxin for therapy and diagnostics. *Euro Surveill*. 2014; 19(24):1–6.
- Cangen – BAT, Botulism Antitoxin Heptavalent (A, B, C, D, E, F, G) – (Equine), Sterile Solution for Injection: FDA. (Cited 14 Feb 2018). [Internet]. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/UCM345147.pdf>
- Casewell N.R., Cook D.A., Wagstaff S.C., Nasidi A., Durfa N., Wuster W., Harrison R.A. Pre-clinical assays predict pan-African Echis viper efficacy for a species-specific antivenom. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2010; 4(10):e851. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000851.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Notice to readers: availability of diphtheria antitoxin through an investigational new drug protocol. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 1997; 46(17):380. (Cited 14 Feb 2018). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00047446.htm>.
- Guidance document on use of medicinal products for the treatment and prophylaxis of biological agents that might be used as weapons of bioterrorism: EMA/ CPMP/4048/01/2014, rev.6. (Cited 14 Feb 2018). [Internet]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2010/01/WC500049399.pdf.
- Human Rabies Prevention. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. (Cited 14 May 2018). [Internet]. Available from: <http://www.cdc.gov/rabies/prevention/index.html>.
- Kasturiratne A., Wickremasinghe A.R., de Silva N., Gunawardena N.K., Pathmeswaran A., Premaratna R., Savioli L., Lalloo D.G., de Silva H.J. The global burden of snakebite: A literature analysis and modeling based on regional estimates of envenoming and deaths. *PLoS Med.* 2008; 5(11):e218. DOI: 10.1371/journal.pmed.0050218.
- Marsh J.C., Ball S.E., Cavenagh J., Darbyshire P., Dokal I., Gordon-Smith E.C., Keidan J., Laurie A., Martin A., Mercieca J., Killick S.B., Stewart R., Yin J.A. British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia. *Br. J. Haematol.* 2009; 147(1):43–70. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07842.x.
- Microorganisms in foods: microbiological testing in food safety management, usefulness of testing for clostridium botulinum in powdered infant formula and dairy-based ingredients for infant formula: ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2014. Dated: 17 January 2014 (revision 1). (Cited 14 Feb 2018). [Internet]. http://www.icmsf.org/wp-content/uploads/2018/02/ICMSF_Infant_Formula_Testing_Revision1-20140117.pdf.
- Ovine specific immunoglobulin (Fab) fragments raised against *Vipera berus* venom for the treatment of snakebite envenomation: Public summary of opinion on orphan designation: EMA/COMP/615279/2015. (Cited 14 Feb 2018). [Internet]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Orphan_designation/2015/11/WC500196610.pdf.
- Preventing Tetanus, Diphtheria, and Pertussis Among Adults: Use of Tetanus Toxoid, Reduced Diphtheria Toxoid and Acellular Pertussis Vaccine. *MMWR Recomm. Rep.* 2006; 55(RR-17):1–37. (Cited 14 May 2018). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5517a1.htm>.
- Requirements for the collection, processing and quality control of blood, blood components and plasma derivatives (Requirements for Biological Substances No. 27, revised 1992). WHO Technical Report Series. No. 840, 1994. P. 34–99. (Cited 14 May 2018). [Internet]. Available from: http://www.who.int/blood-products/publications/WHO_TRS_840_A2.pdf.
- Sanofi Pasteur Limited–Botulism Antitoxin Bivalent (Equine) Types A and B: FDA. (Cited 14 Feb 2018). [Internet]. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/LicensedProductsBLAs/FractionatedPlasmaProducts/UCM199550.pdf>.
- Schwartz R.S. Paul Ehrlich's magic bullets. *N. Engl. J. Med.* 2004; 350(11):1079–80. DOI: 10.1056/NEJMp048021.
- Stevens D.L., Tweten R., Awad M.M., Rood J.I., Bryant A.E. Clostridial gas gangrene: evidence that a and q toxins differentially modulate the immune response and induce acute tissue necrosis. *J. Infect. Dis.* 1997; 176:189–95.
- Use of Diphtheria Antitoxin (DAT) for Suspected Diphtheria Cases. Centers for Disease Control and Prevention Atlanta. Protocol-03/26/2014-Revised. (Cited 14 Feb 2018). [Internet]. Available from: <http://www.cdc.gov/diphtheria/downloads/protocol.pdf>.
- Wagner K.S., White J.M., Lucenko I., Mercer D., Crowcroft N.S., Neal S., Efstratiou A. Diphtheria Surveillance Network Diphtheria in the Postepidemic Period, Europe, 2000–2009. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(2):217–25. DOI: 10.3201/eid1802.110987.
- WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins. WHO Technical Report Series. No. 1004, 2017. P. 204–388. (Cited 20 Jun 2018) [Internet]. Available from: http://www.who.int/bloodproducts/AntivenomGLrevWHO_TRS_1004_web_Annex_5.pdf?ua=1.
- WHO Expert Committee on Biological Standardization / WHO technical reports series. 2003. (Cited 13 Feb 2018). [Internet]. Available from: http://www.who.int/biologicals/WHO_TRS_927.pdf.
- WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO technical reports series. 2017. (Cited 13 Feb 2018). [Internet]. Available from: http://www.who.int/biologicals/WHO_TRS_1004_web.pdf.
- Wolf A., Mazenot C., Spadoni S., Calvet F., Demoncheaux J.P. FAV-Africa: a polyvalent antivenom serum used in Africa and Europe. *Med. Trop. (Mars)*. 2011; 71(6):537–40.

Authors:

Sayapina L.V., Gavrilova N.A., Nikityuk N.F., Obukhov Yu.I., Bondarev V.P. Scientific Center on Expertise of Medical Application Products. 8, Petrovsky Bulvar, Moscow, 127051, Russian Federation. E-mail: Sayapina@expmed.ru.

Об авторах:

Саяпина Л.В., Гаврилова Н.А., Никитюк Н.Ф., Обухов Ю.И., Бондарев В.П. Научный центр экспертизы средств медицинского применения. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2. E-mail: Sayapina@expmed.ru.

Поступила 22.06.18.

Принята к публ. 28.06.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-46-49

УДК 616.98:579.842.23

С.Е. Гостищева, Н.В. Абзаева, Г.Ф. Иванова, Д.В. Ростовцева, Л.С. Катунина, А.А. Зуенко

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВАКЦИНЫ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ,
ПРИГОТОВЛЕННОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ
НА ОСНОВЕ ГИДРОЛИЗАТА КУКУРУЗНОГО ЭКСТРАКТА СГУЩЕННОГО

ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Цель исследования – апробация питательной среды на основе ферментативного гидролизата кукурузного экстракта сгущенного для масштабированного производства вакцины чумной живой, а также проверка качества полученных серий согласно регламентированным показателям. **Материалы и методы.** Для выращивания биомассы в процессе производства вакцины чумной живой использована плотная питательная среда на основе кукурузного экстракта. Параметры качества полученного вакцинного препарата изучались регламентированными методами, изложенными в нормативной документации. **Результаты и обсуждение.** Контроль вакцины осуществляли на всех этапах ее изготовления, включая контроль готовой лекарственной формы, в строгом соответствии с утвержденной нормативной документацией. Все полученные экспериментально-производственные серии соответствовали регламентированным показателям. Апробация среды в условиях производственного цикла получения вакцины чумной живой показала ее высокую продуктивность и возможность применения в промышленном выпуске препарата.

Ключевые слова: питательная среда, вакцина чумная живая, гидролизат кукурузного экстракта сгущенного

Корреспондирующий автор: Гостищева Светлана Евгеньевна, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Для цитирования: Гостищева С.Е., Абзаева Н.В., Иванова Г.Ф., Ростовцева Д.В., Катунина Л.С., Зуенко А.А. Оценка качества вакцины чумной живой, приготовленной с использованием питательной среды на основе гидролизата кукурузного экстракта сгущенного. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:46–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-46-49

S.E. Gostishcheva, N.V. Abzaeva, G.F. Ivanova, D.V. Rostovtseva, L.S. Katunina, A.A. Zuenko

Quality Assessment of the Live Plague Vaccine Prepared Using Nutrient Medium
on the Basis of Hydrolysate of Concentrated Corn Steep

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was to test the nutrient medium based on the enzymatic hydrolysate of corn extract condensed for a scaled production of live plague vaccine and to check the quality of the obtained batches against the specified parameters. **Materials and methods.** A dense nutrient medium based on corn extract was used to grow biomass in the process of live plague vaccine production. The quality parameters of the vaccine preparation obtained were studied by the regulated methods set forth in the regulatory documentation. **Results and conclusions.** The vaccine was monitored at all stages of its manufacture, including control of the finished dosage form, in strict accordance with the approved regulatory documentation. All the experimental production series complied with the specified indices. Approbation of the production cycle environment for live plague vaccine manufacturing showed efficiency of the conditions and the possibility of environment's application in the industrial production of the preparation.

Key words: nutrient media, live plague vaccine, hydrolysate of concentrated corn extract.

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

Corresponding author: Svetlana E. Gostishcheva, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Citation: Gostishcheva S.E., Abzaeva N.V., Ivanova G.F., Rostovtseva D.V., Katunina L.S., Zuenko A.A. Quality Assessment of the Live Plague Vaccine Prepared Using Nutrient Medium on the Basis of Hydrolysate of Concentrated Corn Steep. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:46–49. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-46-49

Received 25.06.18. Revised 11.09.18. Accepted 14.09.18.

С целью профилактики чумы в России применяют вакцину чумную живую [7, 8, 9], для производства которой в основном используют питательные среды с производными гидролизатов Хоттингера или казеина.

Тактика совершенствования биотехнологии производства вакцины чумной осуществляется в направлении дальнейшей стандартизации препарата и подбора полноценных питательных сред, имеющих низкую себестоимость, что является актуальным для

выполнения производственных задач [5].

По литературным данным, для выращивания вакцинного штамма разработаны различные питательные среды, основой которых являлись не мясные субстраты: соя, кровь животных, кукурузный экстракт, рыбкостная мука, кормовые дрожжи и др. [1, 3, 4, 6]. Главное требование к применяемой в производстве вакцины чумной питательной среде – максимальный выход жизнеспособной микробной массы, состоящей из популяции клеток, обладающих всеми типичными

свойствами, присущими исходной культуре.

В настоящее время в производстве вакцины чумной для накопления биомассы вакцинного штамма и на всех этапах контроля используется бульон и агар из мясного перевара по Хоттингеру. Основными недостатками традиционно используемых для производства вакцины питательных сред являются высокая себестоимость и недостаточная стандартность, обусловленные дороговизной и качеством используемого сырья животного происхождения, а также сложность технологического процесса его переработки, что указывает на целесообразность использования альтернативных сырьевых источников.

Ранее нами для разработки возможной замены дорогостоящих сортов говяжьего мяса, используемых при приготовлении питательных сред в производстве вакцины чумной, в качестве сырья использовался гидролизат кукурузного экстракта сгущенного [2].

Цель исследования – апробация питательной среды ГКЭС для масштабированного производства вакцины чумной живой и проверка качества полученных серий согласно регламентированным показателям.

Материалы и методы

В работе использован вакцинный штамм чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ.

Экспериментальной питательной средой для выращивания биомассы в процессе производства вакцины чумной живой являлась плотная питательная среда на основе ферментативного гидролизата кукурузного экстракта сгущенного (ГКЭС), включающая соль Мора и натрий сернистокислый.

Выращенную на экспериментальной питательной среде в аппарате для культивирования микроорганизмов Шестеренко (АКМ-Ш) (Технолог, Россия) биомассу смывали двукратно последовательно стабилизатором – средой высушивания. Из полученной взвеси вакцинного штамма готовили экспериментальные серии вакцины. После смыва с агара биомассу фасовали по 2 мл в ампулы и лиофилизировали на сублимационной установке LP-30 R (IIShin, Южная Корея).

Качество экспериментальных серий вакцины исследовано по основным показателям – жизнеспособность и термостабильность (бактериологический метод), потеря в массе при высушивании (весовой метод) и иммуногенность (биологический метод) согласно ФСП 42-8654-07.

Статистический анализ проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Изменения в биотехнологии производства вакцины чумной могут привести к изменению условий физиологического развития культуры, поэтому необходимо контролировать сохранение комплекса основных свойств препарата. Контроль вакцины осу-

ществляли на всех этапах ее изготовления, включая готовую лекарственную форму, в строгом соответствии с утвержденной нормативной документацией.

Сконструированная среда использовалась как накопительная для выращивания вакцины чумной аппаратным методом (АКМ-Ш) в производственных условиях. Из полученной биомассы вакцинного штамма отбирали пробы для определения оптической и биологической концентрации.

На данном производственном этапе среднее количество биомассы, полученной с 1 мл питательной среды, составило $(4,68 \pm 0,28)$ млрд м.к./мл, что сопоставимо с выходом при использовании агара Хоттингера, изготовленного из мясного сырья. Питательная среда считается пригодной для производства биомассы чумного микроба при показателе эффективности не менее 4 млрд м.к. с 1 мл среды (табл. 1).

На этапе розлива (фасовки) полуфабриката препарата вакцины чумной живой проверяются такие показатели, как процент живых микробных клеток в биомассе и оптический стандарт. Средний процент жизнеспособных клеток составил $(81,2 \pm 4,8)$ (табл. 2).

Разлитые по ампулам экспериментальные образцы замораживали и лиофилизировали по регламентированной методике. Получено восемь экспериментальных серий, проверенных на соответствие требованиям нормативной документации, а именно: чистота вакцины, оптическая и биологическая концентрация (жизнеспособность), термостабильность, потеря в массе при высушивании, безвредность, иммуногенность. При этом наблюдалось закономерное снижение оптической и биологической концентраций в сериях на каждом биотехнологическом этапе, особенно после лиофилизации. Основные показатели ка-

Таблица 1 / Table 1

Параметры качества биомассы вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV на этапе смыва

Characteristics of biomass quality of vaccine strain *Yersinia pestis* EV at the stage of wash-off

АКМ-Ш		Концентрация микробных клеток		Выход с 1 мл питательной среды, млрд м.к./мл
		Оптическая, млрд/мл	Биологическая (жизнеспособность), %	
Опыт 1	Смыв 1	110	96,7	5,2
	Смыв 2	25	82,0	
Опыт 2	Смыв 1	85	94,7	4,9
	Смыв 2	30	94,1	
Опыт 3	Смыв 1	60	96,2	4,0
	Смыв 2	50	103,0*	
Опыт 4	Смыв 1	90	78,8	4,3
	Смыв 2	50	61,0	
Опыт 5	Смыв 1	100	109,0*	5,0
	Смыв 2	25	84,9	
M±m		62,5±11,75	90,0±4,65	4,68±0,28

* значение показателя, превышающее 100 %, входит в 20 % допускаемой методом погрешности.

Таблица 2 / Table 2

Параметры качества экспериментальных серий вакцины чумной живой на этапе розлива

Quality characteristics of experimental batches of live plague vaccine at the stage of bottling

Серия	Концентрация микробных клеток		
	Оптическая, млрд/мл	Биологическая	
		%	млрд ж.м.к./мл
1	80	97,3	77,8
2	90	74,0	66,6
3	85	81,4	69,2
4	95	85,0	80,8
5	50	101,5	50,1
6	85	60,7	36,4
7	75	74,3	55,7
8	75	75,3	56,5
M±m	76,3±5,3	81,2±4,8	61,6±5,7

чества полученной вакцины представлены в табл. 3.

Готовая вакцина имела вид белой (кремовой) пористой массы, легко отделяющейся от стенок ампулы, и быстро растворялась в 0,9 % растворе натрия хлорида, образуя гомогенную взвесь.

Морфология бактерий в мазках из вакцины, а также посевы на плотных и жидких питательных средах типичны для чумного микроба. При этом на агаре через 48 ч инкубации при температуре (27±1) °C культура чумного микроба вырастала в виде колоний шероховатого типа с бугристым центром бурого цвета и «кружевной» периферией, средний размер колоний превышал 2 мм, данный показатель важен для питательных сред, на которых осуществляется подсчет жизнеспособных микробных клеток.

Все серии вакцины прошли контроль на специфическую стерильность. Потеря в массе при высушивании (остаточная влажность) в разных сериях

Таблица 3 / Table 3

Показатели качества полученных экспериментальных серий вакцины чумной живой

Quality characteristics of the obtained experimental series of live plague vaccine

Серия	Показатели качества			
	Оптическая концентрация, млрд/мл	Жизнеспособность, %	Термостабильность, сут	Потеря в массе при высушивании, %
1	75	68,2	13,5	1,3
2	80	36,3	5,8	0,2
3	78	26,1	10,6	0,8
4	90	45,0	13,3	0,7
5	50	46,1	9,2	1,7
6	80	27,6	22,0	1,2
7	70	26,7	9,7	1,3
8	70	30,4	4,5	0,8
M±m	74,1±4,1	39,0±5,3	39,0±5,3	1,1±0,1

вакцины колеблется в пределах 0,2–1,7 %, при норме не более 4,0 %. Жизнеспособность вакцины непосредственно после лиофилизации находилась в пределах, характерных для производственных серий (не менее 25 %).

Величина термостабильности также соответствовала регламентированным нормам во всех сериях – 10–15 сут (не менее 4 сут).

Проверка специфической безопасности полученных серий вакцины чумной живой была проведена на морских свинках. При подкожном введении вакцины в дозе 15 млрд м.к. на 6 сут видимых патологоанатомических изменений не выявлено, у всех подопытных животных отмечено образование инфильтратов, небольших кровоизлияний в месте введения вакцины, увеличение регионарных лимфатических узлов. У двух из восьми морских свинок наблюдалась ограниченная узелковая реакция в селезенке и печени. Ни одна из экспериментальных серий вакцины не вызывала гибели животного или потери веса больше, чем на 1/5, что свидетельствует о безопасности препарата.

Что касается иммуногенных свойств, то данный показатель регистрируется на весьма высоком уровне как на белых мышах, так и на морских свинках. Величина ED₅₀ для белых мышей составила 10647 ж.м.к., что не превышает регламентированную норму 4·10⁴ ж.м.к. Для морских свинок показатель ED₅₀ также был не более допустимого (1·10⁴) – 5593 ж.м.к.

Проанализированные данные позволяют сделать вывод о том, что вакцина чумная, приготовленная на питательной среде из ферментативного гидролизата кукурузного экстракта сгущенного, по всем исследованным свойствам (физические, культурально-морфологические, остаточная влажность, термостабильность, безвредность) идентична вакцине, приготовленной на основе гидролизата говяжьего мяса по Хоттингеру и соответствует требованиям нормативной документации.

Среда на основе ГКЭС дает возможность использовать одну партию гидролизата в производстве вакцины в течение одного года, что в свою очередь облегчает поддержание стандартности этапа производственного цикла.

Использование данной питательной среды при промышленном выпуске чумной вакцины взамен питательной среды из дорогостоящего и не всегда качественного мясного сырья позволит повысить стандартность и снизить себестоимость конечной продукции при сохранении ее качества.

В плане продолжения исследований – изучение долгосрочной стабильности серий, изготовленных с использованием экспериментальной питательной среды (ГКЭС), в течение срока годности (3 года).

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

Список литературы

1. Авдеева Н.Г., Дятлов И.А., Еремин С.А. Разработка технологии производства дрожжевых аутолизатов как основы конструирования питательных сред для чумного микроба и холерного вибриона. Деп. в ВИНТИ 10.04.00. № 925-B00. Саратов; 2000. 17 с.
2. Гостищева С.Е., Катунина Л.С., Курилова А.А., Абзаева Н.В., Ковтун Ю.С., Жаринова Н.В., Коняева О.А., Жилченко Е.Б., Куличенко А.Н. Применение плотной питательной среды на основе гидролизата кукурузного экстракта сгущенного в производстве вакцины чумной живой и для хранения штаммов чумного микроба. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:75–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-75-78.
3. Канчух А.А., Сагатовский В.Н., Сурнина Н.С., Мелехина А.Ф. Изучение живой противочумной вакцины, приготовленной на средах с кукурузным экстрактом. В кн.: Микробиология и иммунология особо опасных инфекций. Саратов; 1964. С. 131–7.
4. Курилова А.А., Таран Т.В., Катунина Л.С., Головнева С.И. Разработка питательных сред из растительного сырья для культивирования возбудителей особо опасных инфекций. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 3:66–8.
5. Федорова О.В., Понкратова С.А., Валева Р.Т., Исламгулов И.Р. Питательные среды в производстве медицинских и ветеринарных препаратов. *Вестник технологического университета*. 2017; 20(4):130–3.
6. Шепелин А.П., Дятлов И.А., Марчихина Е.Н., Миронова Е.Н. Разработка технологии приготовления панкреатического гидролизата рыбной муки – белковой основы бактериологических питательных сред. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011; 9:48–9.
7. Cui Y., Yang X., Xiao X., Anisimov A.P., Li D., Yan Y.1 Zhou D., Rajerison M., Carniel E., Achtman M., Yang R., Song Y. Genetic variations of live attenuated plague vaccine strains (*Yersinia pestis* EV76 lineage) during laboratory passages in different countries. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 26:172–9. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.05.023.
8. Verma S.K., Tuteja U. Plague Vaccine Development: Current Research and Future Trends. *Front. Immunol.* 2016; 7:602. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00602.
9. Wang X., Zhang X., Zhou D., Yang R. Live-attenuated *Yersinia pestis* vaccines. *Expert. Rev. Vaccines*. 2013; 12(6):677–86. DOI: 10.1586/erv.13.42.

References

1. Avdeeva N.G., Dyatlov I.A., Eremin S.A. [Development of the technology for yeast auto-lysate production as the basis for designing nutrient media for plague microbe and cholera vibrio]. Dep. with All-Union Institute of Scientific and Technical Information on April 10, 2000. No 925-B00. Saratov; 2000; 17 p.
2. Gostishcheva S.E., Katunina L.S., Kurilova A.A., Abzaeva N.V., Kovtun Yu.S., Zharinova N.V., Konyayeva O.A., Zhilchenko

E.B., Kulichenko A.N. [Usage of solid medium on the basis of corn-steep extract hydrolysate in manufacturing of live plague vaccine and for plague agent strain preservation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 1:75–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-75-78.

3. Kanchukh A.A., Sagatovsky V.N., Surnina N.S., Melekhina A.F. [Study of live anti-plague vaccine prepared on media with corn extract]. In: [Microbiology and Immunology of Particularly Dangerous Infections]. Saratov; 1964. P. 131–7.

4. Kurilova A.A., Taran T.V., Katunina L.S., Golovneva S.I. [Development of nutrient media out of vegetable material for culturing particularly dangerous infections agents]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2009; 3:66–8.

5. Fedorova O.V., Ponkratova S.A., Valeeva R.T., Islamgulov I.R. [Nutrient media in the production of medical and veterinary drugs]. *Vestnik Tekhnologicheskogo Universiteta* (Bulletin of the Technological University). 2017; 20(4):130–3.

6. Shepelin A.P., Dyatlov I.A., Marchikhina E.N., Mironova E.N. [Development of the technology for preparation of pancreatic hydrolysate of fishmeal – the protein basis of bacteriological nutrient media]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2011; 9:48–9.

7. Cui Y., Yang X., Xiao X., Anisimov A.P., Li D., Yan Y.1 Zhou D., Rajerison M., Carniel E., Achtman M., Yang R., Song Y. Genetic variations of live attenuated plague vaccine strains (*Yersinia pestis* EV76 lineage) during laboratory passages in different countries. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 26:172–9. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.05.023.

8. Verma S.K., Tuteja U. Plague Vaccine Development: Current Research and Future Trends. *Front. Immunol.* 2016; 7:602. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00602.

9. Wang X., Zhang X., Zhou D., Yang R. Live-attenuated *Yersinia pestis* vaccines. *Expert. Rev. Vaccines*. 2013; 12(6):677–86. DOI: 10.1586/erv.13.42.

Authors:

Gostishcheva S.E., Abzaeva N.V., Ivanova G.F., Rostovtseva D.V., Katunina L.S., Zuenko A.A. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Гостищева С.Е., Абзаева Н.В., Иванова Г.Ф., Ростовцева Д.В., Катунина Л.С., Зуенко А.А. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Поступила 25.06.18.

Отправлена на доработку 11.09.18.

Принята к публ. 14.09.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-50-53

УДК 616.98:579.842.23(479)

В.М. Дубянский¹, Е.В. Герасименко¹, Н.А. Давыдова¹, Г.П. Шкарлет¹, Г.А. Мозлов²,
В.А. Белогрудов², А.А. Власов², Н.В. Цапко¹, Л.И. Белявцева¹, Д.М. Бамматов³

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЦЕНТРАЛЬНО-КАВКАЗСКОГО ВЫСОКОГОРНОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ

¹ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Кабардино-Балкарская противочумная станция», Нальчик, Российская Федерация;

³ФКУЗ «Дагестанская противочумная станция», Махачкала, Российская Федерация

С момента открытия в 1971 и до 2007 года Центрально-Кавказский высокогорный природный очаг чумы характеризовался почти непрерывной эпизоотической активностью. Начиная с 2008 г. и вплоть до настоящего времени длится межэпизоотический период – из полевого материала не удается выделить штаммы возбудителя чумы. В связи с этим является актуальной задача прогнозирования активизации очага, особенно на фоне регистрации в Российской Федерации случаев заболевания человека чумой в 2014–2016 гг. **Цель** исследования – создать прогностическую модель для количественного прогноза возможной активизации очага или продолжения межэпизоотического периода. **Материалы и методы.** Использованы архивные данные ФКУЗ «Кабардино-Балкарская ПЧС»: журналы вскрытия грызунов, ежегодные отчеты об эпизоотологическом обследовании; метеорологические данные по метеостанции «Кисловодск» за 1989–2017 гг.; данные ФКУЗ «СтавНИПЧИ» за 2010–2017 гг. Для статистической обработки использованы методы непараметрического корреляционного анализа Спирмена, регрессионный анализ, в том числе метод главных компонент, квартильный анализ и непрерывная последовательная статистическая процедура распознавания. **Результаты и обсуждение.** Получена статистическая модель, позволяющая прогнозировать альтернативу: отсутствие или наличие активности очага чумы с упреждением один год, с вероятностью 99 % и выше. Модель проверена в течение семи лет на ретроспективном материале. Все предположения оказались верными. Оперативные прогнозы с 2015 по 2017 год также подтвердились. Однако не исключена возможность быстрого изменения условий существования экологической системы Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы из-за глобального изменения климата. В связи с этим прогностическая модель будет ежегодно проверяться на информативность используемых предикторов и, при необходимости, корректироваться.

Ключевые слова: чума, природный очаг, активность, прогноз.

Корреспондирующий автор: Дубянский Владимир Маркович, e-mail: dvmplae@gmail.ru.

Для цитирования: Дубянский В.М., Герасименко Е.В., Давыдова Н.А., Шкарлет Г.П., Мозлов Г.А., Белогрудов В.А., Власов А.А., Цапко Н.В., Белявцева Л.И., Бамматов Д.М. Прогнозирование эпизоотической активности Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:50–53. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-50-53

V.M. Dubyansky¹, E.V. Gerasimenko¹, N.A. Davydova¹, G.P. Shkarlet¹, G.A. Mozlov²,
V.A. Belogrudov², A.A. Vlasov², N.V. Tsapko¹, L.I. Belyavtseva¹, D.M. Bammatov³

Forecasting of Epizootic Activity of the Central Caucasian Natural High-Mountain Plague Focus

¹Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation, ²Kabardino-Balkar Plague Control Station, Nal'chik, Russian Federation; ³Dagestan Plague Control Station, Makhachkala, Russian Federation

Abstract. Central-Caucasian natural plague focus was permanently epizootically active since its discovering in 1971 till 2007. Inter-epizootic period has been in progress since 2008. It was not possible to isolate agent strains from field material. Therefore a forecast for focus activation is a relevant task, especially against the background of registered plague cases in humans in 2014–2016. **Objective** of the study was to create a forecasting model for quantitative prediction of possible activation or maintenance of inter-epizootic period. **Materials and methods.** We used archival data of Kabardino-Balkar Plague Control Station: journals of rodents' autopsy, annual reports on epizootiological surveillance, meteorological data from meteorostation "Kislovodsk" over the period of 1989–2017, and our epidemiological data for the period 2010 to 2017. We applied Spearman nonparametric correlation analysis, regression analysis, including principal component method, quarterly analysis, and inhomogeneous sequential pattern recognition procedures for statistical processing. **Results and discussion.** We have designed statistical model which provides for forecasting of plague focus epizootic activity proactively, a year in advance and 99 % probability or higher. The model was tested on retrospective data over the course of 7 years. All predictions were correct. The operational forecasts from 2015 to 2017 proved right too. However there is a possibility of fast changes in the ecology system conditions of the Central-Caucasian natural plague focus because of the global warming. Thereby the forecasting model will be annually checked for informative value of the predictors and, if necessary, adjusted accordingly.

Key words: plague, natural focus, activity, forecasting

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

Corresponding author: Vladimir M. Dubyansky, e-mail: dvmplae@gmail.ru.

Citation: Dubynsky V.M., Gerasimenko E.V., Davydova N.A., Shkarlet G.P., Mozlov G.A., Belogradov V.A., Vlasov A.A., Tsapko N.V., Belyavtseva L.I., Bamatov D.M. Forecasting of Epizootic Activity of the Central Caucasian Natural High-Mountain Plague Focus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:50–53. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-50-53

Received 20.06.18. Revised 14.08.18. Accepted 15.08.18.

С момента открытия в 1971 и до 2004 года Центрально-Кавказский высокогорный природный очаг чумы характеризовался непрерывной эпизоотической активностью. В 2005 г. впервые не выделено ни одного штамма чумы, в 2006–2007 гг. очаг вновь активизировался. Начиная с 2008 г. вплоть до настоящего времени длится межэпизоотический период – из полевого материала не удается выделить штаммы возбудителя чумы.

Считается, что очаг имеет высокий эпидемический потенциал. Очаговая территория совпадает с районами интенсивного развития рекреационных зон. Здесь располагаются многочисленные туристические базы и лагеря. Кроме того, в летние месяцы сюда прибывают многочисленные группы неорганизованных туристов. Маршруты туристических групп часто проходят через поселения горного суслика (*Spermophilus musicus* Menetries, 1832, *Rodentia*, *Sciuridae*), то есть через энзоотичную по чуме территорию. За границами очага, в непосредственной близости от него, располагаются крупные курортные города Кавказских минеральных вод: Кисловодск, Ессентуки, Пятигорск и Железноводск. Значительная часть отдыхающих в санаториях посещает территорию очага с краткосрочными экскурсиями. Опасность представляет не только сам факт заражения человека чумой, но и возможность ее выноса за пределы очага больным в инкубационном периоде. Учитывая современные возможности транспорта, больной может оказаться в любом, в том числе и не энзоотичном по чуме регионе страны, где диагностика заболевания затруднена.

В связи с этим актуальной является задача прогнозирования активизации очага, особенно на фоне регистрации в Российской Федерации случаев заболевания человека чумой в 2014–2016 гг. [3, 4].

Цель исследования – создать модель для количественного прогноза возможной активизации очага или продолжения межэпизоотического периода.

Материалы и методы

Использованы архивные данные ФКУЗ «Кабардино-Балкарская ПЧС»: журналы вскрытия грызунов и ежегодные отчеты об эпизоотологическом обследовании за 1989–2017 гг.; данные ФКУЗ «СтавНИПЧИ» за 2010–2017 гг.; метеорологические данные по метеостанции «Кисловодск» за этот же период получены из интернет-источников <http://meteo.ru/> и <http://www.pogodaiklimat.ru/monitor.php>.

Для статистической обработки использованы методы непараметрического корреляционного анализа Спирмена и регрессионный анализ, в том числе метод главных компонент, квартильный анализ и непрерывная последовательная статистическая проце-

дура распознавания [1, 2]. Использовался пакет статистических программ Past (<http://folk.uio.no/ohammer/past/>), пакет анализа Microsoft Excel и программное обеспечение, разработанное В.М.Дубянским.

Эпизоотическая активность очага измерялась в количестве «зараженных» секторов, то есть секторов, в которых бактериологически подтверждалась циркуляция микроба чумы. Обоснованность этого показателя приведена Н.В.Поповым и соавт. [4]. Мы не использовали данные о носителях с антителами к микробу чумы в связи с неоднозначностью трактовки результатов серологических исследований для этого очага, особенно в последние годы.

Всего использовано 10 экологических факторов, включающих 74 показателя. Три биотических фактора включали 12 показателей: численность горных сусликов (*Spermophilus musicus*, Menetries, 1832) на 1 га по очагу в среднем; численность горных сусликов в Баксано-Чегемском, Верхне-Кубанском, Кубано-Малкинском и Малко-Баксанском эпизоотических участках; процент взрослых самок от всей популяции; процент взрослых самцов от всей популяции; процент молодых самок от всей популяции; процент молодых зверьков от всей популяции; численность блох на 1 га в очаге в целом; численность блох в гнезде горного суслика; индекс обилия блох на зверьках.

Семь абиотических факторов включали 64 показателя: среднемесячная температура воздуха, сумма осадков за месяц, среднемесячное атмосферное давление, количество часов солнечного сияния за месяц, отношение температуры к осадкам (среднемесячные), гидротермический коэффициент (ГТК) Селянинова за 12 месяцев, солнечная активность, выраженная числами Вольфа-Вольфера по годам, годовая сумма температур, годовая сумма осадков.

Группа обучения включала данные с 1989 по 2014 год. Проверочная группа – 2015–2017 гг.

Результаты и обсуждение

Учитывая, что распределение изучаемых временных рядов значительно отличается от нормального, для первоначального анализа мы использовали непараметрический корреляционный анализ Спирмена. Достоверную ($p \leq 0,05$) корреляцию с «зараженностью» секторов показали: численность горных сусликов на Кубано-Малкинском участке – 0,69, Баксано-Чегемском – 0,66, по очагу в среднем – 0,61, солнечная активность – 0,49, Малко-Баксанском участке – 0,46, осадки в марте – -0,44, температура в мае – -0,39, декабре – 0,37, количество часов солнечного сияния в марте – 0,37.

Относительно низкие показатели коэффициентов корреляции не позволяют использовать в полной мере регрессионный анализ, в том числе метод

главных компонент. Главные факторы обеспечивают только 52,5 % общей дисперсии и, в основном, относятся к показателям численности горного суслика. Связь показателей с количеством «зараженных» секторов в очаге нелинейная, что также ограничивает применение стандартных статистических процедур. Наилучшие результаты показало применение непрерывной последовательной статистической процедуры распознавания (НПСР), которая широко использовалась для прогнозирования эпизоотической активности различных частей Среднеазиатского природного пустынного очага чумы [2]. Результаты получены в виде табличной статистической модели, в которой рассчитана важность каждого экологического показателя для экосистемы очага в целом в безразмерной величине (информативность Кульбака), и диапазоны значений каждого показателя с количественной оценкой его возможного влияния на эпизоотическую активность в каждый конкретный год в безразмерной величине (прогностический коэффициент). Модель построена для распознавания альтернативы: наличие или отсутствие хотя бы одного сектора первичного района, в котором эпизоотия подтверждена бактериологически. Модель выполнена в виде таблицы. Для экономии места в публикации мы вынесли ее на интернет-страницу https://www.researchgate.net/publication/323773279_Prognosticeskaa_tablica_nalicia_ili_otsutstvija_hota_by_odnogo_sektora_pervicnogo_rajona. Уровень ошибки диагноза выбран 0,01.

Из 74 доступных нам экологических показателей, информативных относительно будущего состояния очага, по выбранной альтернативе оказалось 23. Из них восемь биотических и 15 абиотических (табл. 1); показатели (предикторы) перечислены в порядке убывания их информативности.

Согласно порядку расчета модели, серии данных разделяются на шесть диапазонов. Соответственно, при использовании серий многолетних данных, желательно, чтобы обучающая группа включала не менее 18 лет (при равновероятном распределении хотя бы по три значения на диапазон). Исходя из этого условия, предварительная проверка прогнозов сделана с 2008 по 2014 год по ретроспективным данным, а с 2015 по 2017 год даны оперативные прогнозы. Результаты ретроспективного и оперативного прогнозирования представлены в табл. 2.

Мы сделали три оперативных прогноза с вероятностью исполнения не менее 99 %, каждый из них оказался верным. Как указывают М.А. Дубянский и соавт. [2], успешный прогноз три раза подряд означает, что выбранный набор факторов действительно дает неслучайный результат с вероятностью 0,93. Таким образом, созданная нами модель позволяет успешно прогнозировать наличие или отсутствие регистрируемой эпизоотической активности в очаге. Расчетная вероятность того, что используемая модель неверная – 7 %. Каждый следующий подтверждающийся прогноз будет уменьшать вероятность ошибочности модели, соответственно, не подтвер-

Таблица 1 / Table 1

Экологические показатели, используемые в качестве предикторов для создания прогностической модели

Ecological factors used as predictors for forecasting model designing

Наименование показателя	Информативность
Процент взрослых самок в популяции	1,81
Численность горных сусликов на га на Верхне-Кубанском участке	1,32
Численность горных сусликов на га на Баксано-Черекском участке	1,29
Численность горных сусликов на га в целом по очагу	1,08
Среднемесячное атмосферное давление в феврале	1,03
Отношение температуры к осадкам в октябре	0,91
Число часов солнечного сияния в феврале	0,84
Число блох на га	0,83
Среднемесячная температура воздуха в мае	0,82
Солнечная активность (числа Вольфа–Вольфера)	0,71
Сумма осадков в июне	0,69
Среднемесячное атмосферное давление в марте	0,69
Численность горных сусликов на га на Кубано-Малкинском участке	0,64
Численность блох в гнезде горного суслика	0,62
Численность горных сусликов на га в Малко-Баксанском участке	0,62
Среднемесячная температура воздуха в июне	0,62
Среднемесячное атмосферное давление в мае	0,61
Среднемесячная температура воздуха в январе	0,61
Число часов солнечного сияния в июне	0,59
Сумма осадков в июле	0,56
Число часов солнечного сияния в сентябре	0,55
Сумма осадков в марте	0,53
Среднемесячное атмосферное давление в январе	0,51

дившийся – увеличивать.

Применяя НПСР, мы получили статистическую модель, позволяющую прогнозировать альтернативу – отсутствие или наличие активности очага чумы. Группа обучения модели включала оба состояния очага, то есть эпизоотический период в течение 19 лет, а межэпизоотический – 7 лет. Учитывая,

Таблица 2 / Table 2

Краткосрочный прогноз наличия или отсутствия хотя бы одного сектора первичного района, в котором эпизоотия подтверждена бактериологически

Short-term projection of the presence or absence of at least one sector of the primary region where epizooty was confirmed using bacteriological method

Год	Прогноз эпизоотии	Вероятность исполнения	Проверка прогноза
2008	Не регистрируется	99,9	Верный
2009	Не регистрируется	99,9	Верный
2010	Не регистрируется	99,9	Верный
2011	Не регистрируется	99,7	Верный
2012	Не регистрируется	99,9	Верный
2013	Не регистрируется	99,9	Верный
2014	Не регистрируется	99,9	Верный
2015*	Не регистрируется	99,8	Верный
2016*	Не регистрируется	99,9	Верный

*оперативные прогнозы

что, в основном, распознавание эпизоотического и неэпизоотического состояний очага было успешным с вероятностью 99 % и выше, мы считаем, что выявлен достаточный набор факторов обуславливающих эпизоотическую активность Центрально-Кавказского природного очага чумы. Модель может использоваться для прогнозирования наличия или отсутствия эпизоотической активности в очаге.

Вместе с тем, факт того, что в отдельные годы, в которые для распознавания был использован весь значимый набор экологических показателей, но, при этом, вероятность правильного исхода не поднялась выше 0,99 (ошибка прогноза 0,01), указывает на необходимость поиска дополнительных экологических факторов и показателей. Не исключена возможность быстрого изменения экологической системы Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы в связи с глобальным изменением климата и перестройки эпизоотической системы под новые климатические и биоценоотические условия. В этих случаях возможна ошибка прогноза. В связи с этим прогностическая модель будет ежегодно проверяться на информативность используемых предикторов и, при необходимости, корректироваться.

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

Список литературы

1. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Ленинград: Медицина, Ленинградское отделение; 1978. 296 с.
2. Дубянский М.А., Кенжебаев А., Степанов В.М., Асенов Г.А., Дубянская Л.Д. Прогнозирование эпизоотической активности чумы в Приаралье и Кызылкумах. Нукус: Каракалпакстан; 1992. 240 с.
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. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 1. Эпидемиологические и эпизоотологические особенности проявления чумы в Горно-Алтайском высокогорном (Сайлюгемском) природном очаге чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; 4:9–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16.
4. 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., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2015 г. и прогноз на 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 1:13–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-13-16.

References

1. Gubler E.V. [Computational Methods of Analysis and Recognition of Pathological Processes]. Leningrad: "Meditsina"; 1978. 296 p.
2. Dubyansky M.A., Kenzhebaev A., Stepanov V.M., Asenov G.A., Dubyanskaya L.D. [Prediction of Epizootic Activity of Plague in Aral Sea region and Kyzylkum]. Nukus: Karakalpakstan; 1992. 240 p.
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 epizootiological peculiarities of plague manifestations in the Gorno-Altai high-mountain (Sailyugemsky) natural plague focus]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2014; 4:9–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16.
4. 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; 1:13–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-13-16.

Authors:

Dubyansky V.M., Gerasimenko E.V., Davydova N.A., Shkarlet G.P., Tsapko N.V., Belyavtseva L.I. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Mozloev G.A., Belogrudov V.A., Vlasov A.A. Kabardino-Balkar Plague Control Station. 35, Baysultanova St., Nal'chik, 360017, Russian Federation. Bammatorov D.M. Dagestan Plague Control Station. 13, 5-th Zhilgorodok, Makhachkala, 367015, Russian Federation.

Об авторах:

Дубянский В.М., Герасименко Е.В., Давыдова Н.А., Шкарлет Г.П., Цапко Н.В., Белявцева Л.И. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Мозлов Г.А., Белогрудов В.А., Власов А.А. Кабардино-Балкарская противочумная станция. Российская Федерация, 360017, г. Нальчик, ул. Байсултанова, 35.

Бамматов Д.М. Дагестанская противочумная станция. Российская Федерация, 367015, г. Махачкала, 5-й Жилгородок, 13.

Поступила 20.06.18.

Отправлена на доработку 14.08.18.

Принята к публ. 15.08.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-54-59

УДК 616.98:579.852.11(571.1/6)

Е.В. Кравец, З.Ф. Дугаржапова, В.Е. Такайшвили, Т.А. Иванова, М.В. Чеснокова, С.В. Балахонов

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ *BACILLUS ANTHRACIS*, ИЗОЛИРОВАННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА (1959–2013 гг.)*ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация*

Цель работы – изучение биологических и молекулярно-генетических свойств культур *Bacillus anthracis*, выделенных на курируемой территории Сибири и Дальнего Востока с 1959 по 2013 год. **Материалы и методы.** В исследование отобрано 39 музейных штаммов *B. anthracis*, изолированных из материалов различного происхождения в 11 субъектах Сибири и Дальнего Востока во время эпизоотических и эпидемических осложнений по сибирской язве и мониторинга почвенных очагов. Штаммы изучены по 16 культурально-морфологическим и 23 биохимическим тестам, вирулентности, плазмидному составу, 15 вариабельным VNTR- и 13 SNP-локусам. **Результаты и обсуждение.** Показана фенотипическая неоднородность и значительная генотипическая гетерогенность популяции штаммов сибиреязвенного микроба на курируемой территории. Типичными культурально-морфологическими и биохимическими свойствами обладают 87,2 % изолятов. По результатам молекулярно-генетического типирования выявлено 20 VNTR-профилей и три канонических SNP кластера, которые отнесены к двум глобальным генетическим линиям А и В. Полученные результаты могут служить в качестве генетического маркера при расследовании случаев сибирской язвы, возможных актов биотерроризма и оценке эпизоотической активности СНП на определенной административной территории. На основе систематизации и анализа сведений о происхождении, биологических и молекулярно-генетических свойств штаммов создана база данных «Биологические свойства штаммов *Bacillus anthracis*, изолированных на территории Сибири и Дальнего Востока», а также получено свидетельство о государственной регистрации. Структура базы данных пополняема и может быть расширена по результатам применения новых технологий и методов.

Ключевые слова: сибирская язва, *Bacillus anthracis*, Сибирь, Дальний Восток, биологические свойства, молекулярно-генетические свойства.

Корреспондирующий автор: Кравец Елена Владимировна, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Для цитирования: Кравец Е.В., Дугаржапова З.Ф., Такайшвили В.Е., Иванова Т.А., Чеснокова М.В., Балахонов С.В. Изучение биологических и молекулярно-генетических свойств штаммов *Bacillus anthracis*, изолированных на территории Сибири и Дальнего Востока (1959–2013 гг.). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:54–59. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-54-59

E.V. Kravets, Z.F. Dugarzhapova, V.E. Takaishvili, T.A. Ivanova, M.V. Chesnokova, S.V. Balakhonov

Biological and Molecular-Genetic Properties of *Bacillus anthracis* Strains Isolated in Siberia and Far East Regions (1959–2013)*Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation*

Abstract. Objective – study of biological and molecular-genetic properties of *Bacillus anthracis* cultures isolated in the supervised Siberian and Far Eastern territory between 1959 and 2013. **Materials and methods.** 39 *B. anthracis* strains isolated from different specimens in 11 Siberian and Far Eastern constituent entities during epizootic and epidemic complications in terms of anthrax and monitoring of the soil foci were studied. The strains were examined using 16 cultural-morphological and 23 biochemical tests, for virulence, plasmid content, 15 VNTR- and 13 SNP-loci. **Results and conclusions.** Phenotypic and considerable genotypic heterogeneity of *B. anthracis* strains found in the supervised territory was demonstrated. It was determined that 87,2 % of the isolates possessed typical cultural-morphological and biochemical properties. Twenty VNTR-profiles and three canonical SNP-clusters belonging to two global genetic branches A and B were revealed by means of molecular-genetic typing. The data can serve as a genetic marker in the investigation of anthrax cases, potential bioterrorist acts and evaluation of epizootic activity of stationary hazardous as regards anthrax areas in the specified administrative territory. The database «Biological properties of *Bacillus anthracis* strains isolated in Siberia and Far East» was generated on the basis of systematization and analysis of the data concerning the origin, biological, molecular-genetic properties of the isolates. The Certificate of State Registration was also received. The database structure is replenishable and can be expanded if new technologies and methods are applied.

Key words: anthrax, *Bacillus anthracis*, Siberia, Far East, biological properties, molecular-genetic features.

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

Corresponding author: Elena V. Kravets, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Citation: Kravets E.V., Dugarzhapova Z.F., Takaishvili V.E., Ivanova T.A., Chesnokova M.V., Balakhonov S.V. Biological and Molecular-Genetic Properties of *Bacillus anthracis* Strains Isolated in Siberia and Far East Regions (1959–2013). *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:54–59. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-54-59

Received 12.04.18. Revised 18.05.18. Accepted 03.07.18.

Сибирская язва встречается во многих странах мира. Источником инфицирования людей обычно являются больные и павшие сельскохозяйственные животные (СХЖ) [8]. Основными факторами передачи сибиреязвенного микроба служат материалы животного происхождения – мясо, мясопродукты вынужденного убоя и трупы животных.

Болезнь на территории Сибири имеет давнюю историю. За период 1860–1967 гг. только в Восточной Сибири насчитывалось 1486 стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов (СНП). В статистических материалах «Состояние народного здоровья и организация медицинской помощи в СССР за 1921–1933 гг.» в Восточно-Сибирском регионе зарегистрировано 13769 случаев заболевания СХЖ и 228 – среди людей. В 1943–1967 гг. число заболевших животных снизилось в 2,4 раза (5640 голов), а людей возросло в 2,0 (454 человека). За 1985–2017 гг. зафиксировано 3303 случая сибирской язвы среди непривитых СХЖ в 132 СНП 12-ти субъектов Сибири и Дальнего Востока и 120 случаев заболевания людей в 35 СНП восьми субъектов этих же регионов страны [3]. Крупнейшая эпизоотия сибирской язвы среди оленей (2650 голов), повлекшая заболевания людей (36 чел.), произошла в 2016 г. на Ямале [7]. Вспышки и спорадические случаи болезни подтверждены выделением возбудителя – *Bacillus anthracis*.

В мировой практике также известно применение сибиреязвенного микроба в качестве оружия биотерроризма. Разработка и внедрение молекулярно-генетического типирования в лабораторную диагностику сибирской язвы позволили установить происхождение и источник распространения спор штамма сибиреязвенного микроба в 2001 г. при почтовых рассылках в США [10].

Таким образом, одним из актуальных направлений в эпидемиологическом надзоре за сибирской язвой в РФ является сбор и систематизация данных по биологическим и молекулярно-генетическим свойствам штаммов *B. anthracis* различных регионов с комплексной характеристикой изолируемых культур.

Цель работы – изучение биологических и молекулярно-генетических свойств культур *B. anthracis*, выделенных на курируемой территории Сибири и Дальнего Востока с 1959 по 2013 год.

Материалы и методы

В исследование взято 39 музейных штаммов *B. anthracis*, изолированных из клинического материала больных, продуктов животного происхождения и объектов окружающей среды во время вспышек, спорадических случаев сибирской язвы, мониторинга состояния СНП и сибиреязвенных захоронений в период с 1959 по 2013 год на территории 11 субъектов Сибири и Дальнего Востока (таблица). Обновлено и оформлены паспорта изученных штаммов.

Биологические свойства штаммов сибиреяз-

венного микроба изучали в соответствии с требованиями МУК 4.2.2413-08 «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы» и МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». При работе с лабораторными животными руководствовались приложением к приказу № 755 МЗ СССР от 12.08.1977 г. «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», Приказом № 708н от 23.08.2010 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики» (утратил силу в 2016 г.) и Приказом № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

Для VNTR-анализа использовалось 15 локусов тандемных повторов в геноме *B. anthracis* [11, 14]: *vrrA*, *vrkB1*, *vrkB2*, *vrnC1*, *vrnC2*, *CG3*, *pX01aat*, *pX02at*, *VNTR12*, *VNTR16*, *VNTR17*, *VNTR19*, *VNTR23*, *VNTR32* и *VNTR35*. Размер полученных ампликонов определяли методом капиллярного электрофореза на ДНК-анализаторе ABI Prism® 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США; Hitachi, Япония) путем сравнения с маркером молекулярного веса GeneScan™ 500 LIZ™ Size Standard (кат. № 4322682 Applied Biosystems, США). В SNP-анализе изучали 13 ранее описанных однонуклеотидных полиморфизмов (SNP-локусов) [14], условно обозначенных как ABr001, ABr002, ABr003, ABr004, ABr006, ABr007, ABr008, ABr009, BBr001, BBr002, BBr003, BBr004 и ABBR001. Детекцию однонуклеотидных полиморфизмов осуществляли методом прямого секвенирования при помощи набора SNaPshot Multiplex Kit (кат. № 4323159, Applied Biosystems, США) в соответствии с инструкцией по применению. Регистрацию ампликонов проводили на масс-спектрометре Microflex™ LT MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight, MALDI-ToF) (BrukerDaltonics, Германия).

Результаты и обсуждение

Изученные штаммы *B. anthracis* выделены из 14 проб объектов окружающей среды (почва – 13, экскременты лисицы – 1), 11 проб клинического материала больных и патологического материала умерших людей (карбункул – 4, кровь – 3, смыв с кожи – 2, по одной – рвотные массы и проба печени трупа), 14 проб материала от животных (мясо КРС – 8, материалы от больных и павших животных – 6: по три от крупного и мелкого рогатого скота). Наибольшее количество исследованных штаммов (30,7 %) изолированы на территории Республики Бурятия (РБ) с 2004 по 2009 год, что обусловлено выраженным эпизоотолого-эпидемиологическим неблагополучием республики, спорадическими случаями и вспышками сибирской язвы в 1999–2008 гг.

Способность спор сибиреязвенного микроба длительное время сохраняться в окружающей среде

Штаммы *B. anthracis*, выделенные на территории Сибири и Дальнего Востока 1959–2013 гг.*B. anthracis* strains isolated in the territory of Siberia and Far East between 1959 and 2013

№ штамма	Год выделения	Материал (объект) выделения	Место выделения
И-9	1959	Содержимое карбункула человека	Тувинская АССР, г. Кызыл
И-19	1959	Труп коровы	Читинская область, Борзинский район, с. Кайластуй
И-23	1959	Кожа барана	Читинская область, Борзинский район, к-з «Красный Великан»
И-25	1959	Ухо павшей телки	Читинская область, Борзинский район, база «Аршантуй», скотоимпорт
И-29	1961	Содержимое карбункула человека	Горно-Алтайская АО, Элекмонарский район, с. Чепош
И-34	1965	Кожа трупа человека	Хабаровский край, Вяземский район, с. Лермонтовка
И-35		Кровь человека	
И-36		Рвотные массы человека	
И-45	1966	Почва места падежа СХЖ	Тувинская АССР, Эрзинский район, окрестности озера Торе-Холь
И-47	1966	Экскременты лисицы	
И-63	1967	Почва скотомогильника	Красноярский край, Краснотуранский район, с. Байкалово
И-217	1981	Содержимое карбункула человека	Тюменская область, г. Тобольск, Тобольская биофабрика
И-271	1980	Почва с места стоянки стада оленей	Якутская АССР, Жиганский район, стоянка на р. Муна
И-274	1977	Содержимое карбункула человека	Приморский край, Яковлевский район, с. Ново-Сысоевка
И-275	1979	Печень трупа человека	Приморский край, Кавалеровский район, с. Устиновка
И-319	1983	Кровь человека	Омская область, г. Омск
И-321		Смыв с мяса	
И-323		Мясо	
И-356	2004	Почва силосной ямы	Р. Бурятия, Кяхтинский район, урочище Гуджертуй
И-357	2006	Почва пастбища	Р. Бурятия, Кяхтинский район, пастбище СНП Гуджертуй
И-358	2006	Почва	
И-359	2006	Почва	
И-360	2006	Смыв с кожи больного	Алтайский край, Краснощековский район, с. Маралиха
И-361	2007	Мясо КРС	Р. Бурятия, Тункинский район, п. Кырен
И-362	2008	Мясо КРС	Р. Бурятия, Баргузинский район, заимка Тогсохо
И-363		Биопроба мяса	
И-364		Ухо павшей овцы	
И-365		Ноздря павшей овцы	
И-366		Почва	
И-367	2008	Почва скотомогильника	Р. Бурятия, Кяхтинский район, СНП Гуджертуй
И-374	2009	Почва	Р. Бурятия, Баргузинский район, заимка Тогсохо
И-368	2010	Кровь человека	Омская область, Тюкалинский район, с. Павловка
И-369	2012	Почва с места выпаса КРС	Алтайский край, Быстроистокский район, с. Быстрый Исток
И-370	2012	Почва с подворья	Алтайский край, Целинный район, с. Дружба
И-371	2012	Биопроба мяса	Алтайский край, Быстроистокский район, с. Быстрый Исток
И-372		Мясо КРС	
И-373		Мясо КРС	
И-375	2013	Почва предполагаемого сибирезвённого захоронения	Приморский край, Ханкайский район, с. Астраханка

подтверждена обнаружением культуры *B. anthracis* в пробах почвенных очагов сибирской язвы трех субъектов Сибири и Дальнего Востока. В Республике Бурятия в течение пяти лет возбудитель сибирской язвы выделяли из почвы урочища Гуджертуй Кяхтинского района, после эпизоотии с эпидемическими осложнениями, произошедшей в 1999 г. [2]. Из почвы скотомогильника, перенесенного из зоны затопления ложа водохранилища Красноярской ГЭС, изолирована культура *B. anthracis* (И-63), которая сохранила свои биологические свойства в пес-

чаной материнской породе даже спустя 19 лет после вспышки, зарегистрированной в 1947 г. Изучение данного штамма в 2017 г. показало, что его вирулентность для белых мышей ($LD_{50}=26,27$) за 70 лет не изменилась [3]. В Приморском крае из пробы почвы предполагаемого сибирезвённого захоронения СНП Астраханка выделен авирулентный штамм с атипичными свойствами (И-375).

В материалах животного происхождения культуры *B. anthracis* выделяли как бактериологическим методом, так и через биопробу. Метод биопробы

позволяет восстановить основные биологические свойства возбудителя сибирской язвы и провести достоверную идентификацию выделенной культуры. Например, во время эпизоотии 2012 г. в с. Быстрый Исток Быстроистокского района Алтайского края из пробы мяса вынужденно забитого бычка путем прямого посева методом отпечатков на агар Хоттингера и заражением биопробных белых мышей взвесью нативного материала выделены две субкультуры *B. anthracis*. По результатам трех экспресс-методов индикации и десяти основных идентификационных бактериологических тестов лабораторной диагностики, выделенный путем прямого посева штамм (И-372) не имел генов, локализованных в составе обеих плазмид вирулентности (pXO1-/pXO2-), обладал неспецифическим свечением при люминесцентной микроскопии (++) и нехарактерными морфологическими и культуральными свойствами. У штамма, выделенного биопробным методом (И-373), отмечались типичные культурально-морфологические свойства и классический плазмидный набор.

Предполагаемыми причинами вышеизложенного может являться низкая эффективность амплификации генов-мишеней из-за большого количества ингибиторов полимеразной цепной реакции (ПЦР) в исследуемом материале (белковый фон, сопутствующая микрофлора, автолиз мяса в процессе длительной транспортировки и т.п.).

Атипичными культурально-морфологическими и молекулярно-генетическими свойствами обладают пять штаммов: И-275, И-323, И-369, И-370, И-375. Все атипичные штаммы объединяет нетипичный рост на плотной (сглаженная «львиная грива») и жидкой (мутный бульон, без выраженного осадка в виде «комочка ваты») питательных средах, недостаточный (со вторичным ростом в зоне воздействия) лизис видоспецифичным бактериофагом («Гамма А-26»), переменная биохимическая активность, отсутствие капсулы *in vivo* и *in vitro*, а также отсутствие патогенности для белых мышей и морских свинок, отрицательный результат ПЦР на наличие генов плазмид вирулентности.

Остальные 34 штамма демонстрируют типичные для сибиреязвенного микроба свойства с незначительными вариациями – некоторые свежeweделенные почвенные изоляты кроме осадка в виде «комочка ваты» дают помутнение при росте в бульоне Хоттингера, на плотной среде диссоциируют и проявляют переменные культуральные признаки (например, наличие лецитиназной или гемолитической активности, отсутствие пенициллиназной активности). Биохимическая активность большинства штаммов практически одинакова и типична.

По плазмидному профилю подавляющее большинство штаммов (76,9 %) содержат гены обеих плазмид вирулентности (pXO1+/pXO2+), четыре штамма – И-25, И-47, И-217, И-356 – только плазмиды токсинообразования (pXO1+/pXO2-), пять бесплазмидных (pXO1-/pXO2-) атипичных штамма,

pXO2+ моноплазмидных штаммов не выявлено.

Большинство изученных штаммов, за исключением девяти (25 %, 5 атипичных и 4 моноплазмидных), патогенны для белых мышей и морских свинок. У штаммов Сибирского и Дальневосточного регионов, в связи с длительными сроками их хранения в коллекционных фондах института, отмечается умеренная вирулентность (LD_{50} 20–100 спор) для белых мышей по Э.Н.Шляхову и Е.В.Груз [6].

VNTR-анализ 30 штаммов *B. anthracis*, выделенных на территории Сибири и Дальнего Востока (1959–2010 гг.) и штаммов *B. anthracis* СТИ-1, Ihtiman, Stern 34F₂, ВНИИВВиМ 55 из музея живых культур института показал, что, в целом, популяция изучаемых штаммов весьма гетерогенна. Идентифицированы 20 VNTR-профилей, при этом 12 (60 %) из них уникальны – встречаются только у одного штамма в выборке. Двадцать профилей группируются в восемь кластеров, которые формируют три главных клоновых комплекса. Штаммы, изолированные во время и после эпизоотий с эпидемическими осложнениями, образуют отдельные кластеры, самый крупный из них включает шесть изолятов из Республики Бурятия (2008, 2009 гг.). Аллельный полиморфизм VNTR-локусов варьировал в широких пределах – от 0,33 до 0,76. Три локуса (pXO2at, BaVNTR16 и BaVNTR17) демонстрировали наибольший полиморфизм (0,76, 0,71 и 0,66 соответственно). Дискриминирующая способность 15-локусного VNTR-анализа составила 0,957. Сравнение полученных результатов с некоторыми мировыми данными [9, 11, 12, 13, 14] выявило, что возбудитель *B. anthracis*, выделенный в Сибири и на Дальнем Востоке, относится к двум глобальным генетическим линиям – А и В. Большая часть генотипов (85 %) входит в группу А (подгруппы А1 и А3). К группе В (подгруппе В1) отнесено три варианта генотипа десяти штаммов, выделенных в 2008–2012 гг. в Республике Бурятия, Омской области, Алтайском крае и в 1961 г. на территории Республики Алтай. Ранее описано, что генотипы штаммов сибиреязвенного микроба из Республики Бурятия и Омской области максимально близки к генотипу G17 штаммов из Грузии и Республики Дагестан [5]. Семь наборов ампликонов отличаются от известных генотипов по одному или более локусам и не встречаются в литературных источниках – изоляты из Алтайского края (2012), Республики Бурятия (2004, 2006) и штаммы *B. anthracis* Ihtiman, Stern 34F₂, 55 ВНИИВВиМ из музея живых культур института.

Результаты, полученные методом масс-спектрометрического анализа и прямым секвенированием, согласуются с результатами MLVA-генотипирования – выявлено основное разделение на ветви А и В. Изученные штаммы преимущественно относятся к трем каноническим SNP кластерам A.Br.001/002 (Республики Бурятия, Тыва, Саха (Якутия), Омский, Забайкальский и Хабаровский края), A.Br.008/009 (Республика Бурятия, Красноярский и Приморский

края, Тюменская область) и В.Вг.001/002 (Республики Бурятия и Алтай, Алтайский и Омский края), при этом распределение штаммов по кластерам, примерно, одинаковое. Примечательно, что штаммы, выделенные на территории Республики Бурятия, представлены во всех трех кластерах, но преимущественно в В.Вг.001/002, к которому относятся и изоляты из ЯНАО 2016 г. [7].

Ранее штаммы *B. anthracis* 55 ВНИИВВиМ и СТИ-1 были отнесены к одному генотипу по 18 вариабельным локусам хромосомной локализации [4], однако, примененный нами расширенный протокол исследования 28 локусов сибиреязвенного микроба позволил дифференцировать их [1], что еще раз доказывает необходимость применения расширенного протокола типирования *B. anthracis*.

Таким образом, изучение 39 штаммов, выделенных в 11 субъектах Сибири и Дальнего Востока (1959–2013 гг.), показало незначительную вариабельность их биологических и выраженную гетерогенность молекулярно-генетических свойств. Типичными культурально-морфологическими свойствами обладают 87,2 % изолятов. Атипичность 12,8 % штаммов проявляется в нехарактерных культурально-морфологических свойствах и отсутствии генов плазмид вирулентности. Все штаммы *B. anthracis* Сибирского и Дальневосточного регионов отнесены к двум глобальным генетическим линиям А и В.

На основе полученных и систематизированных результатов исследований создана база данных «Биологические свойства штаммов *Bacillus anthracis*, изолированных на территории Сибири и Дальнего Востока» (свидетельство о государственной регистрации № 2016620321 в Реестре баз данных от 10.03.2016 г. Федеральной службы по интеллектуальной собственности), состоящая из двух условных модулей. Первый модуль собран из восьми блоков, которые включают данные о происхождении штаммов (номер штамма, вид материала, место и дата выделения, метод выделения, кем и где выделен) и наименования основных индикаторных и идентификационных тестов лабораторной диагностики (обнаружение методом ПЦР фрагментов структурных генов плазмид токсино- (pXO1) и капсулообразования (pXO2); результаты бактериоскопии и люминесцентной микроскопии; культурально-морфологические свойства по 16 идентификационным тестам; показатели LD₅₀ для белых мышей и морских свинок и оценка степени вирулентности; биохимические свойства по 23 дополнительным тестам). Второй модуль содержит молекулярно-генетическую характеристику штаммов *B. anthracis*, изученных методами MLVA и прямого секвенирования по 15 вариабельным VNTR- и 13 SNP-локусам.

Структура базы данных пополняема и может быть расширена по результатам применения новых технологий и методов. Сведения из базы могут служить в качестве генетического маркера при рассле-

довании случаев сибирской язвы, возможных актов биотерроризма и оценке эпизоотической активности СНП на определенной административной территории с использованием ГИС-технологий. Внедрение базы будет способствовать информационному обеспечению при идентификации культур для и совершенствования эпизоотологического и эпидемиологического надзора за сибирской язвой.

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

Список литературы

1. Афанасьев М.В., Кравец Е.В., Дугаржапова З.Ф., Такайшвили В.Е., Половинкина В.С., Балахонов С.В. Сравнительный мультилокусный VNTR и SNP анализ штаммов *Bacillus anthracis*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2014; 2: 36–40.
2. Дугаржапова З.Ф., Родзиковский А.В., Чеснокова М.В., Балахонов С.В., Болошинов А.Б., Ханхареев С.С., Болошинова Н.П., Намноева Л.К., Шобоева Р.С., Юзвик Л.Н., Лауль З.Л., Мосорова А. В. Эпизоотолого-эпидемиологический анализ ситуации по сибирской язве в Республике Бурятия (1995–2008 гг.). Эпидемиология и инфекционные болезни. 2010; 6:11–5.
3. Дугаржапова З.Ф., Чеснокова М.В., Гольдапель Э.Г., Косилко С.А., Балахонов С.В. Сибирская язва в азиатской части Российской Федерации. Сообщение 2. Современная эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация в Сибири и на Дальнем Востоке (1985–2015 гг.). Проблемы особо опасных инфекций. 2017; 1:59–64. DOI:10.21055/0370-1069-2017-1-59-64.
4. Кузнецовский А.В., Мигова Г.В., Федоров Ю.Н., Кибирев Я.А., Воробьев А.А., Дармов И.В., Борисевич И.В., Савиных А.В., Горин О.В. Генетическое типирование вакцинных штаммов *Bacillus anthracis* методом мультилокусного VNTR-анализа. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2009; 4:13–8.
5. Куличенко А.Н., редактор. Сибирская язва на Северном Кавказе. Майкоп: Качество; 2016. 198 с.
6. Маринин Л.И., Дятлов И.А., редакторы. Методы изучения биологических свойств возбудителя сибирской язвы. Учебно-методическое пособие. М.: ЗАО МП «ГИГИЕНА»; 2009. 304 с.
7. Попова А.Ю., Куличенко А.Н., редакторы. Опыт ликвидации вспышки сибирской язвы на Ямале в 2016 году. Ижевск: ООО «Принт-2»; 2017. 313 с. DOI: 10.23648/PRNT.2184.
8. Черкасский Б.Л. Эпидемиология и профилактика сибирской язвы. М.: ИНТЕРСЭН; 2002. 384 с.
9. Aikembayev A.M., Lukhova L., Temiraliyeva G., Meka-Mechenko T., Pazylov Y., Zakaryan S., Denisov G., Easterday W.R., Van Ert M.N., Keim P., Francesconi S.C., Blackburn J.K., Hugh-Jones M., Hadfield T. historical distribution and molecular diversity of *Bacillus anthracis*, Kazakhstan. Emerg. Infect. Dis. 2010; 16(5):789–96. DOI: 10.3201/eid1605.091427.
10. Hoffmaster A.R., Fitzgerald C.C., Ribot E., Mayer L. W., Popovic T. Molecular subtyping of *Bacillus anthracis* and the 2001 bioterrorism-associated anthrax outbreak, United States. Emerg. Infect. Dis. 2002; 8(10):1111–7. DOI: 10.3201/eid810.020394.
11. Keim P., Price L.B., Klevytska A.M., Smith K.L., Schupp J.M., Okinaka R., Jackson P.J., Hugh-Jones M.E. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. J. Bacter. 2000; 182(10):2928–36. DOI: 10.1128/JB.182.10.2928-2936.2000.
12. Okutani A., Tunglag H., Boldbaatar B., Yamada A., Tserennorov D., Otgonchimeg I., Erdenebat A., Otgonbaatar D., Inoue S. Molecular epidemiological study of *Bacillus anthracis* isolated in Mongolia by multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for 8 loci (MLVA-8). Jpn. J. Infect. Dis. 2011; 64(4):345–8.
13. Simonson T.S., Okinaka R.T., Wang B., Easterday W.R., Huynh L., U'Ren J.M., Dukerich M., Zanecki S.R., Kenefic L.J., Beaudry J., Schupp J.M., Pearson T., Wagner D.M., Hoffmaster A., Ravel J., Keim P. *Bacillus anthracis* in China and its relationship to worldwide lineages. BMC Microbiol. 2009; 9:71 DOI: 10.1186/1471-2180-9-71.
14. Van Ert M.N., Easterday W.R., Huynh L.Y., Okinaka R.T., Hugh-Jones M.E., Ravel J., Zanecki S.R., Pearson T., Simonson T.S., U'Ren J.M., Kachur S.M., Leadem-Dougherty R.R., Rhoton S.D., Zinser G., Farlow J., Coker P.R., Smith K.L., Wang B., Kenefic L.J., Fraser-Liggett C.M., Wagner D.M., Keim P. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. PLoS ONE. 2007; 2(5):e461. DOI: 10.1371/journal.pone.0000461.

References

1. Afanas'ev M.V., Kravets E.V., Dugarzhapova Z.F., Takaishvili V.E., Polovinkina V.S., Balakhonov S.V. [Comparative multi-locus VNTR- and SNP-assays of *Bacillus anthracis* vaccine strains]. *Molekulyarnaya Genetika Mikrobiologiya i Virusologiya*. 2014; 2:36–40.
2. Dugarzhapova Z.F., Rodzikovsky A.V., Chesnokova M.V., Balakhonov S.V., Boloshinov A.B., Khankhareev S.S., Boloshinova N.P., Namnoeva L.K., Shoboeva R.S., Yuzvik L.N., Laul' Z.L., Mosorova A.V. [Epizootiological-epidemiological analysis of the situation on anthrax in the Republic of Buryatia (1995–2008)]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bozlezni*. 2010; 6:11–5.
3. Dugarzhapova Z.F., Chesnokova M.V., Gol'dapel' E.G., Kosilko S.A., Balakhonov S.V. [Anthrax in the Asian part of the Russian Federation. Communication 2. Up-to-date epizootiological and epidemiological situation in Siberia and at the Far East (1985–2016)]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 1:59–64. DOI:10.21055/0370-1069-2017-1-59-64.
4. Kuznetsovsky A.V., Migova G.V., Fedorov Yu.N., Kibirev Ya.A., Vorob'ev A.A., Darmov I.V., Borisevich I.V., Savinykh A.V., Gorin O.V. [Genetic typing of *Bacillus anthracis* vaccine strains using multilocus VNTR-analysis]. *Molekulyarnaya Genetika Mikrobiologiya i Virusologiya*. 2009; 4:13–8.
5. Kulichenko A.N., editor. [Anthrax in North Caucasus]. Maikop: "Kachestvo"; 2016. 198 p.
6. Marinin L.I., Dyatlov I.A., editors. [Methods for Studies of Biological Properties of Anthrax Agent (Textbook)]. Moscow: "GIGIENA" CJSC; 2009. 304 p.
7. Popova A.Yu., Kulichenko A.N., editors. [Experience in Anthrax Outbreak Eradication in Yamal in 2016]. Izhevsk: "Print 2" Ltd.; 2017. 313 p.
8. Cherkassky B.L. [Epidemiology and Prophylaxis of Anthrax]. Moscow: "INTERSEN"; 2002. 384 p.
9. Aikembayev A.M., Lukhnova L., Temiraliyeva G., Meka-Mechenko T., Pazylov Y., Zakaryan S., Denissov G., Easterday W.R., Van Ert M.N., Keim P., Francesconi S.C., Blackburn J.K., Hugh-Jones M., Hadfield T. historical distribution and molecular diversity of *Bacillus anthracis*, Kazakhstan. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(5):789–96. DOI: 10.3201/eid1605.091427.
10. Hoffmaster A.R., Fitzgerald C.C., Ribot E., Mayer L. W., Popovic T. Molecular subtyping of *Bacillus anthracis* and the 2001 bioterrorism-associated anthrax outbreak, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8(10):1111–7. DOI: 10.3201/eid0810.020394.
11. Keim P., Price L.B., Klevytska A.M., Smith K.L., Schupp J.M., Okinawa R., Jackson P.J., Hugh-Jones M.E. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J. Bacter.* 2000; 182(10):2928–36. DOI: 10.1128/JB.182.10.2928-2936.2000.
12. Okutani A., Tungalag H., Boldbaatar B., Yamada A., Tserennorov D., Otgonchimeg I., Erdenebat A., Otgonbaatar D., Inoue S. Molecular epidemiological study of *Bacillus anthracis* isolated in Mongolia by multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for 8 loci (MLVA-8). *Jpn. J. Infect. Dis.* 2011; 64(4):345–8.
13. Simonson T.S., Okinaka R.T., Wang B., Easterday W.R., Huynh L., U'Ren J.M., Dukerich M., Zanecki S.R., Kenefic L.J., Beaudry J., Schupp J.M., Pearson T., Wagner D.M., Hoffmaster A., Ravel J., Keim P. *Bacillus anthracis* in China and its relationship to worldwide lineages. *BMC Microbiol.* 2009; 9:71 DOI: 10.1186/1471-2180-9-71.
14. Van Ert M.N., Easterday W.R., Huynh L.Y., Okinaka R.T., Hugh-Jones M.E., Ravel J., Zanecki S.R., Pearson T., Simonson T.S., U'Ren J.M., Kachur S.M., Leadem-Dougherty R.R., Rhoton S.D., Zinser G., Farlow J., Coker P.R., Smith K.L., Wang B., Kenefic L.J., Fraser-Liggett C.M., Wagner D.M., Keim P. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS ONE*. 2007; 2(5):e461. DOI: 10.1371/journal.pone.0000461.

Authors:

Kravets E.V., Dugarzhapova Z.F., Takaishvili V.E., Ivanova T.A., Chesnokova M.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.

Об авторах:

Кравец Е.В., Дугаржапова З.Ф., Такайшвили В.Е., Иванова Т.А., Чеснокова М.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.

Поступила 12.04.18.

Отправлена на доработку 18.05.18.

Принята к публ. 03.07.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-60-65

УДК 616.98:579.841.11

А.А. Кытманов, Г.Д. Елагин, Г.В. Куклина, Д.В. Печенкин, О.О. Фоменков, А.В. Еремкин,
С.С. Ипатов, Э.Р. Зиганшин**РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНЫХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ
ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ САПА И МЕЛИОИДОЗА**

Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны, Киров, Российская Федерация

Цель. Создание лабораторных образцов иммуноферментных моноклональных тест-систем для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза. **Материалы и методы.** В работе использованы микробные культуры и гибридные клеточные линии, полученные из Государственной коллекции микроорганизмов филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров). Клетки гибридом культивировали в перитонеальной полости мышей линии BALB/c. Препараты сапных и мелиоидозных моноклональных антител выделяли из асцитных жидкостей осаждением сульфатом аммония и очисткой ионообменной хроматографией. Специфические компоненты создаваемых тест-систем подвергали сублимационному высушиванию в соответствующих защитных средах. Исследование диагностических свойств разработанных тест-систем проводили методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа. **Результаты и обсуждение.** В результате работы получены препараты моноклональных антител *in vivo*, а также выделены и очищены иммуноглобулины из асцитных жидкостей. Подобраны пары моноклональных антител для изготовления специфических компонентов. Изготовлены лабораторно-экспериментальные серии иммуноферментных моноклональных тест-систем, позволяющие специфически выявлять возбудителей сапа и мелиоидоза в концентрации $0,5 \cdot 10^6$ м.к./мл и более. Показано отсутствие перекрестных реакций с близкородственными сапрофитами и гетерологичными микроорганизмами в концентрации $1,0 \cdot 10^8$ м.к./мл. Показана принципиальная возможность проведения дифференциации *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei* методом иммуноферментного анализа. Тест-системы перспективны для последующей регистрации в качестве медицинских изделий для диагностики *in vitro*.

Ключевые слова: сап, мелиоидоз, моноклональные антитела, иммуноферментный анализ.

Корреспондирующий автор: Кытманов Алексей Александрович, e-mail: 23527@mail.ru.

Для цитирования: Кытманов А.А., Елагин Г.Д., Куклина Г.В., Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Еремкин А.В., Ипатов С.С., Зиганшин Э.Р. Разработка иммуноферментных моноклональных тест-систем для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 3:60–65. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-60-65

A.A. Kytmanov, G.D. Elagin, G.V. Kuklina, D.V. Pechenkin, O.O. Fomenkov, A.V. Eremkin,
S.S. Ipatov, E.R. Ziganshin**Development of Immuno-Enzymatic Monoclonal Tests-Systems for the Detection
of Glanders and Melioidosis Agents**Affiliated Branch of the Federal State Budgetary Institution «48th Central Research Institute» of the Ministry of Defense
of the Russian Federation, Kirov, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was the development of immune-enzymatic monoclonal test-kit for detecting glanders and melioidosis agents. **Materials and methods.** We used microbial cultures and hybrid cell lines obtained from the collection of the «48th Central Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Hybridoma cells were incubated in the peritoneal cavity of BALB/c mice. Preparations of glanders and melioidosis monoclonal antibodies were isolated from the ascetic fluids through precipitation with ammonium sulfate and purification by means of ion-exchange chromatography. Specific components of the test-kits were subjected to freeze drying in corresponding protective media. Study of diagnostic properties of the developed test systems was performed using ELISA. **Results and conclusions.** We have obtained preparations of monoclonal antibodies *in vivo*, as well as isolated and purified immunoglobulins from ascetic fluids. We also selected the pairs of monoclonal antibodies for manufacturing specific components. Experimental series of immune-enzymatic monoclonal test-systems allowing for specific detection of glanders and melioidosis causative agents in concentrations ranging from $0.5 \cdot 10^6$ CFU/ml and higher were made. The absence of cross-reactivity with closely related saprophytes and heterologous microorganisms in concentrations of $1,0 \cdot 10^8$ CFU/ml was shown. Demonstrated was the possibility in principle to differentiate between *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei* using ELISA. Test systems are promising for follow up state registration as medical products for *in vitro* diagnostics.

Keywords: glanders, melioidosis, monoclonal antibodies, ELISA.

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

Corresponding author: Alexey A. Kytmanov, e-mail: 23527@mail.ru.

Citation: Kytmanov A.A., Elagin G.D., Kuklina G.V., Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Eremkin A.V., Ipatov S.S., Ziganshin E.R. Development of Immuno-Enzymatic Monoclonal Tests-Systems for the Detection of Glanders and Melioidosis Agents. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:60–65. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-60-65

Received 06.06.18. Revised 18.06.18. Accepted 16.08.18.

Среди представителей рода *Burkholderia* особое место занимают *B. mallei* и *B. pseudomallei*, которые относятся к микроорганизмам второй группы патогенности (опасности), а вызываемые ими заболевания признаны самостоятельными нозологическими единицами.

В России последние вспышки сапа зарегистрированы в период Второй мировой войны. На территории СССР данная болезнь считалась полностью ликвидированной. Однако в 1985 г. сотрудниками Волгоградского научно-исследовательского противочумного института в г. Улан-Удэ Бурятской АССР выделили возбудитель сапа от ввезенной из Монголии лошади. В настоящее время эндемичными по этому заболеванию являются страны Ближнего Востока, Африки и Латинской Америки, а также Индия, Китай, Монголия, Филиппины и Северная Австралия [6].

Мелиоидоз впервые описан в 1911 г. А. Whitmore и его ассистентом С. S. Krishnaswami как подобное сапу заболевание («glanders-like») в Таиланде и Северной Австралии первые случаи мелиоидоза диагностированы в 1947 и 1950 гг. соответственно. В настоящее время в этих странах отмечаются самые высокие показатели заболеваемости, а эти два региона являются гиперэндемичными по мелиоидозу [5].

Актуальность создания эффективных средств диагностики заболеваний сапом и мелиоидозом определяется угрозой их занесения на территорию России из эндемичных стран в связи со значительным ростом транспортных связей, а также возросшими грузо- и пассажиропотоками.

Иммунологические методы исследования, в силу своей высокой чувствительности и специфичности, относительной методической простоты и невысокой себестоимости, являются эффективным способом решения задач индикации и идентификации патогенных микроорганизмов.

Современные подходы к разработке и совершенствованию иммунодиагностических средств детекции патогенов методом твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА) базируются на широком использовании моноклональных антител (МКАТ) заданной специфичности.

Возможность применения МКАТ для идентификации возбудителей сапа и мелиоидоза и их дифференциации от близкородственных видов буркхольдерий показана отечественными учеными [2, 3, 4].

В Волгоградском научно-исследовательском противочумном институте в 1996–1998 гг. на основе МКАТ разработана и апробирована экспериментальная иммуноферментная тест-система для выявления гликопротеина (АГ8) в составе капсульной субстанции *B. pseudomallei*. С помощью этой тест-системы подтверждена гетерогенность штаммов *B. pseudomallei* по признаку экспрессии антигенных детерминант, в частности, по содержанию АГ8 в суточных культурах буркхольдерий [7]. В настоящее время это учреждение осуществляет коммерческую реализацию наборов реагентов для диагностики *in*

vitro, в том числе иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие мелиоидозные и сапные моноклональные для выявления соответствующих возбудителей в окружающей среде и биоматериале. За рубежом МКАТ к антигенам *B. pseudomallei* используют в ряде традиционных иммунодиагностических тестов, которые применяются в эндемичных регионах распространения инфекции для идентификации выделяемых культур буркхольдерий и их дифференциации от других представителей рода [2]. В 2011 г. опубликованы данные, полученные специалистами нескольких организаций США при участии Института Патологий Вооруженных Сил США (Armed Forces Institute of Pathology), в которых описано изучение бактерицидной активности более 100 моноклональных антител в отношении патогенных буркхольдерий [11].

Цель работы состояла в создании лабораторных образцов иммуноферментных моноклональных тест-систем для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза.

Для достижения поставленной цели представлялось необходимым решить следующие задачи: разработать препараты специфических мелиоидозных и сапных моноклональных антител; выбрать пары МКАТ, обеспечивающие наименьшую минимально выявляемую концентрацию бактерий в иммуноферментном анализе; приготовить готовые к применению лабораторные серии иммуноферментных тест-систем и оценить их диагностические возможности.

Материалы и методы

Препараты специфических моноклональных антител к антигенам возбудителя сапа получали, используя культуры гибридных клеточных линий 301E5F10, 258F12H11, 298C11E11 и 292G4D4; к антигенам возбудителя мелиоидоза – 255A6F5, 255B6E1, 253B4D4, 283B5H2 и 298E9B4. Все гибридные клеточные линии получены в филиале ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» (г. Киров). Клетки гибридом вводили внутрибрюшинно мышам линии BALB/c в дозах от 1 до 2 млн. Для поддержания роста гибридом за 10 дней до инокуляции культур гибридных клеток мышам-реципиентам в брюшную полость вводили по 0,3 мл минерального масла пристана (Sigma-Aldrich, США). Контроль приживания клеток осуществляли через 10 сут после введения. В случае развития у мышей выраженного асцита производили забор перитонеального экссудата.

Иммуноглобулины из асцитных жидкостей выделяли методом двукратного осаждения насыщенным раствором сульфата аммония с последующим диализом против 0,15 М натрия хлорида с добавлением 20 мМ фосфатного буферного раствора с pH 7,5, образовавшийся после диализа осадок удаляли центрифугированием. Раствор иммуноглобулинов фильтровали через шприцевую фильтрующую

насадку (MillexGP, Merck, Millipore, Германия) с диаметром пор 0,22 мкм. Окончательную очистку иммуноглобулинов осуществляли методом ионообменной хроматографии на колонке с ДЭАЭ-сефацелом (GE Healthcare, Швеция) [1].

Синтез конъюгатов иммуноглобулинов с пероксидазой хрена (Sigma-Aldrich, США) осуществляли по методу Р.К. Nakane и А.Д. Kawaoi [8]. Рабочее разведение конъюгатов определяли методом «шахматного титрования» [1].

Постановку «сэндвич-варианта» ИФА выполняли в следующем порядке: сенсibilизация планшета (Nunc, Дания) препаратами МКАТ в 50 мМ карбонатно-бикарбонатном буферном растворе (КББ) в течение 1 ч при температуре 37 °С, трехкратная отмывка лунок фосфатно-солевым буферным раствором с добавлением 20 % Твина 20 (Sigma-Aldrich, США) (далее отмывка), инкубация взвеси микробных культур (исследуемые образцы) в течение 30 мин при температуре 37 °С, отмывка, инкубация иммуноферментного конъюгата в течение 30 мин при температуре 37 °С, отмывка, инкубация субстратно-индикаторной смеси на основе о-фенилендиамина (Sigma-Aldrich, США) в течение 20 мин в темноте при комнатной температуре, остановка реакции 1 М раствором серной кислоты, определение оптической плотности при длине волны 492 нм (ОП₄₉₂). Результаты принимали к учету в том случае, если фоновые значения иммуноферментных конъюгатов не превышали величину ОП₄₉₂, равную 0,15. В лунках с исследуемыми образцами результат считали положительным при величине ОП₄₉₂, равной 0,3 и более.

Для приготовления готовых форм тест-систем специфические компоненты переводили в защитную среду высушивания до концентрации, в 11 раз превышающей рабочее разведение, фасовали в ампулы и лиофилизировали. Для иммуноферментного конъюгата использовали защитную среду следующего состава: 5 % сахарозы, 10 мг/мл бычьего сывороточного альбумина в 0,5 М ТРИС-НСl с рН 7,4; в качестве среды высушивания для иммуноглобулинов применяли 5 % раствор сахарозы в 0,5 М КББ с рН 9,6. Лиофилизацию специфических компонентов проводили в установке для сублимационного высушивания «АЛСУ» (ООО ОКБ «Фармбиомаш», Россия).

Оценку минимальной выявляемой концентрации (чувствительности) и специфичности тест-систем в отношении близкородственных патогенных буркхольдерий проводили с использованием микробных культур *B. mallei* (штаммы Ц-5, 10230, 11) и *B. pseudomallei* (Dalat, Duc-V, C-141), для сапной и мелиоидозной тест-систем соответственно. Для оценки специфичности тест-систем в отношении близкородственных сапрофитов и гетерологичных микроорганизмов использовали культуры: *Burkholderia cepacia* (штаммы ATCC 25416, 8237, AB-1934, 3181, p-5812); *Pseudomonas putida* (BKMB-901); *Pseudomonas aeruginosa* (PQO-1); *Pseudomonas*

fluorescens (A-4125); *Bacillus anthracis* (СТИ-1, Sterne-34F2, Ихтиман); *Bacillus cereus* (96); *Bacillus megaterium* (654); *Bacillus subtilis* (36); *Brucella abortus* (544, 870, 19BA, Tulya, C-68); *Brucella melitensis* (145, 16M, 706, ЯГ-56); *Brucella suis* (1330); *Escherichia coli* (HB101); *Francisella tularensis* (15 НИИЭГ, 503, 543, Schu); *Legionella pneumophila* (Philadelphia-1, Pontiak, Flint); *Yersinia enterocolitica* (124, 134, 383); *Yersinia pestis* (EV); *Yersinia pseudotuberculosis* (147, 326, 681); *Vibrio cholerae* (569-B). Приготовление микробных взвесей с заданной концентрацией проводили визуально с помощью стандартных образцов мутности (ОСО 42-28-85, Россия).

Воспроизводимость результатов ИФА оценивали путем определения относительного значения вариации оптической плотности субстратно-индикаторной смеси. Расчет коэффициента вариации проводили по результатам изучения положительных и отрицательных контрольных проб для семи образцов каждой серии обеих тест-систем.

На этапах работы с животными исследования соответствовали международным этическим нормам, законодательству Российской Федерации и нормативным документам учреждения.

Результаты и обсуждение

Для выбора МКАТ, обеспечивающих специфическое выявление патогенных буркхольдерий и наиболее высокую чувствительность иммуноферментного анализа, исследованы различные комбинации антител, используемые для сенсibilизации планшетов и в составе конъюгата с пероксидазой хрена. В качестве контроля использовали смесь штаммов, взятых в равных соотношениях – *B. mallei* Ц-5, 10230, 11 и *B. pseudomallei* Dalat, Duc-V, C-141 для сапной и мелиоидозной тест-систем соответственно. Полученные результаты представлены в табл. 1 и 2.

В серии предварительных экспериментов установлено, что сапные иммуноглобулины гибридных клеточных линий 292G4D4 и 301E5F10, а также мелиоидозные иммуноглобулины, полученные от линий 283B5H2 и 298E9B4, при использовании как в качестве сенситина, так и в составе конъюгата, обладают низкой специфической активностью в отношении соответствующих возбудителей, поэтому данные моноклональные антитела исключены из дальнейших исследований.

Различные сочетания моноклональных антител гибридных клеточных линий, используемые в качестве сенситина и в составе иммунопероксидазного конъюгата, позволяют выявлять микробные клетки *B. mallei* в концентрациях от $0,25 \cdot 10^6$ м.к./мл до $16,0 \cdot 10^6$ м.к./мл. При этом наибольшую чувствительность анализа обеспечивали моноклональные антитела, продуцируемые гибридной клеточной линией 258F12H11 в составе как сенситина, так и иммунопероксидазного конъюгата. Антитела, продуцируемые указанной гибридомой, использованы для изго-

Таблица 1 / Table 1

Чувствительность иммуноферментного анализа при выявлении микробных клеток возбудителя сапа с использованием различных комбинаций МКАТ

Sensitivity of enzyme immunoassay in glanders microbe cell detection using various combinations of monoclonal antibodies

Наименование МКАТ, используемых для сенсibilизации планшетов	Минимальная выявляемая концентрация микробных клеток <i>B. mallei</i> с использованием иммунопероксидазного конъюгата на основе МКАТ гибридной клеточной линии ..., $\cdot 10^6$ м.к./мл			
	258F12H11	292G4D4	298C11E11	301E5F10
258F12H11	0,25	16,0	0,5	8,0
292G4D4	16,0	16,0	16,0	8,0
298C11E11	2,0	16,0	1,0	4,0
301E5F10	16,0	4,0	8,0	8,0

Примечание: результаты анализа являются полуколичественными

товления лабораторно-экспериментальных образцов иммуноферментной тест-системы.

Данные, представленные в табл. 2, свидетельствуют, что минимальная выявляемая концентрация *B. pseudomallei* у всех исследуемых пар иммуноглобулинов не превышала $8,0 \cdot 10^6$ м.к./мл. При этом максимальную чувствительность обеспечивало сочетание моноклональных антител гибридных клеточных линий 255A6F5 в составе сенситина и 255B6E1 в составе иммунопероксидазного конъюгата. МКАТ, продуцируемые перечисленными гибридами, использованы для комплектации лабораторно-экспериментальных образцов иммуноферментной тест-системы.

По результатам исследований изготовлено по три лабораторно-экспериментальные серии иммуноферментных моноклональных тест-систем для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза.

Комплектация разработанных тест-систем унифицирована в соответствии с аналогами, изготавливаемыми в филиале ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» (г. Киров). В их состав включены в готовом виде или в виде полуфабрикатов все иммунохимические реагенты, необходимые для постановки твердофазного иммуноферментного анализа в планшетах, за исключением дистиллированной воды. Тест-системы включали в себя следующие компоненты: иммуноглобулины (МКАТ) против антигенов сапного (melioidosis) микроба; конъюгат иммунопероксидазный против антигенов сапного (melioidosis) микроба; взвесь убитой культуры сапного (melioidosis) микроба (положительный контрольный образец) с концентрацией 1 млрд м.к./мл; навеска солей для приготовления фосфатно-солевого буферного раствора; 20 % раствор твин-20; концентрат цитратно-перекисного раствора; навеска *o*-фенилендиамина; 1 М раствор серной кислоты; планшет полистироловый для постановки иммуноферментного анализа (96 лунок); инструкция по применению.

После приготовления готовых форм проведения оценка минимальной выявляемой концентрации микробных клеток, специфичности тест-систем в отношении близкородственных буркхольдерий, сапрофитов и гетерологичных микроорганизмов, а также воспроизводимости результатов анализа. Результаты определения чувствительности тест-систем представлены в табл. 3.

Представленные в табл. 3 данные свидетельствуют о том, что изготовленные иммуноферментные тест-системы позволяют специфически выявлять возбудителей сапа и мелиоидоза в концентрациях $0,5 \cdot 10^6$ м.к./мл и выше, а также дифференцировать патогенные буркхольдерии представленных штаммов в концентрациях от $1,0 \cdot 10^7$ м.к./мл и ниже.

При оценке специфичности установлено, что обе тест-системы не давали ложно-положительных результатов при изучении культур близкородствен-

ных микробов.

Таблица 2 / Table 2

Чувствительность иммуноферментного анализа при выявлении микробных клеток возбудителя мелиоидоза с использованием различных комбинаций МКАТ

Sensitivity of enzyme immunoassay in melioidosis microbe cell detection using various combinations of monoclonal antibodies

Наименование МКАТ, используемых для сенсibilизации планшетов	Минимальная выявляемая концентрация микробных клеток <i>B. pseudomallei</i> с использованием иммунопероксидазного конъюгата на основе МКАТ гибридной клеточной линии ..., $\cdot 10^6$ м.к./мл				
	255A6F5	255B6E1	253B4D4	283B5H2	298E9B4
255A6F5	1,0	0,5	1,0	2,0	8,0
255B6E1	1,0	2,0	2,0	4,0	8,0
253B4D4	1,0	1,0	2,0	4,0	8,0
283B5H2	8,0	8,0	4,0	4,0	4,0
298E9B4	8,0	8,0	1,0	8,0	4,0

Примечание: результаты анализа являются полуколичественными

Таблица 3 / Table 3

Чувствительность образцов лабораторно-экспериментальных серий иммуноферментных моноклональных тест-систем для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза

Sensitivity of samples of laboratory-experimental series of immune-enzymatic monoclonal test-systems for melioidosis and glanders agents detection

Тест-система (№ серии)	Минимальная выявляемая концентрация культуры...					
	<i>B. mallei</i> штамма..., ·10 ⁶ м.к./мл			<i>B. pseudomallei</i> штамма ..., ·10 ⁶ м.к./мл		
	Ц-5	10230	11	Dalat	Duc-V	C-141
САП (0115)	0,25	0,5	0,5	100,0	10,0	10,0
САП (0215)	0,5	0,5	0,5	100,0	10,0	10,0
САП (0315)	0,5	0,25	0,5	100,0	10,0	10,0
МЕЛИОИДОЗ (0115)	10,0	10,0	10,0	0,5	0,5	0,5
МЕЛИОИДОЗ (0215)	10,0	10,0	10,0	0,5	0,5	0,5
МЕЛИОИДОЗ (0315)	10,0	10,0	10,0	0,5	0,5	0,5

Примечание: результаты анализа являются полуколичественными.

ных сапрофитов и гетерологичных бактерий в концентрации 1,0·10⁸ м.к./мл и ниже.

По результатам изучения воспроизводимости установлено, что коэффициент вариации для положительных результатов составил 7,8 %, для отрицательных – менее 7 %.

Таким образом, в результате работы получены препараты моноклональных антител *in vivo*; из асцитных жидкостей выделены иммуноглобулины, которые фракционированы методом ионообменной хроматографии; подобраны пары моноклональных антител, обеспечивающие максимальный уровень чувствительности при использовании в составе иммуноферментного конъюгата и для сенсibilизации планшетов, перспективные для создания иммуноферментных тест-систем.

Изготовлены лабораторно-экспериментальные серии иммуноферментных моноклональных тест-систем для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза, позволяющие специфически выявлять микробные клетки *B. mallei* и *B. pseudomallei* в концентрации 0,5·10⁶ м.к./мл, которые не давали ложноположительных результатов при исследовании близкородственных сапрофитов и гетерологичных микроорганизмов в концентрации 1,0·10⁸ м.к./мл.

Разработанные серии иммуноферментных тест-систем для выявления возбудителей сапа и мелиоидоза по детекционным характеристикам не уступают параметрам зарубежных иммунодиагностических тестов на основе моноклональных антител [9, 10].

Показана принципиальная возможность проведения дифференциации *B. mallei* и *B. pseudomallei* с помощью моноклональных антител 255A6F5, 255B6E1 и 258F12H11.

Тест-системы перспективны для последующей регистрации в качестве медицинских изделий для диагностики *in vitro*.

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

Список литературы

1. Кэтти Д., редактор. Антитела. Методы. М.: Мир, 1991. Т. 1. 287 с.
2. Замарина Т.В., Храпова Н.П., Корсакова И.И., Пименова Е.В. Конструирование экспериментальной тест-системы иммуноферментной на основе моноклональных антител к антигену 200 kDa возбудителя мелиоидоза. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2014; 3:93–95.
3. Прохвятилова Е.В., Храпова Н.П. О получении моноклональных люминесцирующих иммуноглобулинов для обнаружения возбудителя мелиоидоза. В кн.: Эколого-эпидемиологический надзор за природно-очаговыми инфекциями в Северном Прикаспии. Астрахань; 1996. С. 147–8.
4. Прохвятилова Е.В. О разработке новых иммунобиологических препаратов на основе моноклональных антител к *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2003; 2:153–8.
5. Cheng A.C., Currie B.J. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology and management. *Clin. Microbiol. Rev.* 2005; 18(2):383–416. DOI: 10.1128/CMR.18.2.383-416.2005.
6. Harvey S.P., Minter J.M. Ribotyping of *Burkholderia mallei* isolates. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2005. 44(1):91–7. DOI: 10.1016/j.femsim.2004.12.002.
7. Khrapova N.P., Tikhonov N.G., Prokhvatilova Y.V. Detection of Glycoprotein of *Burkholderia pseudomallei*. *Emerg. Infect. Dis.* 1998; 4(2):336–7. DOI: 10.3201/eid0402.980229.
8. Nakane P.K., Kawaoi A. Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugated *J. Histochem. Cytochem.* 1974; 22(12):1084–91. DOI: 10.1177/22.12.1084.
9. Sudhir K. Dohre, Urmil Tuteja, Subodh Kumar Generation and Characterization of Monoclonal Antibodies Specific to *Burkholderia mallei*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2016; 5(5):342–9. DOI: 10.20546/ijcmas.2016.505.035.
10. Woods K.L., Bouthasavong L., NicFhogartaigh C., Lee S.J., Davong V., AuCoin D.P., Dance D.A.B. Evaluation of a rapid diagnostic test for detection of *Burkholderia pseudomallei* in the Lao People's Democratic Republic. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(7):e02002–17. DOI: 10.1128/jcm.02002-17.
11. Zhang S., Feng S.H., Li B., Kim H.Y., Rodriguez J., Tsai S., Lo S.C. *In vitro* and *in vivo* studies of monoclonal antibodies with prominent bactericidal activity against *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(5):825–34. DOI: 10.1128/CI.00533-10.

References

1. Ketti D, editor [Antibodies. Methods. Volume 1]. Translated from English. Moscow: "Mir"; 1991. 287 p.
2. Zamarina T.V., Khrapova N.P., Korsakova I.I., Pimenova E.V. [Designing of experimental immune-enzymatic test-system on the basis of monoclonal antibodies to melioidosis agent antigen 200 kDa]. *Vestnik Volgogradskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta. (Bulletin of the Volgograd State Medical University)*. 2014; 3:93–5.
3. Prokhvatilova E.V., Khrapova N.P. [Concerning the obtainment of luminescent monoclonal immunoglobulins for the detection of melioidosis causative agent]. In: [Ecological-epidemiological sur-

veillance over natural focal infections in the Northern Caspian Sea region]. Astrakhan; 1996. P. 147–8.

4. Prokhvatilova E.V. [Concerning the development of new immune-biological preparations based on monoclonal antibodies to *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2003; 2:153–8.

5. Cheng A.C., Currie B.J. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology and management. *Clin. Microbiol. Rev.* 2005; 18(2):383–416. DOI: 10.1128/CMR.18.2.383-416.2005.

6. Harvey S.P., Minter J.M. Ribotyping of *Burkholderia mallei* isolates. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2005. 44(1):91–7. DOI: 10.1016/j.femsim.2004.12.002.

7. Khrapova N.P., Tikhonov N.G., Prokhvatilova Y.V. Detection of Glycoprotein of *Burkholderia pseudomallei*. *Emerg. Infect. Dis.* 1998; 4(2):336–7. DOI: 10.3201/eid0402.980229.

8. Nakane P.K., Kawaoi A. Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugated J. *Histochem. Cytochem.* 1974; 22(12):1084–91. DOI: 10.1177/22.12.1084.

9. Sudhir K., Dohre, Urmil Tuteja, Subodh Kumar Generation and Characterization of Monoclonal Antibodies Specific to *Burkholderia mallei*. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2016; 5(5):342–9. DOI: 10.20546/ijcmas.2016.505.035.

10. Woods K.L., Boutthasavong L., NicFhogartaigh C., Lee S.J., Davong V., AuCoin D.P., Dance D.A.B. Evaluation of a rapid diagnostic test for detection of *Burkholderia pseudomallei* in

the Lao People's Democratic Republic. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(7):e02002–17. DOI: 10.1128/jcm.02002-17.

11. Zhang S., Feng S.H., Li B., Kim H.Y., Rodriguez J., Tsai S., Lo S.C. *In vitro* and *in vivo* studies of monoclonal antibodies with prominent bactericidal activity against *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(5):825–34. DOI: 10.1128/CI.00533-10.

Authors:

Kytmanov A.A., Elagin G.D., Kuklina G.V., Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Eremkin A.V., Ipatov S.S., Ziganshin E.R. Affiliated Branch of the Federal State Budgetary Institution «48th Central Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Kirov, Russian Federation. E-mail: 23527@mil.ru.

Об авторах:

Кытманов А.А., Елагин Г.Д., Кукина Г.В., Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Еремкин А.В., Ипатов С.С., Зиганшин Э.Р. Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны. Российская Федерация, Киров. E-mail: 23527@mil.ru.

Поступила 06.06.18.

Отправлена на доработку 18.06.18.

Принята к публ. 16.08.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-66-72

УДК 616.98:579.842.23(571.15)

А.Н. Матросов¹, Л.В. Щучинов², Н.М. Ермаков¹, К.С. Захаров¹, М.Г. Корнеев¹, Е.В. Чипанин³,
И.М. Морозов³, Д.В. Свирский³, В.В. Кузьменков³, Д.Ю. Дегтярев⁴, А.В. Денисов⁵, А.И. Мищенко⁵,
В.В. Шефер⁵, Е.П. Михайлов⁵, Г.С. Архипов⁶, А.С. Раздорский¹, А.А. Кузнецов¹, А.А. Слудский¹,
Н.В. Попов¹, С.А. Щербакова¹, В.В. Кутырев¹

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЗИНСЕКЦИИ И ДЕРАТИЗАЦИИ В ГОРНО-АЛТАЙСКОМ ВЫСОКОГОРНОМ ПРИРОДНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;
²Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай, Горно-Алтайск, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт», Иркутск, Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация; ⁵ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», Горно-Алтайск, Российская Федерация; ⁶ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Алтай», Горно-Алтайск, Российская Федерация

Эпидемические осложнения на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы, связанные с ростом численности носителей и переносчиков этого опасного заболевания, потребовали усиления профилактической направленности эпиднадзора. **Цель** – оценка эффективности дезинсекции и дератизации при проведении противэпидемических мероприятий. **Материалы и методы.** Исследования проводились в 2014–2017 гг. на территории Кош-Агачского района Республики Алтай на основе архивных и оперативных материалов Алтайской противочумной станции, Управления Роспотребнадзора по Республике Алтай, собственных данных. В качестве инструмента использовалась «Интерактивная карта по управлению оздоровительными мероприятиями в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы». **Результаты и обсуждение.** Наиболее радикальными разделами комплекса профилактических мероприятий по чуме остаются дезинсекция и дератизация. Применение современных методов и средств контроля численности носителей и переносчиков инфекции свидетельствует о высокой противэпидемической их эффективности. Проведение инсектицидных и родентицидных обработок на стоянках животноводов, располагающихся на эпизоотических участках, дезинсекция и дератизация в крупных населенных пунктах на территории очага позволило снизить риск инфицирования населения. Техническая эффективность полевой дезинсекции составила 96,7 %, поселковой дератизации и дезинсекции – от 91,6 до 100 %. Проведение экстренных инсектицидных и родентицидных обработок, наряду с другими мероприятиями, обеспечило эпидемиологическое благополучие по чуме.

Ключевые слова: природный очаг чумы, профилактика чумы, дезинсекция, дератизация, противэпидемическая эффективность.

Корреспондирующий автор: Матросов Александр Николаевич, e-mail: rusrap@microbe.ru.

Для цитирования: Матросов А.Н., Щучинов Л.В., Ермаков Н.М., Захаров К.С., Корнеев М.Г., Чипанин Е.В., Морозов И.М., Свирский Д.В., Кузьменков В.В., Дегтярев Д.Ю., Денисов А.В., Мищенко А.И., Шефер В.В., Михайлов Е.П., Архипов Г.С., Раздорский А.С., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Попов Н.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Эффективность дезинсекции и дератизации в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 3:66–72. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-66-72

A.N. Matrosov¹, L.V. Shchuchinov², N.M. Ermakov¹, K.S. Zakharov¹, M.G. Korneev¹, E.V. Chipanin³,
I.M. Morozov³, D.V. Svirsky³, V.V. Kuzmenkov³, D.Yu. Degtyarev⁴, A.V. Denisov⁵, A.I. Mishchenko⁵,
V.V. Shefer⁵, E.P. Mikhailov⁵, G.S. Arkhipov⁶, A.S. Razdorsky¹, A.A. Kuznetsov¹, A.A. Sludsky¹, N.V. Popov¹,
S.A. Shcherbakova¹, V.V. Kutyrev¹

Effectiveness of Disinsection and Deratization in Gorno-Altai High-Mountain Natural Plague Focus

¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation; ²Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Altai; Gorno-Altai, Russian Federation; ³Irkutsk Research Anti-Plague Institute, Irkutsk, Russian Federation;
⁴Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation; ⁵Altai Plague Control Station, Gorno-Altai, Russian Federation; ⁶Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Altai, Gorno-Altai, Russian Federation

Abstract. Epidemic complications in the territory of Gorno-Altai high-mountain natural plague focus, associated with increase in numbers of carriers and vectors of the dangerous diseases, entailed strengthening of preventive element in the system of epidemiological surveillance. **Objective** of the study was to assess the efficiency of disinsection and deratization during anti-epidemic campaign. **Materials and methods.** Investigations were performed in 2014–2017 in the territory of Kosh-Agach district of the Republic of Altai, based on the archival and operational records from Altai Plague Control Station, Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Altai, and our own data. “Interactive Map on Management of Health Promotion Measures in Gorno-Altai high-mountain natural plague focus” was used as an assessment tool. **Results and conclusions.** The most hard-hitting sections of preventive complex as regards plague are still disinsection and deratization. Application of advanced methods and means of control over numbers of carriers and vectors of the infection testify to their high anti-epidemic effectiveness. Insecticide and rodenticide treatments of encampments situated in epizootic areas, disinsection and deratization in major population centers in the territory of the focus allowed for the reduction in risk of population infection. Technical efficiency of the field disinsection amounted to 96.7 %, community deratization and disinsection varied from 91.6 to 100 %. Emergency insecticide and rodent treat-

ments in epizootic areas alongside other measures provided for epidemiological welfare on plague.

Key words: natural plague focus, plague prevention, disinsection, deratization, anti-epidemic effectiveness.

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

Corresponding author: Alexander N. Matrosov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Matrosov A.N., Shchuchinov L.V., Ermakov N.M., Zakharov K.S., Korneev M.G., Chipanin E.V., Morozov I.M., Svirsky D.V., Kuzmenkov V.V., Degtyarev D.Yu., Denisov A.V., Mishchenko A.I., Shefer V.V., Mikhailov E.P., Arkhipov G.S., Razdorsky A.S., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Popov N.V., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. Effectiveness of Disinsection and Deratization in Gorno-Altai High-Mountain Natural Plague Focus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:66–72. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-66-72

Received 06.04.18. Accepted 09.04.18.

Эпидемиологические осложнения в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы в 2014–2016 гг., обусловленные циркуляцией основного подвида чумного микроба в поселениях серого сурка, потребовали разработки и проведения целого комплекса противоэпидемических мероприятий на территории Кош-Агачского района Республики Алтай [1, 9, 12]. В разделе неспецифических мер борьбы с чумой дератизация и дезинсекция занимают важное место [10, 16–20]. В 2014–2017 гг. с учетом особенностей современной биоценотической структуры Горно-Алтайского очага чумы и на основании оперативных данных о численности и распределении серого сурка-носителя высоковирулентного основного подвида микроба чумы, дезинсекционные и дератизационные обработки были обоснованы и проводились в природных биотопах и населенных пунктах [11].

В настоящее время под оздоровлением природных очагов зоонозов понимают предупреждение развития экстенсивных и интенсивных эпизоотий, которые могут привести к инфицированию населения. Снижение численности грызунов и их эктопаразитов подавляет, а в ряде случаев останавливает развитие эпизоотий чумы. Многолетний опыт истребительных мероприятий в популяциях носителей и переносчиков чумы и других зоонозов свидетельствует о необходимости учитывать внутривидовые механизмы, влияющие на восстановление поголовья зверьков и их блох после воздействия. Это может сопровождаться повышением интенсивности размножения, миграционной активности животных, перераспределением и сменой фауны кровососущих членистоногих норных микробиотопов [2, 14, 15]. По данным эпидемиологов, путем истребления носителей чумы можно снизить эпидемический потенциал природного очага лишь на 15 %, блох-переносчиков возбудителя – на 20–40 % [8]. Данные о борьбе с сурками в природных очагах чумы однозначно свидетельствуют о низкой ее эффективности. Это связано с отсутствием привлекательных приманок для этих зеленоядных грызунов, их высокой миграционной подвижностью и осторожностью [2, 7]. Освободившиеся норы с блохами при гибели сурков посещаются другими зверьками этого вида или других видов мелких млекопитающих, вследствие чего эпизоотии чумы могут продолжаться. Кроме того, массовое истребление охраняемых промысловых видов пушных зверей недопустимо. Вместе с тем, дезинсекционные обработки против блох сур-

ков и других носителей чумы оказываются более эффективными [6, 10]. В прошлом насекомые в норах сурков уничтожались с помощью бромистого метила и хлорорганических препаратов (хлорпикрина, дустов ДДТ, ГХЦГ), что обеспечивало длительный пулелицидный эффект – эпизоотии не развивались до 10 лет [2, 8]. Высокая токсичность хлорорганических инсектицидов привела к их запрету. На смену пришли более активные и менее токсичные синтетические пиретроиды [13]. Их пулелицидная эффективность менее продолжительна, чем у ХОС препаратов, но в аридных зонах эффект пролонгируется до 2–3 месяцев, а при использовании современных микрокапсулированных препаратов – до 6 месяцев [4]. Показаниями к организации и проведению дератизационных и дезинсекционных мероприятий в населенных пунктах и их окрестностях служат высокая численность синантропных и экзосантропных видов носителей и переносчиков, выявление эпизоотий в популяциях синантропных грызунов и эпидемиологические осложнения по чуме. **Целью** настоящего исследования ставилась оценка эффективности дезинсекции и дератизации, осуществляемых в комплексе санитарно-профилактических мероприятий.

Материалы и методы

Материалы исследований собирались в процессе проведения противоэпидемических мероприятий в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы в 2013–2017 гг., осуществляемых ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», Управлением Роспотребнадзора по Республике Алтай и ФБУЗ «Центром гигиены и эпидемиологии в Республике Алтай». При обработке и анализе полученных данных использовались архивные, оперативные материалы станции (обзоры, отчеты, донесения и др.) и литературные источники. Планирование и организацию работ осуществляли в соответствии с годовыми «Комплексными планами мероприятий учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в Кош-Агачском районе Республики Алтай». Основанием к их проведению, определению содержания, дислокации и объемов обработок служили результаты эпизоотологического и эпидемиологического обследования в очаге. В качестве инструмента в работе использовалась электронная «Интерактивная карта по управлению оздоровительными мероприятиями в Горно-Алтайском

высокогорном природном очаге чумы» (ИК), разработанная на основе геоинформационных систем (ГИС) специалистами Алтайской противочумной станции, РосНИПЧИ «Микроб» и Иркутского НИПЧИ. Пополняемая ИК содержит многослойное картографическое web-приложение (25 слоев, более 1500 объектов), выполненное на платформе ArcGIS Application Builder for Flex.

Результаты и обсуждение

Площадь Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы составляет 11597 км². Ежегодно с учетом эпидемиологической направленности в границах очага обследуется территория около 9000 км² (78 %). На остальной части очага, в соответствии с действующим регламентом, осуществляют рекогносцировочное обследование с частотой один раз в три года. В настоящее время поселения серого сурка, носителя основного подвида возбудителя чумы, располагаются в зоне горных полупустынь на высотах от 2000 до 2700 м над у.м. Носителем низковирулентного алтайского подвида чумного микроба является монгольская пищуха, обитающая в зоне горной степи и полупустыне на высотах от 1800 до 2300 м. Длиннохвостый суслик также является фоновым видом, включающимся в эпизоотии чумы: границы его поселений располагаются на высотах 1900–2200 м. В скальниках обычна и многочисленна плоскочерепная полевка, охотно заселяющая строения на стоянках животноводов. Средняя плотность жилых бутанов сурка составляет 0,6 на 1 га, различаясь по участкам от 0,1 до 0,8 бут./га. К 2017 г. намечилось снижение численности сурка на большей части его ареала. Уровень численности монгольской пищухи снизился с 8,1 обитаемых колоний на 1 га в 2012 г. и 3,7 кол./га в 2017 г., что было вызвано неблагоприятными условиями зимовок. Более стабильной отмечена численность длиннохвостого суслика – варьировала за последние 5 лет в пределах 3,2–5,5 особей/га, но его поселения здесь мозаичны и локальны. Численность плоскочерепной полевки в природных биотопах весной в среднем составляла 6,1 % попадания, осенью – 23,0 %. Заселенность этим видом стоянок животноводов составляла 9 %, численность весной – 2,6, осенью – 6,1. Численность домовых мыши в населенных пунктах невелика: весной – 2,5, осенью – 3,7 % попадания.

Фауна блох (основных переносчиков возбудителя чумы) представлена 47 видами, из которых доминируют 20 видов, паразитирующих на сурке, суслике и пищухах. Основными переносчиками возбудителя чумы основного подвида в очаге являются блохи *Oropsylla silantiewi*, *O. alascensis*. Кроме блох в эпизоотический процесс активно включаются иксодовые клещи и вши. Численность блох, в 2014–2017 гг. была относительно высока. Индекс их обилия (ИО) на сурках составлял в среднем 1,3, на монгольской пищухе – 6,9, на длиннохвостом суслике – 1,3, на

плоскочерепной полевке – 1,5. При отсутствии выраженной миграции блох во входы нор в смешанных поселениях горной полупустыни норовый ИО по многолетним данным в среднем составлял 0,07, варьируя от 0,01 до 0,19. Блох в жилье человека в крупных населенных пунктах не регистрируют. На полевках, отлавливаемых на стоянках, обычны их специфические блохи.

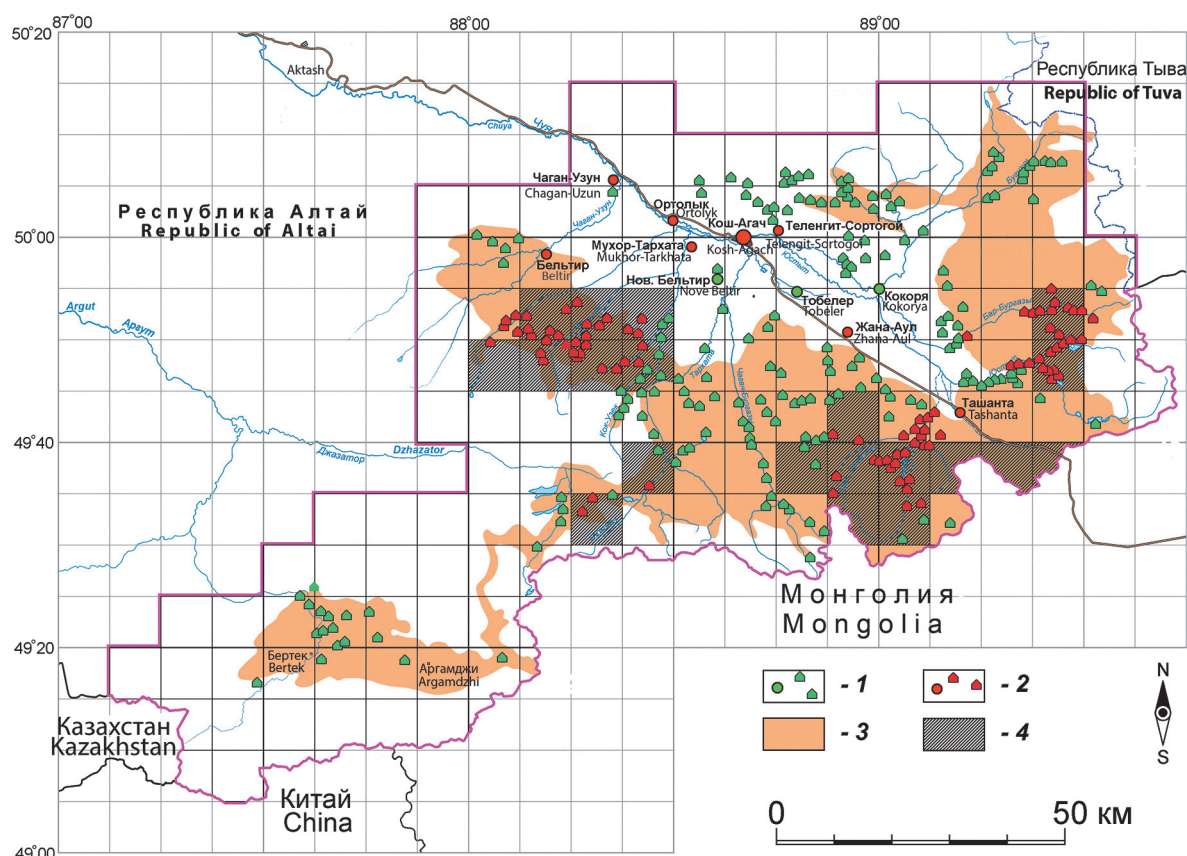
Динамика численности блох характеризуется колебаниями по месяцам и годам. В поселениях серого сурка пик их численности приходится на май, пищух – на май и октябрь, длиннохвостого суслика – на май, плоскочерепной полевки – на октябрь. Во входах нор наибольшая численность также отмечается в мае. В этот период следует отметить регулярность встреч нор с гнездами птиц-норников: прежде всего каменки плясуны – многочисленного вида в очаге. Обилие блох в гнездовых норах каменки может быть достаточно высоким – до 320 экз. блох в одной норе при среднем значении ИО=80,6. Специфическими блохами каменки являются *Citellophilus styx avicitelli* и *Frontopsylla frontalis*, охотно паразитирующие на грызунах и способные передавать чумной микроб [3, 5].

В 2012–2017 гг. на территории Горно-Алтайского высокогорного очага чумы выделено 218 штаммов основного и неосновного (алтайского) подвида чумного микроба на территории общей площадью 1512 км². Из 130 культур *Y. pestis pestis* большая доля – 118 (90,8 %) изолирована от серого сурка и его эктопаразитов, 11 (8,5 %) – от длиннохвостого суслика и его эктопаразитов, 1 – от степного хорька.

Планирование, организация и проведение всех мероприятий по дезинсекции и дератизации в очаге осуществлялись с учетом экологии, фенологии, численности и характера распределения носителей и переносчиков возбудителя чумы, оперативных данных эпизоотологического мониторинга (рисунок). При этом обязательно учитывали эпидемиологическую направленность мероприятий. Первоочередное внимание уделяли участкам высокой плотности населения, местам сезонных кочевков животноводов, размещению поголовья верблюдов. Основным критерием оценки качества проведенных мероприятий являлась их противоэпизоотическая и техническая эффективность. Техническая эффективность вычислялась при сравнении численности зверьков и их эктопаразитов до и после истребительных обработок.

Основное внимание уделяли инсектицидным и родентицидным обработкам в населенных пунктах всех типов, а также барьерной дезинсекции в норах зверьков вокруг стоянок животноводов (таблица).

В комплексе эффективных мер профилактики заболеваний чумой в современный период наиболее радикальными методами борьбы с носителями и переносчиками чумы являются дезинсекционные обработки. Борьба с блохами – хранителями и переносчиками возбудителя, позволяет прерывать эпизоотический процесс и снижать риск заражения человека чумой при контакте с переносчиками.



Дезинсекция и дератизация в населенных пунктах на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2014–2017 гг.:

1 – стоянки животноводов; 2 – стоянки животноводов и крупные населенные пункты, где проведена дезинсекция и дератизация; 3 – ареал серого сурка; 4 – эпизоотические секторы

Disinsection and deratization in residential areas in the territory of Gorno-Altai high-mountain natural plague focus in 2014–2017:

1 – livestock keepers' encampments; 2 – livestock keepers' encampments and other large residential sites where disinsection and deratization was conducted; 3 – grey marmot areal; 4 – epizootic sectors

Инсектицидные обработки менее затратны, более целесообразны и эффективны в сравнении с родентицидными. Это особенно актуально в очагах, где носители – охраняемые или ценные промысловые виды млекопитающих [14].

В 2014–2017 гг. все участки инсектицидных обработок располагались в поясе горных степей и полупустынь на высотах в диапазоне от 2000 до 2600 м над у.м. На этой территории осуществляется

интенсивная хозяйственная деятельность, основное направление которой – отгонное животноводство. Цель дезинсекции вокруг стоянок животноводов – подавление (ликвидация) эпизоотий чумы в смешанных поселениях серого сурка, длиннохвостого суслика и монгольской пищухи в оптимальные сроки (в период выхода молодняка на поверхность и его расселения) методом пропыливания нор инсектицидами. Следует отметить, что инфицирование людей в очаге чумы происходило при разделке тушек сурка. В этой связи истребительные обработки против блох и других эктопаразитов не могут исключить повторения таких событий, однако снижение численности переносчиков чумного микроба приводит к затуханию эпизоотий, что уменьшает риск заболевания населения, занимающегося промыслом сурка по месту проживания на временных стоянках.

В 2013–2016 гг. основной объем работ осуществлялся в мае–июне, наращиваемый в августе–сентябре. Для усиления профилактической группы при Ташантинском сезонном противоэпидемическом отряде в 2017 г. были сформированы три группы по пять человек (специалисты Алтайской противочумной станции, РосНИПЧИ «Микроб», Иркутского и Ставропольского НИПЧИ), осуществляющие обследо-

Объемы и эффективность дезинсекции и дератизации в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы в 2013–2017 гг.

The scope and effectiveness of disinsection and deratization in Gorno-Altai high-mountain natural plague focus in 2013–2017

Годы	Дезинсекция				Дератизация поселковая	
	полевая		поселковая			
	км²	эф., %	тыс. м²	эф., %	тыс. м²	эф., %
2013	1,5	-	5,6	-	60,4	86,2
2014	0,2	-	12,6	-	270,6	84,7
2015	18,4	90,0	6,6	-	82,2	≈ 100,0
2016	30,4	86,0	75,2	≈ 100,0	105,3	94,9
2017	43,5	96,7	13,8	≈ 100,0	99,1	92,0
Итого:	94,0	90,9	113,8	≈ 100,0	617,6	91,6

дование и дезинсекционные обработки в крупных населенных пунктах и на стоянках животноводов. Всего за 2013–2017 гг. обследовано и обработано около ста стоянок, а также восемь сел. Площадь поселковой дезинсекции варьировала по годам от 5,6 до 75,2 тыс. м², полевой – от 0,2 до 43,5 км². При оценке их эффективности использовали данные учетов численности блох на зверьках и во входах нор. Эффективность поселковой дезинсекции оказалась близкой к 100 % – блохи на отловленных зверьках и в помещениях стоянок не обнаруживались. До проведения полевой дезинсекции в норах зверьков индекс встречаемости (ИВ) составлял 19,4 %, индекс обилия (ИО) блох – 0,19 при колебаниях от 0,025 до 0,39. После проведенных обработок (по истечении срока ожидания пулестойкого действия) численность блох сокращалась в 20–40 раз – насекомые отлавливались в норах на единичных стоянках. При этом ИВ снижался до 0,7 %, а ИО блох в норах – до 0,006. При выявлении низкой эффективности дезинсекции (ниже 80 %) на двух стоянках проводилась повторная обработка. В целом по очагу эффективность полевой дезинсекции составила 96,7 %. При оценке противозидемического эффекта работ следует учитывать, что большая часть стоянок (летовки) обработаны до их заселения животноводами. Кочевки на летние пастбища начались в начале–середине июня, когда численность норových блох была искусственно снижена до уровня, при котором эпизоотический процесс не развивается.

При проведении дератизационных мероприятий основное внимание уделяли обработкам в населенных пунктах. В противозидемических целях они проводятся даже при низкой численности синантропных грызунов [10]. В крупных поселках доминирует домовая мышь, в то время как серая крыса на территории очага не регистрируется. Строения на стоянках животноводов в высокогорьях заселяются плоскочерепной полевкой. Поселковая дератизация в селах выполнялась силами зоо групп Алтайской противочумной станции и профилактического дезинфекционного отдела филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Алтай» в Кош-Агачском районе. В качестве родентицидных средств использовались готовые приманки на основе антикоагулянтов второго поколения. Объемы обработок варьировали по годам от 60,4 до 270,6 тыс. м². Средняя эффективность поселковой дератизации составила 91,6 %. При этом в крупных населенных пунктах, по данным учетов после обработок, грызуны не отлавливались вовсе. На отдельных стоянках животноводов, располагающихся вблизи скальников, попадались единичные экземпляры плоскочерепной полевки.

При проведении обработок в качестве инсектицидных средств использовали порошковидные препараты из группы синтетических пиретроидов (СП), а также смесевые композиции фосфорсодержащих (ФОС) и СП-инсектицидов: дусты «Фенаксин»,

«Каприн-Ф», «Абсолют», «ФАС-дубль», «Зеленый дом». При проведении поселковой дератизации применяли механические средства (давилки Геро) или химические родентицидные готовые приманки на основе антикоагулянтов «Блокада» и «Цифокс». Дезинсекцию в полевых условиях высокогорий осуществляли с помощью ранцевых дустеров Twister, на стоянках при поселковой дезинсекции – дустеров Polmax. Поселковую дезинсекцию в крупных населенных пунктах проводили влажным способом пиретроидными растворами с помощью опрыскивателя Kvazar.

В результате проведения комплекса санитарно-профилактических противочумных мероприятий, включая дезинфекцию и дератизацию, на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага в 2017 г. удалось сохранить эпидемиологическое благополучие по чуме. Истребление зверьков-носителей и эктопаразитов-переносчиков возбудителя чумы (блох, иксодовых клещей и вшей) на выявляемых эпизоотических участках приводит к разрыву эпизоотической цепи и затуханию эпизоотий. В настоящее время эпизоотии чумы развиваются в поселениях серого сурка на высокогорных участках, мало пригодных для проживания людей и выпаса скота. Таким образом, регулярное проведение инсектицидных и родентицидных обработок на эпизоотических участках, осуществляемых в комплексе с другими мерами профилактики, может обеспечить эпидемиологическое благополучие по этой опасной инфекции в очаге.

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

Список литературы

1. Балахонов С.В., Корзун В.М., Косилко С.А., Михайлов Е.П., Щучинов Л.В., Мищенко А.И., Зарубин И.В., Рождественский Е.Н., Денисов А.В. Актуальные аспекты обеспечения эпидемиологического благополучия по чуме населения Республики Алтай. *Эпидемиол. и вакцинопрофилактика*. 2016; 4(89):4–7.
2. Бибииков Д.И., Берендяев С.А., Пейсахис Л.А., Шварц Е.А. Природные очаги чумы сурков в СССР. М.: Медицина; 1973. 192 с.
3. Бибиикова В.А., Волохов В.А., Синцова В.И. К вопросу о возможной эпизоотической роли птичьих блох. *Мед. паразитол.* 1956; 25(2):160–2.
4. Бурделов Л.А., Жумадилова З.Б., Мека-Меченко В.Г., Сажнев Ю.С., Акимбаев Б.А., Сайлаубекулы Р., Абдукаримов Н., Беляев А.И., Наурузбаев Е.О., Сапожников В.И., Агеев В.С., Пакулева Е.В. Итоги трехлетних полевых испытаний аэрозольной нор большой песчанки (*Rhombomys opimus*) в ультрамалых объемах. *Карантинные и зоонозные инф. в Казахстане*. 2014; 1(29):14–21.
5. Вашенко В.С. Роль блох (SIPHONAPTERA) в эпизоотологии чумы. *Паразитология*. 1999; 33(3):198–209.
6. Голубинский Е.П., Жовтый И.Ф., Лемешева Л.Б. О чуме в Сибири. Иркутск: изд-во Иркутского ун-та; 1987. 243 с.
7. Ибрагимов Э.Ш. Некоторые итоги неспецифической профилактики в высокогорных очагах Кыргызской Республики. *Карантинные и зоонозные инф. в Казахстане*. 2014; 2(30):27–31.
8. Куклев В.В., Солдаткин И.С., Хотюк Н.И. Эпидемический потенциал природных очагов чумы и его оценка. В кн.: *Эпидемиология и профилактика природно-очаговых инфекций*. Саратов; 1981. С. 3–8.
9. 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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; 4:9–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16.

10. Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Князева Т.В., Вержуцкий Д.Б., Никитин А.Я., Немченко Л.С., Григорьев М.П., Левченко Б.И., Бобенко О.А., Газиева А.Ю., Коротков В.Б. Современная концепция контроля численности носителей и переносчиков чумы на территории Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 2:16–20.

11. Матросов А.Н., Щучинов Л.В., Денисов А.В., Мищенко А.И., Рождественский Е.Н., Слудский А.А., Раздорский А.С., Михайлов Е.П., Шарова И.Н., Поршаков А.М., Кузнецов А.А., Попов Н.В., Чипанин Е.В., Корзун В.М., Токмакова Е.Г., Балахонов С.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В., Макин А.А., Архипов Г.С. Неспецифическая профилактика чумы в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 4:25–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-25-32.

12. Попова А.Ю., Кутырев В.В., Балахонов С.В., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Щучинов Л.В., Попов Н.В., Косилко С.А., Дубровина В.И., Корзун В.М., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Бугоркова С.А., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Топорков В.П., Слудский А.А., Раздорский А.С., Матросов А.Н., Поршаков А.А., Лопатин А.А., Щербакова С.А. Координация мероприятий противочумных учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 4:5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-5-10.

13. Чумакова И.В., Цэрэнноров Д., Ермолова Н.В., Малахов О.Ф. Изучение инсектицидной и ларвицидной активности некоторых синтетических препаратов по отношению к блохам грызунов. *Мед. паразитология и паразитарные болезни*. 1999; 3:41–2.

14. Шилова С.А. Популяционная экология как основа контроля численности мелких млекопитающих. М.: Наука; 1993. 201 с.

15. Шипанов Н.А. Функциональная организация популяции – возможный подход к изучению популяционной устойчивости. Прикладной аспект (на примере мелких млекопитающих). *Зоол. журн.* 2002; 81(9):1048–77.

16. Barnes A.M. Surveillance and control of bubonic plague in the United States. *Proc. Symp. Zool. Soc. Lond.* 1982; 50:237–68.

17. Jain S., Khare A.K. Efficacy and palatability of bromadiolone against house rats, *Rattus rattus*. *Rodent (Newsletter)*. 2004; 28(3–4):25–6.

18. Saxena V., Kumar D., Singh R. Assessment and control of rodent population in houses rural areas. *Proc. Ind. Acad. Sci. B.* 1990; 56(586):403–6.

19. Wang Zuwang, Zhang Zhibin. Theory and Practice of Rodent Pest Management. Beijing: Science Press; 1996. 378 p.

20. Wu Lien The, Chun J.W.H., Pollitzer R., Wu C.Y. Plague: a Manual for Medical and Public Health Workers. Shanghai: Mercury Press; 1936. 547 p.

References

1. Balakhonov S.V., Korzun V.M., Kosilko S.A., Mikhailov E.P., Shchuchinov L.V., Mishchenko A.I., Zarubin I.V., Rozhdestvensky E.N., Denisov A.V. [Relevant aspects of epidemiological welfare provision as regards plague in the Republic of Altai]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika*. 2016; 4(89):4–7.

2. Bibikov D.I., Berendyaev S.A., Peisakhis L.A., Shvarts E.A. [Natural Plague Foci of Marmot Type in the Territory of USSR]. М.: “Meditsina”; 1973. 192 p.

3. Bibikova V.A., Volokhov V.A., Sintsova V.I. [Concerning potential epizootiological role of bird fleas]. *Meditsinskaya Parazitologiya*. 1956; 25(2):160–2.

4. Burdelov L.A., Zhumadilova Z.B., Meka-Mechenko V.G., Sazhnev Yu.S., Akimbaev B.A., Sailaubekuly R., Abdukarimov N., Belyaev A.I., Nauruzbaev E.O., Sapozhnikov V.I., Ageev V.S., Pakuleva E.V. [Results of a three-year field trial of great gerbil (*Rhombomys opimus*) burrow aerosolization on an extremely low level]. *Karantinye i Zoonoznye Infektsii v Kazakhstane. Almaty*, 2014; 1(29):14–21.

5. Vashchenok V.S. [Role of fleas (SIPHONAPTERA) in plague epizootiology]. *Parazitologiya*. 1999; 33(3):198–209.

6. Golubinsky E.P., Zhovty I.F., Lemesheva L.B. [Plague in Siberia]. Irkutsk: “Irkutsk University Publishing House”; 1987. 243 p.

7. Ibragimov E.Sh. [Some of the results of non-specific prophylaxis in high-mountain foci of Kyrgyz Republic]. *Karantinye i Zoonoznye Infektsii v Kazakhstane. Almaty*. 2014; 2(30):27–31.

8. Kuklev E.V., Soldatkin I.S., Khot’ko N.I. [Epidemiological potential of natural plague foci and its assessment]. In: [Epidemiology and Prophylaxis of Natural-Focal Infections]. Saratov; 1981. P. 3–8.

9. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Paksina 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]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2014; 4:9–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16.

10. Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Knyazeva T.V., Verzhutsky D.B., Nikitin A.Ya., Nemchenko L.S., Grigor’ev M.P., Levchenko B.I., Bobenko O.A., Gazieva A.Yu., Kоротков V.B. [Modern conception of the control over the abundance of carriers and vectors of plague in the territory of the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; 2:16–20.

11. Matrosov A.N., Shchuchinov L.V., Denisov A.V., Mishchenko A.I., Rozhdestvensky E.N., Sludsky A.A., Razdorsky A.S., Mikhailov E.P., Sharova I.N., Porshakov A.M., Kuznetsov A.A., Popov N.V., Chipanin E.V., Korzun V.M., Tokmakova E.G., Balakhonov S.V., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V., Makin A.A., Arkhipov G.S. [Non-specific prophylaxis of Plague in the Gorno-Altai high-mountain natural focus in 2016]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 4:25–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-25-31.

12. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., Balakhonov S.V., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Paksina N.D., Shchuchinov L.V., Popov N.V., Kosilko S.A., Dubrovina V.I., Korzun V.M., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Bугоркова S.A., Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Toporkov V.P., Sludsky A.A., Razdorsky A.S., Matrosov A.N., Porshakov A.M., Lopatin A.A., Shcherbakova S.A. [Coordination of Measures of plague control institutions, aimed at rehabilitation and sanitation of Gorno-Altai high-mountain natural plague focus in 2016]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 4:5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-5-10.

13. Chumakova I.V., Tserennorov D., Ermolova N.V., Malakhov O.F. [Studies of insecticide and larvicidal activity of certain synthetic preparations towards rodent fleas]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni*. 1999; 3:41–2.

14. Shilova S.A. [Population Ecology as a Basis for Small Mammals’ Numbers Control]. М.: “Nauka”; 1993. 201 p.

15. Shchipanov N.A. [Functional organization of a population – potential approach to population stability studies. Applied aspect (by the example of small mammals)]. *Zoologicheskii Zhurnal*. 2002; 81(9):1048–77.

16. Barnes A.M. Surveillance and control of bubonic plague in the United States. *Proc. Symp. Zool. Soc. Lond.* 1982; 50:237–68.

17. Jain S., Khare A.K. Efficacy and palatability of bromadiolone against house rats, *Rattus rattus*. *Rodent (Newsletter)*. 2004; 28(3–4):25–6.

18. Saxena V., Kumar D., Singh R. Assessment and control of rodent population in houses rural areas. *Proc. Ind. Acad. Sci. B.* 1990; 56(586):403–6.

19. Wang Zuwang, Zhang Zhibin. Theory and Practice of Rodent Pest Management. Beijing: Science Press; 1996. 378 p.

20. Wu Lien The, Chun J.W.H., Pollitzer R., Wu C.Y. Plague: a Manual for Medical and Public Health Workers. Shanghai: Mercury Press; 1936. 547 p.

Authors:

Matrosov A.N., Ermakov N.M., Zakharov K.S., Korneev M.G., Razdorsky A.S., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Popov N.V., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusapi@microbe.ru.

Shchuchinov L.V. Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Altai. 173, Kommunisticheskoy Avenue, Gorno-Altaysk, 649002, Russian Federation. E-mail: rpn_ra@mail.gorny.ru.

Chipanin E.V., Morozov I.M., Svirsky D.V., Kuzmenkov V.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Deptyarev D.Yu. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

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

Arkhipov G.S. Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Altai. 73, Kommunisticheskoy Avenue, Gorno-Altaysk, 649002, Russian Federation. E-mail: gti@mail.gorny.ru.

Об авторах:

Матросов А.Н., Ермаков Н.М., Захаров К.С., Корнеев М.Г., Раздорский А.С., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Попов Н.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rustrari@microbe.ru.

Щучинов Л.В. Управление Роспотребнадзора по Республике Алтай. Российская Федерация, 649002, Горно-Алтайск, пр. Коммунистический, 173. E-mail: grn_ra@mail.gornu.ru.

Чипанин Е.В., Морозов И.М., Свирский Д.В., Кузьменков В.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилисера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Дегтярев Д.Ю. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Денисов А.В., Миценко А.И., Шефер В.В., Михайлов Е.П. Алтайская противочумная станция. Российская Федерация, 649002, Горно-Алтайск, ул. Заводская, 2. E-mail: chuma@mail.gornu.ru.

Архипов Г.С. Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Алтай. Российская Федерация, 649002, Горно-Алтайск, пр. Коммунистический, 173. E-mail: gti@mail.gornu.ru.

Поступила 06.04.18.

Принята к публ. 09.04.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-73-77

УДК 616.932:579.61

Е.В. Монахова, И.В. Архангельская, Р.В. Писанов, С.В. Титова

ОСОБЕННОСТИ ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ЦИТОТОКСИНА MARTX НЕТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* РАЗНЫХ СЕРОГРУПП

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Целью исследования явился сравнительный биоинформационный анализ продуктов трансляции генов *rtxA* штаммов *V. cholerae* разных серогрупп, выделенных от больных и из объектов окружающей среды. **Материалы и методы.** Использовано 32 штамма из коллекции Ростовского противочумного института. Секвенирование ДНК проводили на платформе MiSeq (Illumina), для анализа и идентификации генов использовали программы BioEdit 7.2.5, BLASTN 2.2.29, Blastp, Vector NTI Advance 11. **Результаты и обсуждение.** Гены *rtxA* изученных штаммов представлены множеством аллелей. AlignX-анализ продуктов их трансляции позволил разделить 32 белка на три отдельных кластера. Первый включал близкие прототипу белки штаммов O1 и неO1/неO139, второй – только неO1/неO139, третий – O139. Blastp-анализ показал, что белки первого кластера сохранили все характерные для MARTX домены – ACD (актин-связывающий), RID (инактивирующий ГТФазу), CPD (цистеиновой протеазы) и ABH (альфа-бета гидролаз), что свидетельствует о вероятности проявления ими типичной активности. У трех штаммов обнаружен новый домен Hia (предполагаемого фактора адаптации). В белках второго кластера отсутствовал ACD, но сформировался дополнительный RID; в двух из них отсутствовал и ABH, но у одного появился домен VIP2 (модификатора G-актина), а у второго – Hia. Эти данные согласуются с предположением J. Dolores, K.J.F.Satchell (2013) о возможном «преображении» актиномодулятора MARTX в токсины с иными механизмами действия. Белки вибрионов O139 серогруппы имели все специфичные домены, кроме ACD. Для ряда выявленных нами измененных белков в NCBI найдены полные гомологи, принадлежащие штаммам из других регионов мира. Присутствие сходных детерминант в геномах штаммов различного происхождения указывает на неслучайный характер их сохранения. Не исключено, что отдельные штаммы «специально» изменяют эти гены либо полностью выключают синтез высокомолекулярного токсина в целях энергосбережения.

Ключевые слова: *Vibrio cholera*, MARTX, биоинформационный анализ, аллели гена *rtxA*, активные домены.

Корреспондирующий автор: Монахова Елена Владимировна, e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru.

Для цитирования: Монахова Е.В., Архангельская И.В., Писанов Р.В., Титова С.В. Особенности первичной структуры цитотоксина MARTX нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* разных серогрупп. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:73–77. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-73-77

E.V. Monakhova, I.V. Arkhangel'skaya, R.V. Pisanov, S.V. Titova

Peculiarities of Primary MARTX Cytotoxin Structure in Non-Toxigenic *Vibrio cholerae* Strains of Different Serogroups

Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. Objective of the investigation was a comparative bioinformatics analysis of *rtxA* gene translation products of *Vibrio cholerae* strains isolated from patients and environmental objects. **Materials and methods.** 32 *Vibrio cholerae* strains from the Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute collection were used. DNA sequencing was conducted on the MiSeq platform (Illumina), gene identification and analysis was carried out by means of BioEdit 7.2.5, BLASTN 2.2.29, Blastp, Vector NTI Advance 11 software programs. **Results and conclusions.** The *rtxA* genes of the studied strains were represented by multiple alleles. AlignX-analysis of their deduced products divided 32 proteins into 3 separate clusters. The first one included proteins of O1 and nonO1/nonO139 strains similar to the prototype, the second – nonO1/nonO139 only, the third – O139. Blastp-analysis revealed that the proteins of the first cluster retained all domains characteristic of MARTX – ACD (actin cross-linking), RID (Rho GTPase inactivation), CPD (cysteine protease) and ABH (alpha-beta hydrolase) which evidences the probability of manifestation of the typical activity. In 3 strains a new Hia domain (of putative adaptation factor) was detected. The proteins of the second cluster lacked ACD but formed an additional RID; two of which lacked ABH too, but in one, VIP2 domain (of actin modification) appeared and in another – Hia. These data are in accordance with the presumption of J. Dolores, K.J.F. Satchell (2013) on the possible converting of actinomodulator MARTX into toxins with other mechanisms of action. The proteins of O139 vibrios shared all specific domains except from ACD. For a number of altered proteins revealed by us full homologues were found in NCBI gene bank, belonging to isolates from other regions of the world. The presence of similar determinants in the genomes of strains of different origin points to non-occasional character of their conservation. It is possible that certain strains “deliberately” alter those genes or switch off the synthesis of the high-molecular toxin completely with a view to energy-saving.

Key words: *Vibrio cholerae*, MARTX, bioinformatics analysis, *rtxA* gene alleles, active domains

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

Corresponding author: Elena V. Monakhova, e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru.

Citation: Monakhova E.V., Arkhangel'skaya I.V., Pisanov R.V., Titova S.V. Peculiarities of Primary MARTX Cytotoxin Structure in Non-Toxigenic *Vibrio cholerae* Strains of Different Serogroups. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:73–77. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-73-77

Received 07.06.18. Accepted 18.06.18.

Высокомолекулярный цитотоксин MARTX (multifunctional autoprocessing repeats-in-toxin), кодируемый геном *rtxA* в составе RTX-кластера, является одним из факторов патогенности холерных вибрионов, обездвиживающим макрофаги и способствующим колонизации кишечника [6, 7, 11, 12]. Молекула MARTX содержит ряд активных доменов, необходимых для проявления биологической активности: ACD (актин-связывающий), RID (инактивирующий ГТФазу), CPD (цистеиновой протеазы) и АВН (альфа-бета гидролаз) [5–7]. Ранее J.Dolores, K.J.F.Satchell [6] показали, что ген *rtxA* имеет несколько аллелей даже у токсигенных штаммов, а у нетоксигенных отличается крайней гетерогенностью, заключающейся в огромном количестве нуклеотидных полиморфизмов (SNP). Среди продуктов измененных генов выявлено два утративших ACD, но в результате генных перестроек у одного сформировался домен аденилат-циклазы (EcoY), у второго – потенциальный домен АДФ-рибозилазы (Vip2), что могло привести к «преображению» активатора MARTX в токсины с иными механизмами действия. Известно также, что распространившиеся в последнее время наиболее эпидемически опасные штаммы (такие как гаитянские) содержат укороченный за счет образования преждевременного стоп-кодона аллель *rtxA4*, продукт которого лишен биологической активности по отношению к эукариотическим клеткам [6]. Напротив, у нетоксигенных штаммов он может выступать в качестве самостоятельного фактора патогенности [6, 11].

В России и ряде бывших республик СССР возбудителями острых кишечных инфекций (ОКИ) чаще являются штаммы неO1/неO139 серогрупп (НАГ-вибрионы). В частности, на протяжении полувека они периодически вызывают ОКИ на территории Ростовской области, а в текущем столетии – и в республике Калмыкия [2]. Реже регистрируются случаи ОКИ, вызываемые нетоксигенными штаммами O1 серогруппы [4], а из объектов окружающей среды (ООС) они выделяются постоянно на всей территории страны [1, 4]. Изучение отдельных факторов патогенности и персистенции позволит выявить среди них наиболее значимые и оценить их потенциальную опасность, а также способность к сохранению и распространению.

Целью настоящего исследования явился сравнительный бионформационный анализ продуктов трансляции генов *rtxA* штаммов *V. cholerae* разных серогрупп, выделенных от больных и из объектов окружающей среды.

Материалы и методы

Объектами исследования служили 24 клинических штамма *V. cholerae* (22 nonO1/неO139 и два O1 серогруппы); четыре штамма O1 и два – O139 серогрупп, выделенные из водных ООС. Их получили из коллекции Музея живых культур Ростовского

противочумного института. Гены *rtxA* идентифицировали с помощью программ BioEdit 7.2.5 (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit>) и BLASTN 2.2.29 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) в «черновых» полных геномах этих штаммов, секвенированных нами на платформе MiSeq (Illumina) согласно прилагаемому протоколу. Трансляцию генов осуществляли в программе Vector NTI Advance 11 (Invitrogen), начиная с кодона ATG (40–43), а не с начального GTG, поскольку экспериментально доказано, что именно ATG является истинно стартовым в *rtxA* [6]. Для анализа белков использовали программы AlignX (Vector NTI) и Blastp (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Прототипом служила аминокислотная последовательность MARTX референс-штамма N16961; в ходе анализа добавлена таковая штамма НАГ-вибриона HE-09 (EGS58021). Список штаммов и номера (ID) нуклеотидных последовательностей *rtxA*, депонированных нами в NCBI GenBank, представлены в таблице.

Результаты и обсуждение

У изученных штаммов ген *rtxA* представлен множеством аллелей, существенно отличающихся от прототипа. Несмотря на то, что далеко не все SNP оказались миссенс-мутациями, продукты также различались по аминокислотному составу вследствие наличия в генах вставок, делеций и замен целых групп нуклеотидов разной длины, иногда сопровождающихся сдвигом рамки считывания. На рис. 1 показана дендрограмма, отражающая это разнообразие. На ней 32 белка сгруппировались в три достаточно далеко отстоящих друг от друга кластера.

В первый попали белки всех шести штаммов O1 серогруппы и 14 НАГ-вибрионов, более или менее близких прототипу (продукту *rtxA1*), из них четыре (три нетоксигенных штамма O1 и единственный токсигенный НАГ-вибрион 16150) были с ним особенно сходны, отличаясь лишь отдельными заменами аминокислотных остатков (aa). Согласно классификации J.Dolores, K.J.F.Satchell [6], два штамма O1 серогруппы 13169 и 18963 – содержали аллель гена *rtxA8*, 16150 – *rtxA6*, 17920 – отличный от всех известных. При этом (таблица) у всех штаммов O1 и девяти неO1/неO139 серогрупп продукты имели «нормальную» длину 4545 aa, у одного содержали один и у трех два «лишних» aa, а еще у одного белок был укорочен до 4030 aa вследствие образования в гене «преждевременного» стоп-кодона. У штамма 17751 в результате делеции 16 п.н. (2015–2030) образовалось две ORF – первая (1980 п.н.) представляла собой усеченный из-за «преждевременного» стоп-кодона *rtxA*; вторая (11640 п.н.), локализованная на 2 п.н. ниже первой, начиналась с GTG и была на 98 % идентична дистальной части прототипа.

MARTX семь штаммов НАГ-вибрионов образовали значительно удаленный кластер. Из них пять белков (таблица) состояли из 4525 aa, два еще сильнее укорочены (4343 и 4407 aa) за счет нескольких

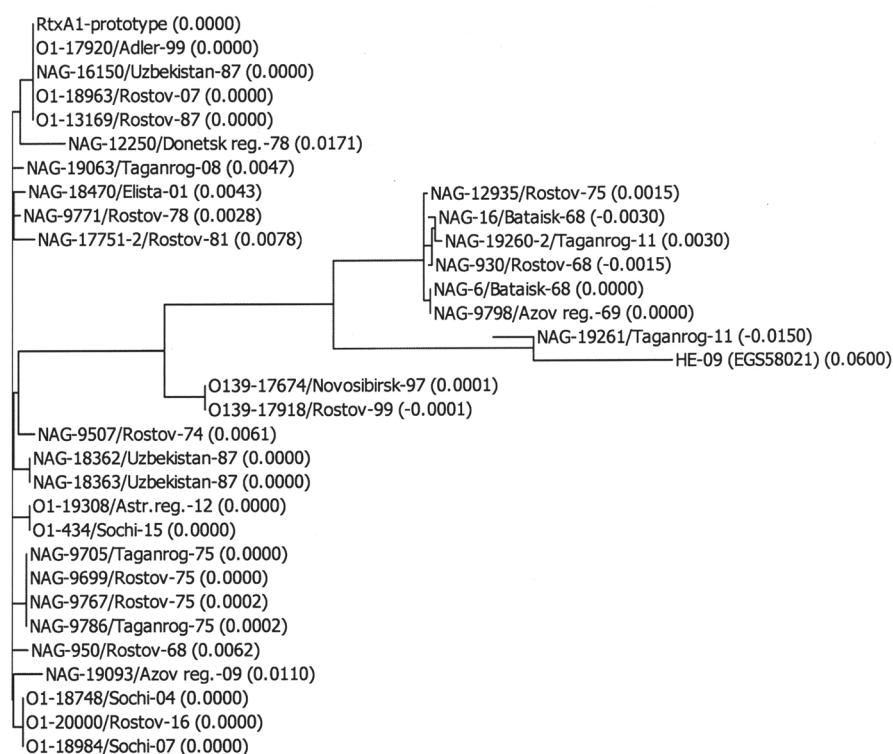


Рис. 1. Дендрограмма, построенная по результатам AlignX-анализа продуктов гена *rtxA* холерных вибрионов

Fig. 1. Tree diagram constructed on the basis of AlignX-analysis of *Vibrio cholerae* *rtxA* gene products

протяженных делеций и вставок внутри кодирующих генов. При этом у штамма 19260 наблюдалась картина, аналогичная таковой 17751: первая ORF усечена до 453 п.н., вторая (13032 п.н., ниже первой на 183 п.н.) начиналась с GTG. Поскольку резко укороченные продукты первых ORF обоих штаммов не могли сохранить какую-либо активность, при анализе мы использовали продукты вторых (дистальных) ORF, хотя их способность к экспрессии пока неизвестна. Идентичные белки двух штаммов O139 серогруппы были ближе таковым НАГ-вибрионов, хотя и образовали на дендрограмме отдельный кластер.

Результаты Blastp-анализа показали, что белки всех штаммов первой группы сохранили все характерные для MARTX домены, хотя и не полностью идентичные прототипу. Один из них (штамм 950) показан на рис. 2. Это свидетельствует в пользу возможности проявления ими актиномодулирующей активности, кроме MARTX штамма 19093, потерявшего 516 С-концевых аа. Это заключение следует из того факта, что MARTX некоторых геновариантов *V. cholerae* O1 (продукт аллеля *rtxA4*), укороченный всего на 12 аа, несмотря на сохранение интактных доменов полностью утрачивает биологическую активность по отношению к эукариотическим клеткам [6]. У одного штамма НАГ-вибриона (12250) и двух O1 серогруппы (434 и 19308) также сформировался новый домен N1a (рис. 2), ранее не выявленный у холерных вибрионов и характерный для поверхностных белков, в частности, для адгезинов иерсиний и моракселл (факторов патогенности) и сходных с ними белков множества других бактерий, выделяемых как из клинического материала, так и из ООС, что послужило основанием для предположения об их значимо-

сти как факторов адаптации к разным экологическим нишам [8]. Интересно, что один из этих штаммов (434) был представителем клонального комплекса, распространившегося в поверхностных водоемах Сочи и его окрестностей в 2015 г., а второй, практически идентичный первому (19308) – его вероятным предшественником, занесенным с другой территории. Ранее нами показано, что оба обладают генами таких факторов персистенции как Cholix-токсин (ChxAI) и уникальный вариант СНО-удлиняющего фактора CefE3 [3, 4]. Возможно, с их продукцией и связано необычно широкое распространение и довольно длительное существование указанного клона в ООС (как и трехлетнее сохранение штамма 19308). Обнаружение в MARTX нового домена N1a позволяет предположить, что токсин приобрел дополнительные свойства фактора персистенции, хотя это предположение требует экспериментальной проверки. Представленные в NCBI штаммы с точно таким же белком MARTX (OEJ09502, OFI90406, OFI95037, OFJ06666, OFJ11820) выделены в Гуаме и США из водных ООС в 1974, 1977 и 1986 гг. Как показал дополнительно проведенный Blastp-поиск, все они обладали ChxA и Cef, высоко гомологичными либо идентичными таковым наших штаммов.

В молекулах белков всех семи НАГ-вибрионов второго кластера отсутствовал ACD и появился дополнительный RID. Утрата ACD свидетельствует в пользу соответствующей потери типичной для MARTX активности; смысл формирования второго RID неясен, хотя в прототипном белке он сдвигает равновесие между F- и G-актином (соответственно полимерной и мономерной формы) в пользу последнего, который затем ковалентно связывается за счет

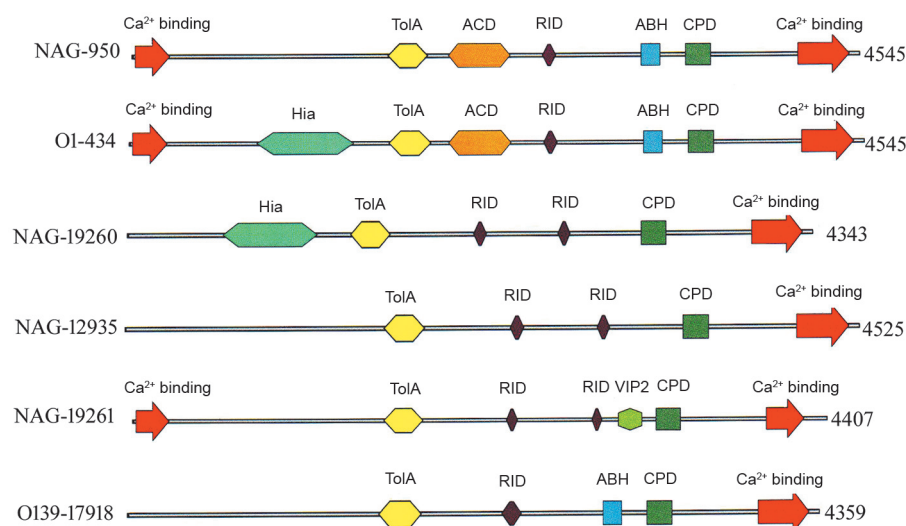


Рис. 2. Активные домены в MARTX некоторых штаммов холерных вибрионов. Домены ACD, RID, CPD, ABH, VIP2 и Hia описаны в тексте; Ca²⁺-binding и TolA, функции которых в MARTX не установлены, показаны для дополнения общей картины локализации доменов

Fig. 2. Active domains in MARTX of some *Vibrio cholerae* strains. ACD, RID, CPD, ABH, VIP2 and Hia domains are described in the text; Ca²⁺-binding and TolA – which functions are unidentified in MARTX – given to complete the overall picture of domain localization

активности ACD, что делает процесс деполимеризации необратимым [10]. С другой стороны, не исключено, что и в отсутствие ACD этот сдвиг может привести хотя бы к временному обезвреживанию клеток-мишеней, способствуя развитию патологического процесса. Кроме того, у одного из штаммов этой группы (19260) отсутствовал и ABH, но присутствовал вышеупомянутый домен Hia, у другого (19261), также лишенного ABH, идентифицирован домен VIP2 (рис. 2) – один из выявленных J.Dolores, K.J.F.Satchell [6] в MARTX штамма НАГ-вибриона HE-09, выделенного из внешней среды на Гаити (2010 г.). Авторы полагают, что мишенью этого домена являются липиды мембран. Он также имеет высокий уровень гомологии с таковым токсина VIP2 (АДФ-рибозилтрансферазы) *Bacillus cereus* – модификатором G-актина. Мы провели дополнительный Blastp-анализ RtxA HE-09 (EGS58021) и обнаружили, что он содержит такие же домены, как идентифицированные у штамма 19161, с очень сходной локализацией, даже несмотря на то, что существенно усечен с N-конца аналогично MARTX штамма 19260. Мы включили его в AlignX-анализ и на дендрограмме он сгруппировался с MARTX 19161, хотя и был значительно короче (рис. 1).

Что касается MARTX водных штаммов O139 серогруппы, то они также лишились ACD и имели один RID. В его гене выявлена протяженная делеция, затрагивающая кодирующую последовательность именно ACD. Не исключено, что такие белки не обладают какой-либо биологической активностью, а их возможное участие в персистенции неясно. В последнее время нетоксигенные штаммы O139 выделяются из ООС довольно редко, а за все время их выделения (с 90-х годов XX в.) в России не зарегистрировано ни одного случая инфицирования ими людей. Тем не менее, в NCBI найдено два полностью идентичных белка MARTX (WP_084998501, ORP10868), один из которых принадлежал клиническому штамму O1 серогруппы, выделенному в Мозамбике в 2008 г. [9].

Таким образом, белки MARTX нетоксигенных

холерных вибрионов крайне вариабельны, хотя часть из них, вероятно, сохраняет активизирующую активность. Другая же часть, возможно, приобретает иные свойства, характерные для факторов патогенности либо персистенции. Полученные нами данные позволяют лишь сделать предположения на этот счет и требуют экспериментальной проверки, поскольку идентификация *in silico* потенциальных доменов в первичной структуре белков еще не является доказательством их формирования в конечном трехмерном продукте и проявления какой-либо связанной с ними активности. Однако присутствие сходных по своей структуре детерминант в геномах штаммов, выделенных в разное время на разных территориях, указывает на неслучайный характер их сохранения и наличие определенного биологического смысла. Мы также не исключаем, что отдельные штаммы «специально» изменяют эти гены с сохранением функций их продуктов или без сохранения (как это имеет место у геновариантов, содержащих аллель *rtxA4* [6]), либо полностью выключают синтез высокомолекулярного токсина в целях энергосбережения и используют для реализации патогенетического потенциала другие факторы, продукция которых требует меньших энергетических затрат.

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

Список литературы

1. Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Ежова М.И. Анализ динамики выделения штаммов холерных вибрионов из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации с 1989 по 2016 гг. с помощью авторской ГИС. *Вестник Пермского университета. Серия: Биология*. 2017; 1:112–7.
2. Монахова Е.В., Архангельская И.В. Холерные вибрионы неO1/неO139 серогрупп в этиологии острых кишечных инфекций: современная ситуация в России и в мире. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 2:14–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23.
3. Монахова Е.В., Писанов Р.В., Титова С.В., Ежова М.И., Иванов С.А. Вариабельность генов *cef* токсигенных и нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 4:50–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-50-55.
4. 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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 1:20–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-20-27.

5. Dolores J.S., Agarwal S., Egerer M., Satchell K.J.F. *Vibrio cholerae* MARTX toxin heterologous translocation of beta-lactamase and roles of individual effector domains on cytoskeleton dynamics. *Mol. Microbiol.* 2015; 95(4):590–604. DOI: 10.1111/mmi.12879.

6. Dolores J., Satchell K.J.F. Analysis of *Vibrio cholerae* genome sequences reveals unique *rtxA* variants in environmental strains and an *rtxA* null-mutation in recent altered El Tor isolates. *MBio* 2013; 4(2):e00624. DOI: 10.1128/mBio.00624-12.

7. Gavin H.E., Satchell K.J.F. MARTX toxins as effector delivery platforms. *Pathog. Dis.* 2015; 73(9):ftv092. DOI: 10.1093/femspd/ftv092.

8. Hoiczky E., Roggenkamp A., Reichenbecher M., Lupas A., Heesemann J. Structure and sequence analysis of *Yersinia* YadA and *Moraxella* UspAs reveal a novel class of adhesins. *EMBO J.* 2000; 19(22):5989–99. DOI: 10.1093/emboj/19.22.5989.

9. Kachwamba Y., Mohammed A.A., Lukupulo H., Urrio L., Majigo M., Mosha F., Matonya M., Kishimba R., Mghamba J., Lusekelo J., Nyanga S., Almeida M., Li S., Domman D., Massele S.Y., Stine O.C. Genetic characterization of *Vibrio cholerae* O1 isolates from outbreaks between 2011 and 2015 in Tanzania. *BMC Infect. Dis.* 2017; 17(1):157. DOI: 10.1186/s12879-017-2252-9.

10. Kudryashov D.S., Durer Z.A.O., Ytterberg A.J., Sawaya M.R., Pashkov I., Prochazkova K., Yeates T.O., Loo R.R., Loo J.A., Satchell K.J., Reisler E. Connecting actin monomers by iso-peptide bond is a toxicity mechanism of the *Vibrio cholerae* MARTX toxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105(47):18537–42. DOI: 10.1073/pnas.0808082105.

11. Olivier V., Salzman N.H., Satchell K.J.F. Prolonged colonization of mice by El Tor O1 depends on accessory toxins. *Infect. Immun.* 2007; 75(10):5043–51. DOI: 10.1128/IAI.00508-07.

12. Satchell K.J.F. Multifunctional-autoprocessing repeats-in-toxin (MARTX) Toxins of *Vibrios*. *Microbiol. Spectr.* 2015;3(3). DOI: 10.1128/microbiolspec.VE-0002-2014.

References

1. Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., Ezhova M.I. [Analysis of the dynamics of *Vibrio cholerae* strain isolation from environmental objects in the territory of the Russian Federation between 1989 and 2015 using the author's GIS]. *Vestnik Permskogo Universiteta, Seriya: Biologiya. (Perm University Bulletin. Biology Series)* 2017; 1:112–7.

2. Monakhova E.V., Arkhangel'skaya I.V. [Cholera vibrios of nonO1/nonO139 serogroups in etiology of acute intestinal infections: current situation in Russia and around the world]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 2:14–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23.

3. Monakhova E.V., Pisanov R.V., Titova S.V., Ezhova M.I., Ivanov S.A. [Variability of *cef* genes in toxigenic and non-toxigenic *Vibrio cholerae* O1 Strains]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 4:50–5.

DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-50-55.

4. 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. Prognosis for 2016]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:20–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2016.

5. Dolores J.S., Agarwal S., Egerer M., Satchell K.J.F. *Vibrio cholerae* MARTX toxin heterologous translocation of beta-lactamase and roles of individual effector domains on cytoskeleton dynamics. *Mol. Microbiol.* 2015; 95(4):590–604. DOI: 10.1111/mmi.12879.

6. Dolores J., Satchell K.J.F. Analysis of *Vibrio cholerae* genome sequences reveals unique *rtxA* variants in environmental strains and an *rtxA* null-mutation in recent altered El Tor isolates. *MBio* 2013; 4(2):e00624. DOI: 10.1128/mBio.00624-12.

7. Gavin H.E., Satchell K.J.F. MARTX toxins as effector delivery platforms. *Pathog. Dis.* 2015; 73(9):ftv092. DOI: 10.1093/femspd/ftv092.

8. Hoiczky E., Roggenkamp A., Reichenbecher M., Lupas A., Heesemann J. Structure and sequence analysis of *Yersinia* YadA and *Moraxella* UspAs reveal a novel class of adhesins. *EMBO J.* 2000; 19(22):5989–99. DOI: 10.1093/emboj/19.22.5989.

9. Kachwamba Y., Mohammed A.A., Lukupulo H., Urrio L., Majigo M., Mosha F., Matonya M., Kishimba R., Mghamba J., Lusekelo J., Nyanga S., Almeida M., Li S., Domman D., Massele S.Y., Stine O.C. Genetic characterization of *Vibrio cholerae* O1 isolates from outbreaks between 2011 and 2015 in Tanzania. *BMC Infect. Dis.* 2017; 17(1):157. DOI: 10.1186/s12879-017-2252-9.

10. Kudryashov D.S., Durer Z.A.O., Ytterberg A.J., Sawaya M.R., Pashkov I., Prochazkova K., Yeates T.O., Loo R.R., Loo J.A., Satchell K.J., Reisler E. Connecting actin monomers by iso-peptide bond is a toxicity mechanism of the *Vibrio cholerae* MARTX toxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105(47):18537–42. DOI: 10.1073/pnas.0808082105.

11. Olivier V., Salzman N.H., Satchell K.J.F. Prolonged colonization of mice by El Tor O1 depends on accessory toxins. *Infect. Immun.* 2007; 75(10):5043–51. DOI: 10.1128/IAI.00508-07.

12. Satchell K.J.F. Multifunctional-autoprocessing repeats-in-toxin (MARTX) Toxins of *Vibrios*. *Microbiol. Spectr.* 2015;3(3). DOI: 10.1128/microbiolspec.VE-0002-2014.

Authors:

Monakhova E.V., Arkhangel'skaya I.V., Pisanov R.V., Titova S.V. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Об авторах:

Монахова Е.В., Архангельская И.В., Писанов Р.В., Титова С.В. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Поступила 07.06.18.

Принята к публ. 18.06.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-78-82

УДК 616.98:579.852.11

Д.В. Печенкин, О.О. Фоменков, А.В. Еремкин, Г.Д. Елагин, Г.В. Куклина, Г.В. Барамзина, С.С. Ипатов

РАЗРАБОТКА ИММУНОФЕРМЕНТНОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ *BACILLUS ANTHRACIS*

Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны, Киров, Российской Федерации

Цель. Создание иммуноферментной тест-системы для выявления спор *Bacillus anthracis*. **Материалы и методы.** В работе использованы штаммы из Государственной коллекции микроорганизмов филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров) и мыши линии BALB/c. Гибридизацию В-лимфоцитов и миеломных клеток SP2/0-Ag14 проводили по методике G. Kohler и C. Milstein в модификации De St. Fazekas и P. Scheidegger. Клетки гибридом культивировали в перитонеальной полости мышей линии BALB/c. Моноклональные антитела выделяли из асцитных жидкостей осаждением сульфатом аммония и очисткой ионообменной хроматографией. Исследование специфической активности супернатантов гибридом, асцитных жидкостей, очищенных моноклональных антител проводили «сэндвич»-методом иммуноферментного анализа. Специфические компоненты создаваемых тест-систем подвергали сублимационному высушиванию в соответствующих защитных средах. **Результаты и выводы.** Получены гибридные клеточные линии, продуцирующие специфические моноклональные антитела к споровым антигенам *B. anthracis*, и асцитные жидкости, из которых выделены иммуноглобулины. Подобраны оптимальные сочетания моноклональных антител в качестве сенситина и в составе иммуноферментного конъюгата. Наибольшую чувствительность иммуноферментного анализа при выявлении споровых антигенов сибиреязвенного микроба обеспечила пара сенситин–конъюгат: 272E10G1–272F7A10. Определена оптимальная концентрация иммуноглобулинов для сенсibilизации планшета. Разработана иммуноферментная тест-система для выявления спор *B. anthracis* с пределом обнаружения $5,0 \cdot 10^5$ спор/мл. Показано отсутствие перекрестных реакций с близкородственными сапрофитами и гетерологичными микроорганизмами в концентрации $1,0 \cdot 10^8$ м.к./мл.

Ключевые слова: сибирская язва, моноклональные антитела, иммуноферментный анализ.

Корреспондирующий автор: Печенкин Денис Валериевич, e-mail: 23527@mail.ru.

Для цитирования: Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Еремкин А.В., Елагин Г.Д., Куклина Г.В., Барамзина Г.В., Ипатов С.С. Разработка иммуноферментной тест-системы для выявления *Bacillus anthracis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 3:78–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-78-82

D.V. Pechenkin, O.O. Fomenkov, A.V. Eremkin, G.D. Elagin, G.V. Kuklina, G.V. Baramzina, S.S. Ipatov

Development of Enzyme-Immunoassay for *Bacillus anthracis* Detection

Branch of the «48th Central Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Kirov, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was to develop enzyme-immunoassay test-kit for the detection of *Bacillus anthracis* spores. **Materials and methods.** Microbial cultures from the State Collection of Microorganisms at the premises of Affiliated Branch of the «48th Central Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation and BALB/c mice were used in the research. Hybridization of B-lymphocytes with SP2/0-Ag14 myeloma cells was performed according to G. Kohler and C. Milstein procedure in De St. Fazekas and P. Scheidegger modification. Hybridomas were cultured in the peritoneal cavity of BALB/c mice. Ascitic fluids were isolated from mice, precipitated with ammonium sulfate and purified by means of ion-exchange chromatography for preparation of monoclonal antibodies. Specific activity of hybridoma's supernatants, ascitic fluids, purified monoclonal antibodies was studied by «sandwich» ELISA. Specific components of test-kit were lyophilized in suitable cryoprotective medium. **Results and conclusions.** We have obtained new hybrid cell lines producing specific monoclonal antibodies against *Bacillus anthracis* spore antigens and ascitic fluids from which immunoglobulins were isolated. Optimum combinations of monoclonal antibodies as a sensitizer and a component of immunoperoxidase conjugates have been selected. Monoclonal antibodies 272E10G1-272F7A10 provide the highest sensitivity of ELISA for the detection of anthrax microbe spore antigens. Our enzyme-immunoassay test allows for identification of *Bacillus anthracis* spores in concentrations up to $5,0 \cdot 10^5$ spores per milliliter. No cross reaction with closely related saprophytes and other heterologous microorganisms in concentrations of $1,0 \cdot 10^8$ CFU per milliliter is observed.

Keywords: anthrax, monoclonal antibodies, enzyme-linked immunosorbent assay.

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

Corresponding author: Denis V. Pechenkin, e-mail: 23527@mail.ru.

Citation: Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Eremkin A.V., Elagin G.D., Kuklina G.V., Baramzina G.V., Ipatov S.S. Development of Enzyme-Immunoassay for *Bacillus anthracis* Detection. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 3:78–82. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-78-82

Received 06.06.18. Revised 19.06.18. Accepted 16.08.18.

Сибиреязвенная инфекция остается актуальной проблемой. Это обусловлено периодически возника-

ющими эпизоотическими вспышками, а также наличием на территории Российской Федерации много-

численных захоронений павших от сибирской язвы животных. Крупнейшая за последнее время вспышка зарегистрирована в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г., в ходе которой диагностировано 36 случаев заболевания людей, в том числе один с летальным исходом. Наибольшую опасность представляют споры сибирской язвы, которые способны неопределенно долго пребывать в почве, служащей резервуаром инфекции. Заражение происходит преимущественно в результате контакта с больными животными, их трупами или продуктами животноводства [1, 6].

В связи с высокой актуальностью вопросов специфической индикации сибиреязвенных бацилл в России и в мире в целом активно ведутся работы по совершенствованию существующих, а также разработке новых средств и методов выявления *B. anthracis* [4, 7, 13]. Широкое применение находят иммуноферментные наборы реагентов, используемые в настоящее время в лабораторной практике и доказавшие свою надежность и эффективность. Для создания современных средств иммунодиагностики часто используются моноклональные антитела (МКАТ), применение которых значительно повышает чувствительность, специфичность и воспроизводимость результатов анализа.

В рамках настоящей работы проведен комплекс исследований по получению специфических МКАТ к споровым антигенам *B. anthracis*, созданию на их основе иммуноферментной тест-системы для выявления возбудителя сибирской язвы, а также ее лабораторно-экспериментальному изучению.

Материалы и методы

При получении гибридом-продуцентов моноклональных антител к споровым антигенам сибиреязвенного микроба проводили иммунизацию мышей линии BALB/c путем подкожного введения животным сорбированной на геле гидроокиси алюминия смеси спор *B. anthracis* штаммов СТИ-1, Ихтиман, Sterne-34F2, ГИЭВ-III, трехкратно в возрастающих дозах ($2,0 \cdot 10^8$; $4,0 \cdot 10^8$; $8,0 \cdot 10^8$ спор на животное) с интервалом 21 день. Заключительную иммунизацию осуществляли внутрибрюшинным введением 800 млн спор вышеуказанной смеси штаммов *B. anthracis* в 0,9 % растворе натрия хлорида через 20 дней после окончания циклической схемы иммунизации.

Гибридизацию В-лимфоцитов мышей линии BALB/c и клеток миеломы SP2/0-Ag14 проводили на четвертые сутки после заключительной иммунизации по методике G. Kohler и C. Milstein [10] в модификации De St. Fazekas и P. Scheidegger [9] с использованием 50 % раствора полиэтиленгликоля с молекулярной массой 1450 (Sigma-Aldrich, США).

Скрининг первичных гибридных культур проводили трижды, начиная с 10-х суток после гибридизации, с интервалом три дня в «сэндвич»-варианте им-

муноферментного анализа (ИФА). Для тестирования использовали 96-луночные планшеты (Nunc, Дания), сенсibilизированные спорами *B. anthracis* в концентрации $3,0 \cdot 10^7$ спор в 1 мл в 50 мМ карбонатно-бикарбонатном буфере (КББ) с pH 9,6, кроме того, второе и третье тестирование всех позитивных культур проводили с использованием гетерологичных сапрофитов *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, взятых в концентрации 100 млн спор в 1 мл. Супернатанты исследуемых гибридных клеток вносили в сенсibilизированные лунки планшетов в объеме 100 мкл. В рабочем разведении применяли конъюгат кроличьих иммуноглобулинов с пероксидазой хрена против иммуноглобулинов мыши (Sigma-Aldrich, США). В качестве субстрата использовали о-фенилендиамин (Sigma-Aldrich, США). Оптическую плотность измеряли на фотометре Multiskan (Labsystems, США) при длине волны 492 нм (ОП₄₉₂). Пробу считали положительной, если ОП₄₉₂ в лунке с исследуемыми пробами в два и более раза превышала ОП₄₉₂ раствора в лунке с отрицательным контролем.

Клонирование культур гибридных клеток проводили методом лимитирующих разведений из расчета одна клетка на лунку. Продуцирующую активность отдельных клонов определяли методом ИФА («сэндвич»-вариант), начиная с 10-х суток дважды с интервалом в три дня.

Для получения асцитных жидкостей мышам гистосовместимой линии интраперитонеально вводили клонированные гибридные клетки в дозе 2 млн клеток на животное. Для поддержания роста гибридом за 10 дней до инокуляции культур гибридных клеток мышам-реципиентам внутрибрюшинно вводили по 0,3 мл минерального масла пристана (Sigma-Aldrich, США). Извлечение асцитной жидкости, содержащей МКАТ, проводили на 15–20 сут. Иммуноглобулины из асцитных жидкостей выделяли путем осаждения 40 % раствором сульфата аммония с последующей очисткой методом ионообменной хроматографии [2].

Синтез конъюгатов МКАТ с пероксидазой хрена (Sigma-Aldrich, США) осуществляли методом периодатного окисления [12]. Рабочее разведение конъюгатов определяли методом «шахматного титрования» [2]. Субкласс иммуноглобулинов устанавливали методом иммунохроматографического анализа с использованием набора для изотипирования IsoQuick (Sigma-Aldrich, США), а концентрацию белка в очищенных препаратах иммуноглобулинов – по методу Лоури [11].

С целью выбора препаратов МКАТ, обеспечивающих наибольшую чувствительность иммуноферментного анализа при выявлении споровых антигенов *B. anthracis*, в качестве сенситина и основы для приготовления иммунопероксидазного конъюгата опробованы различные комбинации специфических иммуноглобулинов, продуцируемых полученными гибридными клонами. Для этого планшет сенсibilизировали очищенными МКАТ к споровым анти-

генам сибиреязвенного микроба в концентрации 20,0 мкг/мл в 50 мМ КББ с pH 9,6. После отмывки в лунки планшета вносили микробные культуры *B. anthracis* в концентрации от $8,0 \cdot 10^6$ спор в 1 мл и проводили двукратное разведение до концентрации $6,25 \cdot 10^4$ спор/мл. На следующем этапе, после отмывки, вносили приготовленные иммунопероксидазные конъюгаты в рабочем разведении. Реакцию учитывали определением оптической плотности при длине волны 492 нм через 20 мин после внесения субстратно-индикаторной смеси. Результат считали положительным, если ОП₄₉₂ в лунках с исследуемыми пробами превышала величину 0,3. При этом фоновые значения иммунопероксидазных конъюгатов не должны превышать величину ОП₄₉₂ равную 0,15.

Для определения оптимальной концентрации иммуноглобулинов для сенсибилизации в лунки планшета вносили раствор МКАТ в 50 мМ КББ в концентрации от 20,0 мкг/мл до 0,625 мкг/мл с шагом два. Планшет инкубировали в течение 60 мин при температуре 37 °С.

Для приготовления готовых форм иммуноферментных тест-систем специфические компоненты переводили в защитную среду высушивания до концентрации, в 11 раз превышающей рабочее разведение, фасовали в ампулы и лиофилизировали. Для иммуноферментного конъюгата использовали среду высушивания, состоящую из 10 % сахарозы, 5,0 мг/мл нормальных мышинных иммуноглобулинов в 0,5 М ТРИС-НСl с pH 7,4. В качестве защитной среды высушивания для иммуноглобулинов применяли 5 % раствор сахарозы в 0,5 М КББ с pH 9,6. Лиофилизацию проводили на установке для сублимационного высушивания «АЛСУ» (ООО ОКБ «Фармбиомаш», Россия).

Оценку минимальной выявляемой концентрации (чувствительности) проводили с использованием микробных культур *B. anthracis* штаммов СТИ-1, 55-ВНИИВВиМ, Ихтиман, Sterne-34F2, ГИЭВ-III и Ч-7. Для оценки специфичности тест-систем в отношении гетерологичных микроорганизмов использовали культуры: *Bacillus cereus* (2 штамма), *Bacillus subtilis* (2), *Bacillus megaterium* (2), *Burkholderia mallei* (3), *Burkholderia pseudomallei* (3), *Brucella abortus* (4), *Brucella melitensis* (2), *Brucella suis* (2), *Escherichia coli* (1), *Francisella tularensis* (3),

Legionella pneumophila (3), *Yersinia enterocolitica* (3), *Yersinia pestis* (1), *Yersinia pseudotuberculosis* (3), *Vibrio cholerae* (1) в концентрации $1,0 \cdot 10^8$ м.к./мл.

Концентрацию спор *B. anthracis* определяли подсчетом в камере Горяева [3, 5].

Приготовление микробных взвесей с заданной концентрацией проводили визуально с помощью отраслевых стандартных образцов мутности (ОСО 42-28-85, Россия).

Работы с лабораторными животными проводились в соответствии с международными этическими нормами, законодательством Российской Федерации и нормативными документами учреждения.

Результаты и обсуждение

В ходе исследований проведено два эксперимента по гибридизации клеток мышинной миеломы и В-лимфоцитов иммунизированных мышей гистосовместимой линии. В результате тестирования гибридных культур выявлено 149 первично-позитивных гибридных линий клеток, продуцирующих антитела к споровым антигенам возбудителя сибирской язвы. Из дальнейшей работы исключено 136 клеточных культур (91,3 %), дающих перекрестную реакцию с гетерологичными сапрофитами. Из оставшихся клонировали три первичные культуры с лучшими ростовыми и секреторными свойствами. Характеристики МКАТ, полученных в результате культивирования клонов гибридных клеточных линий *in vitro* и *in vivo*, представлены в табл. 1.

Полученные МКАТ характеризовались титрами антител в ИФА в культуральной и асцитной жидкостях на уровне 1:1280–1:2560 и 1:320000–1:1280000 соответственно. Специфическая активность в препаратах иммуноглобулинов находилась на уровне титров антител в ИФА 1:640000 и выше, а концентрация белка – на уровне 8,6 мг/мл и более.

Результаты исследований по экспериментальному выбору моноклональных антител для сенсибилизации планшетов и использования в составе иммунопероксидазных конъюгатов представлены в табл. 2.

Представленные результаты свидетельствуют о том, что различные сочетания МКАТ гибридных клеточных линий 272E10G1, 272F7A10, 278H4A7, используемые для сенсибилизации планшетов и в составе иммунопероксидазного конъюгата, позволя-

Таблица 1 / Table 1

Характеристики моноклональных антител к споровым антигенам *B. anthracis*
Characteristics of monoclonal antibodies to spore antigens of *B. anthracis*

Наименование МКАТ	Титр антител в ИФА в культуральной жидкости	Титр антител в ИФА в асцитной жидкости	Субкласс иммуноглобулинов	Титр антител в ИФА в препаратах иммуноглобулинов	Концентрация белка в препаратах иммуноглобулинов, мг/мл
272E10G1	1:2560	1:1280000	G ₁	1:3200000	17,0
272F7A10	1:1280	1:320000	G ₁	1:640000	8,6
278H4A7	1:2560	1:640000	G _{2a}	1:3200000	15,3

Примечание: в таблице представлены медианы титров антител (n=5)

Таблица 2 / Table 2

Данные по различным сочетаниям моноклональных антител при выявлении *B. anthracis* штамма СТИ-1, полученные в результате проведения иммуноферментного анализа

The data on various combinations of monoclonal antibodies in case of *B. anthracis* STI-1 indication based on enzyme immunoassay

Наименование МКАТ, используемых для сенсibilизации планшетов	Минимальная выявляемая концентрация микробной культуры <i>B. anthracis</i> штамма СТИ-1, с использованием иммунопероксидазного конъюгата на основе МКАТ гибридной клеточной линии ..., $\cdot 10^5$ спор в 1 мл		
	272E10G1	272F7A10	278H4A7
272E10G1	10,0	1,25	2,5
272F7A10	5,0	10,0	2,5
278H4A7	10,0	10,0	20,0

Примечания: результаты анализа являются полуколичественными; в таблице представлены медианы минимальных выявляемых концентраций (n=5).

ют методом ИФА выявлять споровые антигены вакцинного штамма СТИ-1 сибирезвездного микроба в концентрации $1,25 \cdot 10^5$ спор в 1 мл и более. Пары «сенситин–конъюгат», обеспечивающие в ИФА наибольший порог чувствительности, изучены с расширенной панелью штаммов возбудителя сибирской язвы. Результаты проведенных исследований представлены в табл. 3.

В результате проведенных исследований установлено, что наибольшую чувствительность ИФА при выявлении различных штаммов *B. anthracis* обеспечивает пара сенситин–конъюгат: 272E10G1–272F7A10. Продуцируемые этими гибридами антитела использованы в качестве специфических компонентов при конструировании иммуноферментной тест-системы.

В результате определения влияния сенсibilизирующей дозы МКАТ на чувствительность и воспроизводимость ИФА установлено, что оптимальная концентрация иммуноглобулинов для сенсibilизации планшета в течение одного часа при температуре 37 °C составляет 5,0 мкг/мл.

На специально оборудованной аппаратурно-

технологической линии был осуществлен выпуск трех лабораторных серий тест-системы для выявления *B. anthracis* и проведено ее лабораторно-экспериментальное изучение. При оценке чувствительности и специфичности образцов тест-системы различных серий установлено, что она обеспечивает выявление различных штаммов сибирезвездного микроба в концентрации $1,25 \cdot 10^5$ спор в 1 мл и более, при этом не дает ложноположительных результатов при изучении культур гетерологических микроорганизмов в концентрации $1,0 \cdot 10^8$ м.к./мл.

Таким образом, в результате проведенных исследований, реализован комплекс мероприятий по получению моноклональных антител к споровым антигенам возбудителя сибирской язвы. Разработана иммуноферментная тест-система для выявления спор *B. anthracis*, которая по своим индикаторным характеристикам не уступает отечественным и зарубежным аналогам на основе моноклональных антител [5, 8].

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

Таблица 3 / Table 3

Чувствительность иммуноферментного анализа при выявлении споровых антигенов возбудителя сибирской язвы

Sensitivity of enzyme-linked immunoassay in case of *B. anthracis* spore antigens detection

Наименование МКАТ, используемых для сенсibilизации планшетов	Наименование МКАТ в составе иммунопероксидазного конъюгата	Минимальная выявляемая концентрация микробной культуры <i>B. anthracis</i> штамма ..., $\cdot 10^5$ спор в 1 мл				
		55-ВНИИВВиМ	Ихтиман	Sterne-34F2	ГИЭВ-III	Ч-7
272E10G1	272F7A10	1,25	1,25	2,5	1,25	5,0
	278H4A7	2,5	2,5	2,5	2,5	5,0
272F7A10	278H4A7	1,25	1,25	5,0	2,5	10,0

Примечания: результаты анализа являются полуколичественными; в таблице представлены медианы минимальных выявляемых концентраций (n=5).

Список литературы

- Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Буравцева Н.П. Современная ситуация по сибирской язве в России и мире. Основные тенденции и особенности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 1:65–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-65-71.
- Кэtti Д., редактор. Антитела. Методы. М.: Мир; 1991. Т. 1. 287 с.
- Нетрусов А.И., редактор. Практикум по микробиологии: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. М.: Издательский центр «Академия»; 2005. 608 с.

- Онищенко Г.Г., Кожухов В.В., редакторы. Сибирская язва: актуальные проблемы разработки медицинских средств защиты. М.: ОАО «Издательство «Медицина»; 2010. 424 с.

- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.

- Павлов Д.Л., Онучина Н.В., Кузнецовский А.В., Фоменков О.О., Туманов А.С. Результаты исследования биологических и генетических свойств сибирезвездных изолятов эпизоотии 2016 года в Ямало-Ненецком автономном округе. *Вестник войск РХБ защиты*. 2017; 1(1):23–32.

7. Терешкина Н.Е., Девдариани З.Л. Современное состояние проблемы иммунодетекции возбудителя сибирской язвы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2008; 1:44–8.

8. Bartholomew R.A., Ozanich R.M., Arce J.S., Engelmann H.E., Heredia-Langner A., Hofstad B.A., Hutchison J.R., Jarman K., Melville A.M., Victry K.D., Bruckner-Lea C.J. Evaluation of Immunoassays and General Biological Indicator Tests for Field Screening of *Bacillus anthracis* and Ricin. *Health Secur*. 2017; 15:81–95. DOI: 10.1089/hs.2016.0044.

9. Fazekas de St. Groth S., Scheidegger D. Production of monoclonal antibodies: strategy and tactics. *J. Immunol. Meth*. 1980; 35:1–21.

10. Köhler G., Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975; 256(5517):495–7.

11. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*. 1951; 193 (1):265–75.

12. Nakane P.K., Kawaoi A. Peroxidase-labeled antibody a new method of conjugated. *J. Histochem. Cytochem*. 1974; 22(12):1084–1091.

13. Wang D.-B., Yang R., Zhang Z.-P., Bi L.-J., You X.Y., Wei H.P., Zhou Y.F., Yu Z., Zhang X.E. Detection of *B. anthracis* spores and vegetative cells with the same monoclonal antibodies. *PLoS ONE*. 2009; 4(11): e7810. DOI: 10.1371/journal.pone.0007810.

References

1. Yermenko E.I., Ryazanova A.G., Buravtseva N.P. [Current situation on anthrax in Russia and in the world. Main trends and features]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 1:65–1. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-65-71.

2. Ketti D., editor. [Antibodies. Methods]. Moscow: “Mir”, 1991. Vol. 1. 287 p.

3. Netrusov A.I., editor. [Workshop on microbiology: Textbook for students of Higher Educational Institutions]. Moscow: «Academia»; 2005. 608 p.

4. Onischenko G.G., Kozhukhov V.V., editors. [Anthrax: relevant problems of elaboration of medical means of protection]. Moscow: Open Joint Stock Company «Publishing house «Medicine»; 2010. 424 p.

5. Onishchenko G.G., Kutryev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Dangerous Infectious Diseases. Practice guidelines]. M.: CJSC «Shiko»; 2013. 560 p.

6. Pavlov D.L., Onuchina N.V., Kuznetsovsky A. V., Fomenkov O.O., Tumanov A. S. [Results of the study of biological and genetic

properties of anthrax isolates obtained during epizooty, 2016 in the Yamal-Nenets Autonomous District]. *Vestnik Voisk Radiotsionnoi, Khimicheskoi i Biologicheskoi Zashchity*. 2017; 1(1):23–32.

7. Tereshkina N.E., Devdariani Z.L. [Present status of the anthrax pathogen immunodiagnosis]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; 1(95): 44–8.

8. Bartholomew R.A., Ozanich R.M., Arce J.S., Engelmann H.E., Heredia-Langner A., Hofstad B.A., Hutchison J.R., Jarman K., Melville A.M., Victry K.D., Bruckner-Lea C.J. Evaluation of Immunoassays and General Biological Indicator Tests for Field Screening of *Bacillus anthracis* and Ricin. *Health Secur*. 2017; 15:81–95. DOI: 10.1089/hs.2016.0044.

9. Fazekas de St. Groth S., Scheidegger D. Production of monoclonal antibodies: strategy and tactics. *J. Immunol. Meth*. 1980; 35:1–21.

10. Köhler G., Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975; 256(5517):495–7.

11. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem*. 1951; 193 (1):265–75.

12. Nakane P.K., Kawaoi A. Peroxidase-labeled antibody a new method of conjugated. *J. Histochem. Cytochem*. 1974; 22(12):1084–1091.

13. Wang D.-B., Yang R., Zhang Z.-P., Bi L.-J., You X.Y., Wei H.P., Zhou Y.F., Yu Z., Zhang X.E. Detection of *B. anthracis* spores and vegetative cells with the same monoclonal antibodies. *PLoS ONE*. 2009; 4(11): e7810. DOI: 10.1371/journal.pone.0007810.

Authors:

Pechenkin D.V., Fomenkov O.O., Eremkin A.V., Elagin, G.D. Kuklina G.V., Baramzina G.V., Ipatov S.S. Branch of the «48th Central Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Kirov, Russian Federation. E-mail: 23527@mil.ru.

Об авторах:

Печенкин Д.В., Фоменков О.О., Еремкин А.В., Елагин Г.Д., Куклина, Г.В. Барамзина Г.В., Ипатов С.С. Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, Киров. E-mail: 23527@mil.ru.

Поступила 06.06.18.

Отправлена на доработку 19.06.18.

Принята к публ. 16.08.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-83-87

УДК 616.932(574-25)

З.А. Сагиев¹, Р.С. Мусагалиева¹, А.А. Абдирасилова¹, Т.З. Аязбаев¹, М.М. Кульбаева¹,
А.Б. Молдагасимова³, А.С. Жунусова¹, И.Б. Утепова¹, Э.Ж. Бегимбаева¹, У.А. Избанова¹,
Г.М. Омашева², З.С. Турлиев², Ж.Ж. Иманбекова³, Н.Ш. Ниязбеков⁴

О ЗАВОЗНЫХ СЛУЧАЯХ ХОЛЕРЫ В ГОРОД АЛМАТЫ В 2017 г., КАЗАХСТАН

¹РГП на ПХВ «Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М.Айкимбаева» МЗ РК, Алматы, Республика Казахстан; ²РГП на ПХВ «Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга» Комитета охраны общественного здоровья МЗ РК, Алматы, Республика Казахстан; ³РГУ «Департамент охраны общественного здоровья г. Алматы» Комитета охраны общественного здоровья МЗ РК, Алматы, Республика Казахстан; ⁴РГУ «Талдыкорганская противочумная» станция Комитета охраны общественного здоровья МЗ РК, Алматинское противочумное отделение, Республика Казахстан

В 2017 г. с 15 октября по 21 ноября в г. Алматы зарегистрировано пять завозных случаев холеры – три больных и два вибрионосителя. Заболевания людей закончились выздоровлением. **Цель работы** – характеристика завозных случаев холеры в г. Алматы в 2017 г.; изучение свойств штаммов холерного вибриона, выделенных от больных и вибрионосителей. **Материалы и методы.** Проанализированы истории болезни; исследованы сыроворотки крови и испражнения от больных и контактных, изучен спектр чувствительности к антибактериальным препаратам выделенных штаммов холерных вибрионов согласно «Методическим указаниям по лабораторной диагностике холеры» от 27.09.2010 г. № 252. Применены эпидемиологический, микробиологический, иммунологический и молекулярно-генетический методы исследования. **Результаты и обсуждение.** В результате молекулярно-генетических исследований в пробах материала от трех больных и двух контактных обнаружены гены специфичности холерного вибриона *wbeN* и гены эпидемической значимости *ctxA* и *tcpA*. Выделенные штаммы в двух случаях идентифицированы как *Vibrio cholerae* O1 Eltor Inaba, а в одном – *Vibrio cholerae* O1 Eltor Hykoshima, I группы Хейберга, токсигенные, гемолизнегативные, в пробе Грейга – вирулентные, высокочувствительные к ципрофлоксацину, доксицилину, эритромицину, тетрациклину и средней чувствительности к левомицетину. Установлено, что страна выноса болезни во всех случаях – Индия. Проведены соответствующие противоэпидемические и профилактические мероприятия по локализации и ликвидации очагов с целью предупреждения возможной угрозы эпидемического распространения инфекции среди населения.

Ключевые слова: холера, вибрионоситель, штаммы, антибиотики, контактные, профилактика.

Корреспондирующий автор: Сагиев Заурбек Акимханович, e-mail: zaurbeksagiyev@gmail.com.

Для цитирования: Сагиев З.А., Мусагалиева Р.С., Абдирасилова А.А., Аязбаев Т.З., Кульбаева М.М., Молдагасимова А.Б., Жунусова А.С., Утепова И.Б., Бегимбаева Э.Ж., Избанова У.А., Омашева Г.М., Турлиев З.С., Иманбекова Ж.Ж., Ниязбеков Н.Ш. О завозных случаях холеры в город Алматы в 2017 г., Казахстан. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:83–87. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-83-87

Z.A. Sagiev¹, R.S. Musagalieva¹, A.A. Abdirasilova¹, T.Z. Ayazbaev¹, M.M. Kul'baeva¹,
A.B. Moldagasimova³, A.S. Zhunusova¹, I.B. Utepova¹, E.Zh. Begimbaeva¹, U.A. Izbanova¹,
G.M. Omasheva², Z.S. Turliiev², Zh.Zh. Imanbekova³, N.Sh. Niyazbekov⁴

Concerning imported cases of cholera in the city of Almaty, Kazakhstan, 2017

¹M.Aikimbayev Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Infections, Almaty, Republic of Kazakhstan; ²Scientific and Practical Center for Sanitary-Epidemiological Expertise and Monitoring, Almaty, Republic of Kazakhstan; ³Department of Public Healthcare in Almaty city, Almaty, Republic of Kazakhstan; ⁴Taldykorgan Plague Control Station, Almaty Plague Control Department, Republic of Kazakhstan

Abstract. In 2017, from October 15 to November 21, 5 cholera cases imported from India – 3 patients and 2 carriers of *V. cholerae* – were recorded in Almaty. The patients recovered from the disease. **Objective** of the study was to characterize the imported cases of cholera and investigate the properties of cholera vibrio strains isolated from patients and carriers of *V. cholerae*. **Materials and methods.** Revised were the medical records; blood sera, feces from patients and contact persons were assayed. Studied were sensitivity spectrum to antibacterial preparations of isolated *V. cholerae* strains according to the “Methodological guidelines on laboratory diagnosis of cholera”, dated September 27, 2010; No 252. Epidemiological, microbiological, immunological and molecular-genetic methods were applied for investigation. **Results and conclusions.** Consequently to molecular genetic studies, genes of specificity, *wbeN* and toxicity (epidemic significance), *ctxA*, *tcpA* were detected in samples from 3 patients and 2 contact persons. The isolated strains were identified as *Vibrio cholerae* O1 Eltor Inaba in two cases, and in one case – as *Vibrio cholerae* O1 Eltor Hykoshima, Heiberg group I, toxigenic, hemolysis negative in Greig test, virulent, highly sensitive to ciprofloxacin, doxycilin, erythromycin, tetracycline and moderately sensitive to levomycetin. It was established that the country of export in all the cases was India. Relevant anti-epidemic and preventive measures were undertaken to localize and eradicate the foci in order to prevent possible threat of epidemic spread of infections among the population.

Key words: cholera, vibrio-carrier, strains, antibiotics, patients, contact persons, prevention.

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

Corresponding author: Zaurbek A. Sagiyev, e-mail: zaurbeksagiyev@gmail.com.

Citation: Sagiev Z.A., Musagalieva R.S., Abdirasilova A.A., Ayazbaev T.Z., Kul'baeva M.M., Moldagasimova A.B., Zhunusova A.S., Uteпова I.B., Begimbaeva E.Zh., Izbanova U.A., Omasheva G.M., Turliev Z.S., Imanbekova Zh.Zh., Niyazbekov N.Sh. Concerning imported cases of cholera in the city of Almaty, Kazakhstan, 2017. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:83–87. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-83-87
Received 10.07.18. Revised 31.07.18. Accepted 30.08.18

По оценке Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ситуация по холере в мире остается недооцененной [12]. При том, что официально регистрируемые цифры составляют несколько сотен случаев холеры в год, оценочная заболеваемость холерой в мире показывает около 2,9 млн случаев в год, четверть из них приходится на Индию [11]. Как показано Э.А.Москвитиной и соавт. [6], при наличии стойких эндемичных районов в 25 странах продолжается формирование в мире новых эндемичных территорий; основным эпидемиологическим риском в распространении холеры авторы выделяют заносы инфекции. Среди импортированных случаев холеры преобладают межгосударственные заносы в Азии (70 % всех завозных случаев) [7]. Стойкое неблагополучие в мире по холере обусловило необходимость разработки и запуска стратегии ВОЗ по контролю холеры – глобальной дорожной карты до 2030 г. Своевременный и полноценный обмен информацией является важным моментом при глобальном эпиднадзоре и контроле инфекционных болезней, способствующим эффективному предотвращению и сдерживанию эпидемий, это особенно подчеркивается в Международных медико-санитарных правилах (2005 г.) [4].

Казахстан является территорией, которая находится под реальной угрозой завоза холеры, т.к. ежедневно ввозятся грузы и прибывают пассажиры из стран с неблагополучной по данной инфекции ситуацией. Климатические условия не препятствуют ее распространению.

Цель данной работы – характеристика случаев холеры в Алматы в 2017 г.; изучение свойств штаммов холерного вибриона, выделенных от больных и вибрионосителей.

Материалы и методы

В работе использованы данные, полученные в ходе проведенного расследования случаев холеры у людей. Микробиологические исследования проводили согласно «Методическим указаниям по лабораторной диагностике холеры» от 27.09.2010 г. № 252 [5].

Изучение спектра чувствительности штаммов холерных вибрионов к антибактериальным препаратам определяли диско-диффузионным методом Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST) [2].

Для изучения агглютинабельности вибрионов использовали следующие сыворотки: диагностическая «О» холерная адсорбированная сухая (серия 222) и диагностическая холерная «Огава» адсорбированная сухая (серия 186) – обе производства Иркутского

НИПЧИ; диагностическая холерная «Инаба» (серия 79) и адсорбированная кроличья диагностическая холерная O139 (серия 86) – производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб».

Фаголизабельность культур изучали по методу Грация, использовали бактериофаги диагностические холерные классический и «Элтор» производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» (серия 52).

Серологическое исследование сывороток больных проводили в РНГА с антигенным эритроцитарным диагностикумом (КНЦКЗИ, C010416 К № 401).

Для молекулярно-генетической идентификации штаммов, обнаружения маркеров токсигенности и принадлежности к биовару Eltor и серогруппам O1 и O139 (*ctxA*, *tcpA*, *hly*, *wbeT*, *wbfR*) использовали: набор тест-системы «АмплиСенс *V. cholerae*-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии (серия № 12.10.07); экспериментальные тест-системы, разработанные Казахским научным центром карантинных и зоонозных инфекций им. М.Айкимбаева для детекции генов *wbfR*, *ompA*, *wbeN*. Исследование проводилось методом ПЦР.

Результаты оценивались по следующей схеме: наличие гена *wbeN* свидетельствует о присутствии в пробе ДНК *V. cholerae* серогруппы O1, генов *ctxA* и *tcpA* – о токсигенности и эпидемической значимости штаммов.

Результаты и обсуждение

В последние десятилетия случаи холеры в Республике Казахстан регистрировались в 1993, 1994, 1995, 1997, 1998, 2000, 2001, 2005, 2008 и 2014 гг. Проведенный ранее анализ данных эпидемических осложнений по холере в Республике Казахстан в этот период выявил их непосредственную связь с завозами извне, в основном, из сопредельных республик (Узбекистан, Таджикистан и др.) и таких стран как Пакистан и Индия. Лица, инфицированные возбудителем холеры, прибывали преимущественно авиатранспортом (Пакистан – 6, Турция – 2, Индия – 2, Индонезия – 1, Сингапур – 1), за исключением одного случая, когда больной из Ирана прибыл морским транспортом. С сопредельными государствами связаны 10 случаев завоза холеры (Узбекистан – 7, Таджикистан – 1, Кыргызстан – 1, Туркменистан – 1) [1, 3, 8, 10].

В 2017 г., в период с 15 октября по 21 ноября, в Алматы зарегистрировано три случая холеры и два случая вибриононосительства.

Первый случай холеры выявлен у гражданина Казахстана Ш.А. (43 года), руководителя спортивной группы, жителя Алматы, вернувшегося из Индии. В Нью-Дели вместе с женой Ш.О. он принимал участие в спортивном фестивале, проживал в отеле.

Заболевание связывают с употреблением в ресторане 14 октября блюда «ролл с рыбой». 15 октября у мужчины появилось урчание в животе и повышенное газообразование, затем профузный понос до 20 раз, многократная рвота, судороги. В Индии, до вылета в Алматы, лечился антибиотиками. В Алматы 17.10.2017 г. вместе с женой госпитализирован в городскую клиническую инфекционную больницу им. И.Жекенова (ГКИБ) с диагнозом «Острый гастроэнтероколит, тяжелое течение, гиповолемический шок 2 степени, острое поражение почек. Предположительный случай холеры». Состояние больного при поступлении классифицировалось как тяжелое, за счет дегидратации 3 степени и выраженного эксикоза. Заболевание закончилось выздоровлением.

Материал для исследования от больного и контактной с ним жены 18.10.2017 г. доставлен в ННЦСЭиМ, где методом ПЦР обнаружены гены *ctxA/tcpA*. При исследовании сывороток в РНГА выявлены антитела к холерному вибриону в титрах 1:160. 20.10.2017 г. в материале от больного Ш.А. и 23.10.2017 г. от его жены выделены штаммы холерного вибриона *V. cholerae* O1 Eltor Inaba.

С 19.10.2017 г. установлено медицинское наблюдение за прибывшими пассажирами авиарейса Нью-Дели – Алматы и контактировавшими с больным холерой работниками аэропорта. Новых случаев заболевания не выявлено.

В КНЦКЗИ проведена полная идентификация культур. В реакции агглютинации с «О» холерной сывороткой получены положительные результаты в титрах 1:1600, с холерной сывороткой «Инаба» титр составил 1:400. При микроскопии выявлены изогнутые палочки, подвижные, оксидазоположительные; отмечен рост микроорганизма на среде Меллера с лизином, орнитином, отсутствовал рост на среде с аргинином. Штаммы лизировались фагом «Эльтор» до титра 10^{-2} , отмечены рост на среде с полимиксином и положительная реакция Фогес-Проскауэра. Штаммы были гемолизнегативные, разжижали желатину, ферментировали глюкозу на среде Хью-Лейфсона. Установлена высокая чувствительность штаммов к левомицетину, тетрациклину, ципрофлоксацину, гентамицину, эритромицину и доксициклину.

Таким образом, выделенные от больного Ш.А. и контактной с ним Ш.О. (вибриононосителя) штаммы идентифицированы как *Vibrio cholerae* O1 Eltor Inaba, I группы Хейберга, имеющие ген специфичности *wbeN*, ген холерного токсина *ctxA* и ген токсинорегулируемых пилей *tcpA*; гемолизотрицательные; в пробе Грейга – вирулентные; высокочувствительные к ципрофлоксацину, доксициклину, эритромицину, тетрациклину и средней чувствительности к левомицетину. В сыворотке крови больного Ш.А. титр антител к холерному вибриону составил 1:2560.

Второй случай холеры выявлен у гражданки Р.К. (37 лет), неработающей жительницы Алматы, кото-

рая заболела 14.11.2017 г. в Индии (г. Гургаон), где находилась в период с 5 по 15 ноября 2017 г. Со слов больной, 14.11.2017 г., через час после употребления яичницы, появился жидкий стул до 30 раз, водянистый, обильный, тошнота, жар в теле, холодный пот. За медицинской помощью в Индии не обращалась, прилетела в Алматы 15.11.2017 г. и в тот же день госпитализирована в ГКИБ с диагнозом «Вероятный случай холеры». Заболевание закончилось выздоровлением.

Материал для исследования 16.11.2017 г. доставлен в КНЦКЗИ, где методом ПЦР обнаружены гены *wbeN*, *ctxA/tcpA*; в сыворотке крови методом РНГА с холерным эритроцитарным антигенным диагностиком выявлены специфические антитела в титрах 1:320.

Установлено медицинское наблюдение за 144 контактными, прибывшими с больной холерой авиарейсом Нью-Дели – Алматы, сотрудниками аэропорта и других служб. Проведено профилактическое лечение. Новых случаев заболевания не выявлено.

Третий случай заболевания холерой выявлен у больной Р., гражданки Индии, которая заболела 21.11.2017 г. в Индии, а прибыла в Алматы 22.11.2017 г. рейсом Нью-Дели – Алматы в качестве туриста. Р. госпитализирована в ГКИБ с диагнозом «Предположительный случай холеры». Состояние больной при поступлении было средней тяжести, с признаками обезвоживания. Заболевание больной закончилось выздоровлением.

Нативный материал от больной Р., гражданки Индии, и от контактного с ней Ш.Р., мужа больной, доставлен в КНЦКЗИ 23.11.2017 г.

В результате проведения ПЦР обнаружены гены *wbeN*, *ctxA*, *tcpA*. При микроскопии материала выявлены изогнутые палочки, подвижные, оксидазоположительные, гемолизнегативные; отмечен рост микроорганизма на среде Меллера с лизином, орнитином, отсутствовал рост на среде с аргинином. Отмечен лизис фагом «Эльтор» до титра 10^{-2} , рост на среде с полимиксином, положительная реакция Фогес-Проскауэра, разжижение желатины, ферментация глюкозы на среде Хью-Лейфсона. В развернутой реакции агглютинации с «О» холерной сывороткой получены положительные результаты в титрах 1:1600, с холерной сывороткой «Огава» – агглютинация до титра 1:1600, с холерной сывороткой «Инаба» титр составлял 1:400. В сыворотке крови методом РНГА с холерным эритроцитарным антигенным диагностиком выявлены специфические антитела в титрах 1:5120.

Выделенные штаммы от больной Р. и ее мужа (вибриононоситель) идентифицированы как *Vibrio cholerae* O1 Eltor Hykoshima, I группы Хейберга. Штаммы имеют ген специфичности *wbeN*, ген холерного токсина *ctxA* и ген токсинорегулируемых пилей *tcpA*, гемолизотрицательные, в пробе Грейга – вирулентные, высокочувствительные к ципрофлоксацину, доксициклину, эритромицину, тетрациклину.

За 86 прибывшими в Алматы контактными с больной холерой пассажирами рейса авиакомпании Эйр Астана установлено медицинское наблюдение.

Таким образом, в 2017 г. в период с 15 октября по 21 ноября в Алматы зарегистрировано три эпидемиологически не взаимосвязанных случая холеры, завезенных из Индии (гг. Нью-Дели и Гургаон провинции Jaipur), и два случая вибрионоительства у лиц, контактировавших с больными. Больные и контактные госпитализированы. В результате исследований в материале от трех больных и двух контактных обнаружены ген специфичности *wbeN*, ген холерного токсина *ctxA* и ген токсинорегулируемых пилей *tcpA*. Выделенные штаммы в двух случаях идентифицированы как *Vibrio cholerae* O1 Eltor Inaba, а в одном случае *Vibrio cholerae* O1 Eltor I группы Хейберга, токсигенные, гемолизнегативные в пробе Грейга, вирулентные, высокочувствительные к ципрофлоксацину, доксициклину, эритромицину, тетрациклину и средней чувствительности к левомицетину. Выделенные токсигенные штаммы не характерны для Казахстана (характеристика водных штаммов *V. cholerae*, выделенных на территории Казахстана в период с 2013 по 2015 год, показана И.Б. Утеповой и соавт. [9]), что подтверждает заносной характер инфекции.

Своевременно и адекватно проведенные мероприятия – ранняя постановка клинического диагноза, подтверждение его экспресс-методами, изоляция больных и лиц, подвергшихся наибольшему риску инфицирования, незамедлительное выявление других лиц, подвергшихся риску заражения и медицинское наблюдение за ними с проведением экстренной специфической профилактики по показаниям, проведение дезинфекционных мероприятий, в том числе в аэропорту, самолетах, местах проживания – позволили не допустить эпидемических осложнений на территории Казахстана. По схеме оповещения информировались соответствующие должностные лица санитарно-эпидемиологической службы.

На основании Постановления Главного Государственного санитарного врача № 21 от 27.11.2015 г. «О санитарно-противоэпидемических и санитарно-профилактических мероприятиях в Республике Казахстан по холере на 2016–2020 гг.» проведены:

- оценка готовности к работе в случае возникновения холеры лечебно-профилактических учреждений, клинико-диагностических и бактериологических лабораторий, городской инфекционной больницы;
- проверка оснащенности, обеспеченности антибиотиками, средствами регидратации, питательными средами и диагностическими препаратами, степени подготовленности медицинских работников, наличия схем оповещения и т.д. на случай возникновения очага холеры.

В настоящее время ежедневно в южную столицу прибывают и выбывают рейсом Нью-Дели –

Алматы и Алматы – Нью-Дели около 150 человек. Миграционной полицией города Алматы проводится регистрация всех прибывающих из Индии иностранных граждан.

В связи с возросшим риском завоза холеры усилен контроль за лицами, прибывающими из неблагополучных по холере стран (Индия, Пакистан, Турция, Иран, ОАЭ, Китай, Монголия и стран ближнего зарубежья). Проведены обследования на холеру объектов окружающей среды и лиц с дисфункцией кишечника, с легкими, средними и тяжелыми формами гастроэнтеритов. В полном объеме проведены все противоэпидемические и профилактические мероприятия.

Помимо настороженности эпидемиологической службы, необходимо участие в комплексе профилактических и противоэпидемических мероприятий других служб и ведомств. В целях предупреждения распространения холеры среди населения г. Алматы принято постановление главного государственного санитарного врача города «О введении ограничительных мероприятий по холере и другим особо опасным инфекциям», которым предписано проводить соответствующие профилактические меры также Акимату Алматы и Алматинскому отделенческому управлению общественного здравоохранения на транспорте, управлению здравоохранения города, руководителям гостиниц и туристических фирм.

На современном этапе цель, задачи и основные принципы эпидемиологического надзора за холерой, санитарной охраны территории в Казахстане согласуются с Международными медико-санитарными правилами (2005 г.) и отвечают международным требованиям и нормам.

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

Список литературы

1. Гражданов А.К., Кожанова О.И., Топорков А.В., Аязбаев Т.З., Матвеева Н.И., Карнаухов И.Г., Попов Н.В., Раздорский А.С., Архипова Г.Н. Сравнительный анализ проявлений опасных инфекций в Саратовской и Западно-Казахстанской областях в целях современной оценки эпидемиологических рисков. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 4:16–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-16-23.
2. Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST). Пограничные значения минимальных подавляющих концентраций и диаметров зон подавления роста для интерпретации результатов определения чувствительности. Версия 8.0, действует с 01.01.2018. [Электронный ресурс] URL: <http://www.antibiotic.ru/iacmac/ru/docs/eucast/eucast-clinical-breakpoints-bacteria-8.0-rus.pdf> (дата обращения: 20.06.2018).
3. Кульбаева М.М., Исмаилова А.О., Сагиев З.А., Алыбаев С.Д., Мусагалиева Р.С. Чувствительность к антибактериальным препаратам штаммов *V. cholerae*, выделенных от людей и объектов окружающей среды в Казахстане в 1982–2015 гг. В кн.: Актуальные вопросы современной медицины: Материалы II Международной конференции Прикаспийских государств (г. Астрахань, 5–6 октября 2017 г.). Астрахань: изд-во Астраханского ГМУ; 2017. 238 с.
4. Международные медико-санитарные правила. 3-е изд. ВОЗ; 2016. 92 с. [Электронный ресурс]. <http://www.who.int/ihr/publications/9789241580496/ru/> (дата обращения 15.06.18).
5. Методические указания по лабораторной диагностике холеры. Приложение к приказу Председателя Комитета государственного санитарно-эпидемиологического надзора

Министерства здравоохранения Республики Казахстан от 27 сентября 2010 г. № 252. [Электронный ресурс]. URL: http://online.zakon.kz/Document/?doc_id=31084558#pos=0;294.3999938964844 (дата обращения 13.06.18).

6. Москвитина Э. А., Тюленева Е.Г., Кругликов В.Д., Титова С.В., Водопьянов А.С., Куриленко М.Л., Пакскина Н.Д., Иванова С.М., Анисимова Г.Б., Водопьянов С.О., Олейников И.П. Холера: оценка эпидемиологической обстановки в мире и России в 2008–2017 гг. Прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:36–43. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-36-43.

7. Москвитина Э.А., Тюленева Е.Г., Самородова А.В., Кругликов В.Д., Титова С.В., Иванова С.М., Ковалева Т.В., Анисимова Г.Б. Эпидемиологическая обстановка по холере в мире и России в 2007–2016 гг., прогноз на 2017 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 1:13–20. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-13-20.

8. Мусагалиева Р.С., Атишбар Б.Б., Сагымбек У.А., Жолшорин А.Ж., Жумадилова З.Б., Сагиев З.А., Касенова А.К., Исмаилова А.О., Жунусова Г.С., Жолдасбекова А.С., Сайлаубек Р.С., Рахимов К.Р., Атовуллаева Л.М., Алиев Д.С., Медетов Ж.Б. Эпидемиологическая обстановка по холере в республике Казахстан за 2011 г. *Бюллетень ВШЦ СО РАМН*. 2012; 5(87):106–8.

9. Утепова И.Б., Сагиев З.А., Алыбаев С.Д., Кульбаева М.М., Исмаилова А.О., Абдирасилова А.А., Жунусова А.С., Алдибекова А.А., Карымсакова Н.Т., Исмакова А.М. Характеристика штаммов холерных вибрионов, выделенных на территории Казахстана. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(5):100–5. DOI: 10.12737/article_59e8597494f893.97278235.

10. Aikimbayev A.M., Bekenov J.Y., Meka-Mechenko T.V., Temiraliyeva G.A. The Epidemiological Surveillance of Highly Pathogenic Diseases in Kazakhstan. In: O'Connell K.P., Skowronski E.W., Bakanidze L., Sulakvelidze A., editors. *Emerging and Endemic Pathogens*. Springer Science + Business Media B.V.; 2010. P. 15–20. DOI 10.1007/978-90-481-9637-1_2 www.springer.com/cda/content/document/cda.

11. Ending Cholera—A Global Roadmap to 2030. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.who.int/cholera/publications/global-roadmap/en/> (дата обращения 18.06.2018).

12. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. WHO; 2018. 86 p. ISBN 978-92-4-156558-5.

References

1. Grazhdanov A.K., Kozhanova O.I., Toporkov A.V., Ayazbaev T.Z., Matveeva N.I., Karnaukhov I.G., Popov N.V., Razdorsky A.S., Arkhipova G.N. [Comparative analysis of particularly dangerous infections manifestations in the territory of the Saratov and West-Kazakhstan Regions with a view to advanced epidemiological risk assessment]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*. 2013; 4:16–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-16-23.

2. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoints of minimum inhibitory concentrations and growth inhibition zone diameters for interpretation of results of tests for susceptibility. Version 8.0, in place since January 01, 2018 (Cited 20 Jun 2018). [Internet]. Available from: <http://www.antibiotic.ru/iac-mac/ru/docs/eucast/eucast-clinical-breakpoints-bacteria-8.0-rus.pdf>.

3. Kul'baeva M.M., Ismailova A.O., Sagiev Z.A., Alybaev S.D., Musagalieva R.S. [Sensitivity to anti-microbial preparations of *V. cholerae* strains isolated from humans and ambient environment objects in Kazakhstan in 1982–2015]. In: *Relevant Issues of Modern Medicine: Proceedings of the II International Conference of the Caspian Sea Region countries* (Astrakhan, October 5–6, 2017). Astrakhan: Publishing House of the Astrakhan State Medical University, 2017. 238 p.

4. [International Health Regulations]. 3rd Edition. WHO; 2016. 92 p. (Cited 15 Jun 2018). [Internet]. Available from: <http://www.who.int/ihr/publications/9789241580496/ru/>.

5. [Methodological Regulations on Laboratory Diagnostics of Cholera]. Supplement to the Order of the Chairman of the Committee for State Sanitary-Epidemiological Surveillance, Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, dated September 27, 2010. No 252. (Cited 13 Jun 2018). [Internet]. Available from: http://online.zakon.kz/Document/?doc_id=31084558#pos=0;294.3999938964844.

6. Moskvitina E.A., Tyuleneva E.G., Kругликов V.D., Titova S.V., Vodop'yanov A.S., Kurilenko M.L., Pakskina N.D., Ivanova

S.M., Anisimova G.B., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P. [Cholera: assessment of epidemiological situation on cholera around the world and in Russia in 2008–2017. Forecast for 2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*. 2018; 1:36–43. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-36-43

7. Moskvitina E.A., Tyuleneva E.G., Samorodova A.V., Kругликов V.D., Titova S.V., Ivanova S.M., Kovaleva T.V., Anisimova G.B. [Epidemiological situation on cholera across the globe and in the Russian Federation in 2007–2016. Forecast for 2017]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*. 2017; 1:13–20. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-36-43.

8. Musagalieva R.S., Atshabar B.B., Sagymbek U.A., Zholshorinov A.Zh., Zhumadilova Z.B., Sagiev Z.A., Kasanova A.K., Ismailova A.O., Zhunusova G.S., Zholdasbekova A.S., Sailaubek R.S., Rakhimov K.R., Atovullaeva L.M., Aliev D.S., Medetov Zh.B. [Epidemiological situation on cholera in the Republic of Kazakhstan in 2011]. *Bulletin of the East-Siberian Scientific Center of Siberian Branch, RAMS*. 2012; 5(87):106–8.

9. Utepova I.B., Sagiev Z.A., Alybaev S.D., Kul'baeva M.M., Ismailova A.O., Abdirasilova A.A., Zhunusova A.S., Aldibekova A.A., Karymsakova N.T., Ismakova A.M. [Characteristics of cholera vibrio strains isolated in the territory of Kazakhstan]. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(5):100–5. DOI: 10.12737/article_59e8597494f893.97278235.

10. Aikimbayev A.M., Bekenov J.Y., Meka-Mechenko T.V., Temiraliyeva G.A. The Epidemiological Surveillance of Highly Pathogenic Diseases in Kazakhstan. In: O'Connell K.P., Skowronski E.W., Bakanidze L., Sulakvelidze A., editors. *Emerging and Endemic Pathogens*. Springer Science + Business Media B.V.; 2010. P. 15–20. DOI: 10.1007/978-90-481-9637-1_2 www.springer.com/cda/content/document/cda.

11. Ending Cholera – A Global Roadmap to 2030. (Cited 18 Jun 2018) [Internet]. Available from: <http://www.who.int/cholera/publications/global-roadmap/en/>.

12. World health statistics 2018: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. WHO; 2018. 86 p. ISBN 978-92-4-156558-5.

Authors:

Sagiev Z.A., Musagalieva R.S., Abdirasilova A.A., Ayazbaev T.Z., Kul'baeva M.M., Zhunusova A.S., Utepova I.B., Begimbaeva E.Zh., Izbanova U.A. M.Aikimbayev Kazakh Scientific Center for Quarantine and Zoonotic Infections. 14, Kapalskaya St., Almaty, 050054, Republic of Kazakhstan. E-mail: zaurbekzagiyev@gmail.com.

Omasheva G.M., Turliev Z.S. Scientific and Practical Center for Sanitary-Epidemiological Expertise and Monitoring. 84, Auezova St., Almaty, Republic of Kazakhstan. E-mail: Omasheva_g@mail.ru, zangarturliev@mail.ru.

Moldagasimova A.B., Imanbekova Zh.Zh. Department of Public Healthcare in Almaty city. 5, Zhibek Zholy St., Almaty, 050002, Republic of Kazakhstan. E-mail: doozalmaty@mz.gov.kz, Zh.imanbekova@mz.gov.kz.

Niyazbekov N.Sh. Taldykorgan Plague Control Station, Almaty Plague Control Department. 82, 70th Crossing, SMU Village, Almaty region, Republic of Kazakhstan. E-mail: nartainsh@bk.ru.

Об авторах:

Сагиев З.А., Мусагалиева Р.С., Абдирасилова А.А., Аязбаев Т.З., Кульбаева М.М., Жунусова А.С., Утепова И.Б., Бегимбаева Э.Ж., Избанова У.А. Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций им. М.Айкимбаева. Республика Казахстан, 050054, г. Алматы, ул. Капальская, 14. E-mail: zaurbekzagiyev@gmail.com.

Омашева Г.М., Турлиев З.С. Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга. Республика Казахстан, г. Алматы, ул. Ауэзова, 84. E-mail: Omasheva_g@mail.ru, zangarturliev@mail.ru.

Молдагасимова А.Б., Иманбекова Ж.Ж. Департамент охраны общественного здоровья г. Алматы Комитета охраны общественного здоровья МЗ РК. Республика Казахстан, 050002, Алматы, ул. Жибек жолы, 5. E-mail: doozalmaty@mz.gov.kz, Zh.imanbekova@mz.gov.kz.

Ниязбеков Н.Ш. Талдыкорганская противочумная станция, Алматинское противочумное отделение. Республика Казахстан, Алматинская область, 70 разъезд, пос. СМУ, 82. E-mail: nartainsh@bk.ru.

Поступила. 10.07.18.

Отправлена на доработку 31.07.18.

Принята к публ. 30.08.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-88-93

УДК 616.98:576.841.93

Н.И. Хаммадов¹, К.А. Осянин¹, К.В. Усольцев¹, Т.Х. Фаизов¹, А.В. Хаммадова², Э.А. Шуралев^{1,2,3}**МАРКЕРНЫЕ ЛОКУСЫ ГЕНОМА БРУЦЕЛЛ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ПЦР ИНДИКАЦИИ ПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ**¹ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Казань, Российская Федерация;²ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Российская Федерация; ³Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Казань, Российская Федерация

Цель работы направлена на разработку алгоритмов дифференциальной ПЦР индикации бактерий рода *Brucella* с использованием баз данных их геномов. **Материалы и методы.** В работе использовались ресурсы Национального центра биотехнологической информации (NCBI) и программные утилиты «BLAST» и «Vector NTI 9.1.0». Для ПЦР амплификации использовались нуклеиновые кислоты *B. suis*, *B. abortus*, *B. melitensis*, а также плазмидная ДНК с маркерными вставками. **Результаты и обсуждение.** Проанализированы последовательности генов бруцелл, одни из которых имеются у бактерий рода *Brucella*, другие лишь у представителей вида *B. melitensis*, третьи лишь у представителей вида *B. abortus*. В результате дизайна праймеров и зондов для индикации бактерий рода *Brucella* и представителей видов *B. melitensis* и *B. abortus* установлены критерии, позволяющие амплифицировать маркерные последовательности этих бактерий, с одновременной их дифференциацией в условиях одной реакции. Определение штаммовых различий в пределах одного вида бруцелл описано в методике мультилокусного VNTR анализа, а профили тандемных повторов различных штаммов *B. melitensis* и *B. abortus* имеются в открытом доступе. Для контроля хода амплификации разработан положительный контроль, имеющий нуклеотидную последовательность всех маркерных областей. По тексту статьи указаны все нуклеотидные последовательности праймеров, зондов и положительного контроля, что предоставляет возможность самостоятельного их приобретения в компетентных организациях.

Ключевые слова: бруцеллы, индикация, дифференциация, вид, штамм, ПЦР, MLVA

Корреспондирующий автор: Хаммадов Наиль Ильдарович, e-mail: nikhammadov@mail.ru.

Для цитирования: Хаммадов Н.И., Осянин К.А., Усольцев К.В., Фаизов Т.Х., Хаммадова А.В., Шуралев Э.А. Маркерные локусы генома бруцелл для дифференциальной ПЦР индикации патогенных штаммов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:88–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-88-93

N.I. Khammatov¹, K.A. Osyanin¹, K.V. Usol'tsev¹, T.Kh. Faizov¹, A.V. Khammatova², E.A. Shuralev^{1,2,3}

Marker Loci in Brucella Genome for Differential PCR Indication of Pathogenic Strains

¹Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation; ²Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation; ³Kazan State Medical Academy, Kazan, Russian Federation

Abstract. Objective of this work was to develop the algorithms for differential PCR indication of *Brucella* genus strains using databases of their genomes. **Materials and methods.** Resources of the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and BLAST and Vector NTI 9.1.0 software utilities. For PCR amplification, *B. suis*, *B. abortus*, *B. melitensis* nucleic acids, as well as plasmid DNA with marker insertions were used. **Results and conclusions.** We assessed brucella gene sequences, some of which are found in *Brucella* genus bacteria, others only in representatives of *B. melitensis*, and the third ones – only in representatives of *B. abortus*. As a result of primers and probes designing for indication of *Brucella* genus bacteria and representatives of *B. melitensis* and *B. abortus* species, criteria for marker sequence amplification have been established. These criteria provide for simultaneous differentiation in a single reaction. The determination of strain differences within one species of *Brucella* is described in multilocus VNTR assay technique, and the profiles of tandem repeats of various *B. melitensis* and *B. abortus* strains are available in the public domain. To monitor the progress of amplification, a positive control has been developed that has the nucleotide sequence of all marker regions. The text of the paper discloses all the nucleotide sequences of primers, probes and positive control, which makes it possible to independently acquire them in competent organizations.

Key words: *Brucella*, indication, differentiation, species, strain, PCR, MLVA.

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

Corresponding author: Nail I. Khammatov, e-mail: nikhammadov@mail.ru.

Citation: Khammatov N.I., Osyanin K.A., Usol'tsev K.V., Faizov T.Kh., Khammatova A.V., Shuralev E.A. Marker Loci in *Brucella* Genome for Differential PCR Indication of Pathogenic Strains. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:88–93. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-88-93

Received 09.07.18. Revised 17.08.18. Accepted 24.08.18.

Род *Brucella* объединяет девять самостоятельных видов, вызывающих заболевание у различных видов животных и человека. Так, в данный род входят следующие биологические виды: *B. melitensis*,

B. abortus, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis*, *B. canis*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis* и *B. microti* [4]. Обнаружение в скотоводческом хозяйстве *B. abortus*, овцеводческом хозяйстве и на козых фермах *B. melitensis*, на

свинокомплексе *B. suis* является причиной неблагополучия по бруцеллезу (СП 3.1.7.2613-10).

Особую актуальность представляет индикация особо опасного вида *B. melitensis*, представляющего опасность для человека. При этом наиболее высокий уровень заболеваемости по России, вызванный *B. melitensis*, отмечается в Северо-Кавказском и Южном федеральных округах [1, 5]. Ограничения, накладываемые на продукцию животноводства при бруцеллезе, а также подходы к его ликвидации, зависят от биологического вида возбудителя [8]. Быстрая и точная индикация вида возбудителя возможна при использовании ПЦР, основу которой составляет биоинформационный анализ [2]. Мультипраймерный подход при постановке ПЦР позволяет идентифицировать не только виды, но и штаммы различных патогенов [3]. Кроме видовой и родовой индикации бруцелл есть методики дифференциации различных штаммов одного вида, наиболее информативной методикой является анализ «вариабельного количества tandemных повторов» – VNTR или VNTR (variable number tandem repeats) [13, 14]. Цель исследования направлена на разработку алгоритмов дифференциальной ПЦР индикации бактерий рода *Brucella* с использованием баз данных их геномов.

Материалы и методы

Использованная в данной работе методология биоинформационного анализа геномов различных видов и штаммов бактерий рода *Brucella* с последующим дизайном праймеров и зонда имеет общие принципы, которые используются и для других микроорганизмов [6, 11]. Нуклеотидные последовательности бруцелл определены путем поисковых запросов баз данных ресурсов NCBI (Национального центра биологической информатизации). Специфичность и видовое (штаммовое) разнообразие выявляемых бруцелл (с применением анализируемого генетического маркера) определяли в программной утилите «BLAST», а дизайн нуклеотидных последовательностей праймеров и зондов проводили используя программу «Vector NTI 9.1.0» (Invitrogen Corporation). При этом учитывали возможность амплификации видовых и родовых ДНК-маркеров в одной реакции. В ходе дизайна праймеров и зондов конструировали также нуклеотидную последовательность, содержащую видовые и родовые ДНК-маркеры для контроля их амплификации.

Для ПЦР амплификации использовались нуклеиновые кислоты положительной плазмидной ДНК и ДНК, выделенной из бактериальных культур *B. suis*, *B. abortus*, *B. melitensis*. Выделение нуклеиновых кислот производили набором «МАГНО-сорб» вариант 100-200 согласно инструкции производителя. ПЦР осуществляли на амплификаторе C1000 с оптическим блоком CFX96 (BioRad). Методика проведения ПЦР амплификации аналогична описанной ранее [11], со следующими модификациями: зонд для

ПЦР, прямой и обратный праймеры применялись индивидуально (специфично) для каждого вида ПЦР; реакционная смесь для MLVA содержала 10х буфера для ПЦР с красителем EvaGreen. Температура отжига праймеров при определении видовой/родовой принадлежности составляла 60 и 51 °C для VNTR анализа, при этом детекция результата ПЦР (флуоресценции) происходит на каждом цикле ПЦР, при 60 °C по каналам FAM, Rox и R6G, для VNTR анализа при 51 °C по каналу FAM.

Результаты и обсуждение

Для подбора генов и локусов ДНК, пригодных для использования при индикации различных видов штаммов бруцелл, анализировали геномы следующих микроорганизмов: *B. abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *B. ovis*, *B. canis* и *B. microti*. Результатом такого анализа было определение следующих генов: locus «BSCP31» (шифр на сайте NCBI – KX529834) – для индикации рода *Brucella*; locus «BAW_20982» (расположен во второй хромосоме в позиции с 1003355 по 1004575 bp штамм Wisconsin) – для индикации *B. abortus*; locus «C0R52_12390» (локализован во второй хромосоме в позиции с 906042 по 906524 bp штамм B3) – для индикации *B. melitensis*.

В пределах представленных выше локусов произведен дизайн праймеров и зондов для ПЦР (таблица), при этом предъявлялись следующие требования: одинаковая температура плавления праймеров ($\pm 0,5$ °C); минимум димеров и вторичных структур; минимум GC на 3' конце; для зонда – отсутствие G на 5' конце (первый нуклеотид).

Локусы, применяемые при VNTR анализе бруцелл, имеются в открытом доступе на сайте <http://mlva.u-psud.fr/mlvav4/genotyping/query.php>, нуклеотидная последовательность этих локусов определена в базах данных NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/puccore>), основой такого поиска являлись нуклеотидные последовательности праймеров, использованных для VNTR анализа [7]. Для удобства постановки реакции выполнен редизайн праймеров, которые представлены в таблице с обозначением «Bru».

Разработанные праймеры для родовой и видовой индикации бруцелл имеют температуру плавления ($59,73 \pm 0,23$) °C, а праймеры для определения количества tandemных повторов имеют температуру плавления ($50,83 \pm 0,27$) °C, это позволяет проводить амплификацию каждой группы праймеров при единых условиях реакции (60 °C – отжиг праймеров при индикации бруцелл и 51 °C – отжиг праймеров при VNTR анализе).

Первым этапом работы при индикации вида и штамма бруцелл является определение видовой принадлежности исследуемого образца, после чего можно осуществить MLVA (мультилокусный VNTR анализ) для определения штаммов *B. abortus* и *B. melitensis*. Повторяющиеся последовательности ДНК могут содержать точечные замены. Размер ам-

Нуклеотидная последовательность разработанных праймеров и зондов для ПЦР

Nucleotide sequence of the designed primers and probes for PCR

Определяемый патоген / VNTR маркер	Кодировка праймера / зонда	Нуклеотидная последовательность 5'→3'
род <i>Brucella</i>	Bru F	tcgaatggctcggttgcca
	Bru R	cgggtaaacgctgccagaa
	Bru P	(Fam)cgatcaagtcgggcgtctgga(BHQ1)
<i>B. abortus</i>	Bru abortus F	gcaatcgtcgtattgccactataatcat
	Bru abortus R	gacggcgagcttctgaacaa
	Bru abortus P	(ROX)ccgaaagatcagcgtgccagaa(BHQ2)
<i>B. melitensis</i>	Bru meli F	tgcttggcacctcggaacac
	Bru meli R	attccgaaagccgatagattga
	Bru meli P	(R6G)tgaagcgtcgagacaaatttgaactcc(BHQ2)
Bru4	VBru4F	ctgacgaagggaaggcaa
	VBru4R	aggcgatctggagattatcg
Bru6	VBru6F	gggatgtgtagggtaatcg
	VBru6R	gcgtgacaatcgacttttg
Bru7	VBru7F	agctgacggggaagaacat
	VBru7R	ctttttcagtcaggcaaat
Bru8	VBru8F	attattcgagctcgtga
	VBru8R	caaacagaagggtttccagct
Bru9	VBru9F	catggcgagctgtctt
	VBru9R	gggagtattgtgtgtacatag
Bru11	VBru11F	gctgtgatctgacctgca
	VBru11R	ccagacaacaactacgtct
Bru16	VBru16F	ggagttttgtgtcattgtt
	VBru16R	gccatgttccgttgattat
Bru18	VBru18F	atgttagggcaataggcgag
	VBru18R	gatgggtgagagcattgtgaag
Bru19	VBru19F	cgaccggaccatgtct
	VBru19R	tcaccgtaacgtctggat
Bru21	VBru21F	gctcatcgcaacaaaa
	VBru21R	atctcgtggtcgataatctcatt
Bru30	VBru30F	tgaccgcaaacatatcc
	VBru30R	aatatgtcgagcgttcatgttc
Bru42	VBru42F	tcgcctcaactataccgtca
	VBru42R	accgcaaaattacgcatc
Bru43	VBru43F	tcaagccgatattgagaat
	VBru43R	tccgctgccccataaac
Bru45	VBru45F	tcatccttgctctccctac
	VBru45R	gggtaaatcaatggcttgg
Bru55	VBru55F	aggctgttctgcatgtctt
	VBru55R	tctggcggttcgagttgttc

плифицируемого продукта складывается из «размера ампликона без повторов» и числа повторов «размера варибельного участка», содержащегося в геноме конкретного штамма. Анализ количества таких повторов осуществляли путем определения размера ампликона (по результатам электрофореза). MLVA профиль (характеристика количества tandemных повторов по нескольким VNTR локусам) штаммов

и изолятов *B. abortus* и *B. melitensis* представлен по ссылке <http://vnivi.ru/images/mlva.xls>. Кроме того, в данном файле имеется возможность установления количества tandemных повторов по каждому из локусов анализируемого образца. Определение количества tandemных повторов в анализируемом локусе опирается на информацию о размере амплифицируемого фрагмента. Использование вышеуказанного документа сводится к введению установленного в результате электрофореза размера ампликона в соответствующую строку (строка соответствует анализируемому локусу, название локуса указано в столбце «D») столбца «F», количества tandemных повторов в анализируемом локусе документ рассчитает без участия пользователя (автоматически), результат расчета будет представлен в соответствующей строке (строка соответствует анализируемому локусу, название локуса указано в столбце «D») столбца «G». Получив данные о количестве tandemных повторов по каждому локусу, будет составлен MLVA профиль для анализируемого образца, а сопоставив его с имеющимися в том же документе MLVA профилями известных штаммов *B. abortus* и *B. melitensis*, можно установить MLVA-тип штамма в исследуемом образце.

Для контроля результата амплификации был создан положительный контроль, представляющий собой специфическую вставку (содержащую все маркерные локусы) в плазмидной ДНК. Нуклеотидная последовательность вышеупомянутой вставки, с направлением молекулы 5'→3' «5'tcgaatggctcggttgccagc aatcgtcgtattgccactataatcattgcttggcacctcggaacaccgatcaa gtcggcgctctggaccgaaaggatcagcgtgccagaatgaagcgctgca gacaaatttgaactccttctggcgacgtttaccggtgttcgagaactcgcc gtctcaactctatcggttctcggaatg3'» визуально представлена на рис. 1, с отображением маркерных участков каждого праймера и зонда. ПЦР с таким контролем инициирует синтез ампликона 162–164 bp, на каждый из выявляемых маркеров.

Сконструированный в итоге плазмидный вектор «pAL2-T» с разработанной вставкой синтезирован по нашему заказу в ЗАО «Евроген». Данную плазмиду и ДНК бруцелл амплифицировали с разработанными выше праймерами и зондами. Результат амплификации олигонуклеотидов для индикации бактерий рода *Brucella* и определения их принадлежности к видам *B. melitensis* и *B. abortus* изображен на рис. 2 А, а рис. 2 В демонстрирует амплификацию ДНК бруцелл с праймерами для VNTR анализа в присутствии красителя EvaGreen.

Амплификация с праймерами для индикации рода *Brucella* и видов *B. abortus*, *B. melitensis* и ДНК положительного контроля среагировала положительно, что подтверждает правильность составления реакционной смеси и корректность режимов ПЦР. В результате амплификации с ДНК *B. suis* положительный результат установлен лишь с родовыми праймерами и зондом (по каналу FAM), так как в геноме данного микроорганизма нет маркерных участков характерных для *B. abortus* и *B. melitensis*.

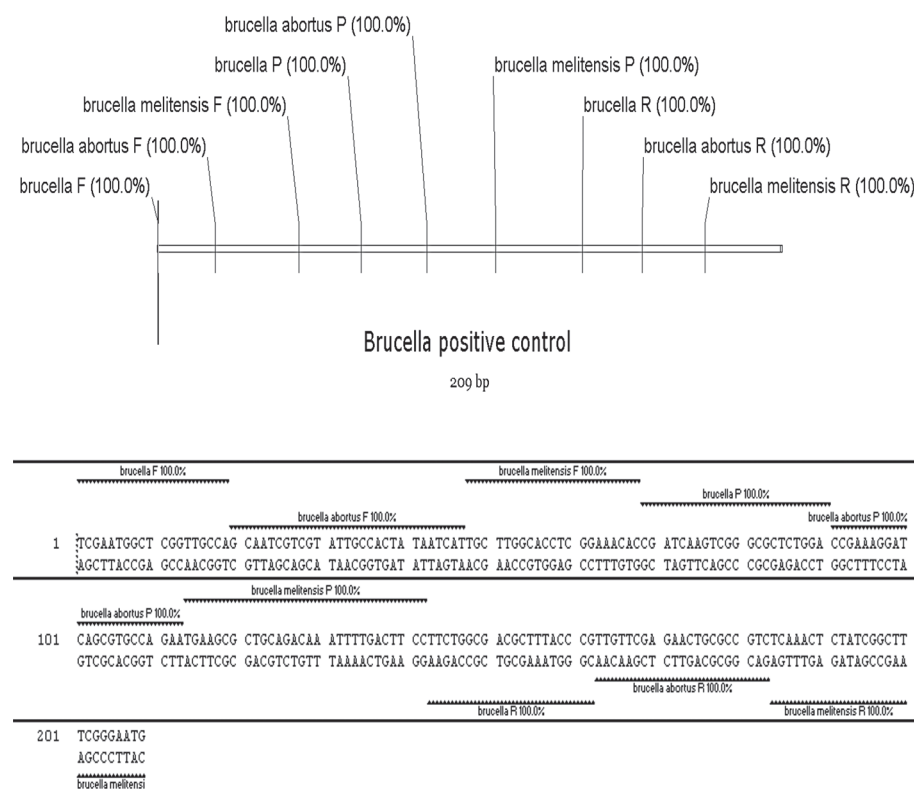


Рис. 1. Нуклеотидная последовательность положительного контрольного образца

Примечание: кроме последовательности ДНК на данном рисунке представлена комплементарность праймеров и зондов для индикации бактерий рода *Brucella*, видов *B. abortus* и *B. melitensis* к нуклеотидной последовательности положительного контроля

Fig. 1. Nucleotide sequence of positive control sample

Note: Except from DNA sequence, the figure shows primers and probes' complementarity for indication of *Brucella* genus bacteria, *B. melitensis* and *B. abortus* species, to nucleotide sequence of positive control

Амплификация с ДНК *B. abortus* и *B. melitensis* реагировала положительно по маркерам рода *Brucella*, и со специфическими, предназначенными для индикации данных бактерий, праймерами и зондами (по каналу Rox и R6G соответственно). Специфическая амплификация происходила лишь с искомой ДНК. Амплификация ДНК бактерии вида *B. melitensis* штамм Rev.1 с праймерами для VNTR анализа (рис. 2 В) проходила в присутствии интерколирующего агента «EvaGreen», что позволило контролировать успешность прохождения реакции в ПЦР-РВ. Для интерпретации количества повторов в каждом локусе необходимо ввести в алгоритм проведения электрофореза амплифицированной ДНК.

В литературе описывается множество примеров индикации бруцелл, при этом в большинстве случаев дифференциация вида биопатогена основывается на определении размера ампликона в таких локу-

сах как: IS711, BME2, BME1 r02, omp 31, omp 25b, wbo A и других [9, 10, 12], в указанных публикациях представлена успешная индикация бактерий рода *Brucella* и дифференциация вида бактерий данного рода. Однако изложенная в этих публикациях методика исследований имеет ряд недостатков, связанных с риском контаминации (из-за электрофореза), трудности исполнения (много разных ПЦР, электрофорез) и интерпретации результата (сличение размеров продуктов амплификации с ДНК-маркером по каждому ампликону). Предложенная нами методика, в сочетании с высокой специфичностью маркерных локусов к искомым патогенам, позволяет избежать указанных недостатков.

Исходя из нуклеотидной последовательности геномов бруцелл определены локусы ДНК пригодные для индикации бактерий рода *Brucella* (BSCP31) и выявления видов *B. abortus* (BAW_20982) и

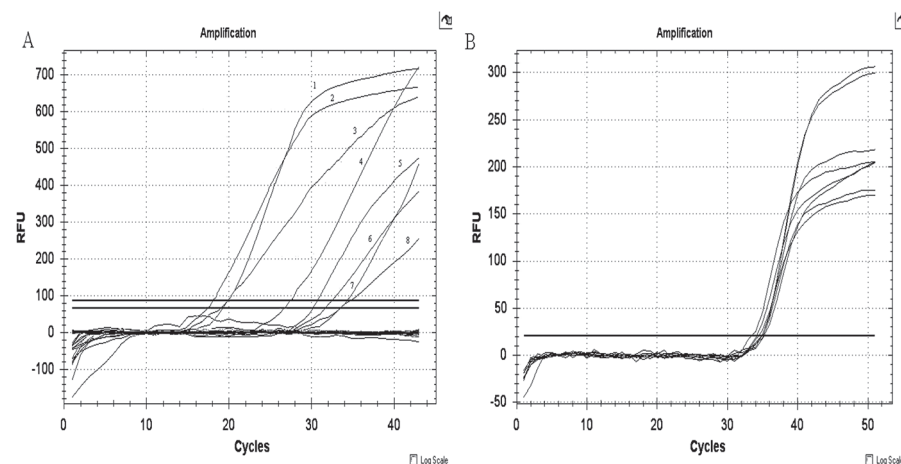


Рис. 2. Амплификация маркерных локусов бруцелл:

А – ПЦР с праймерами для индикации рода *Brucella* и видов *B. abortus* и *B. melitensis*; ДНК положительного контроля (1, 2, 3), ДНК *B. suis* (4), ДНК *B. abortus* (5, 7), В – ДНК *B. melitensis* (6, 8); амплификация с праймерами для VNTR анализа

Fig. 2. Amplification of *Brucella* marker loci: А – PCR with primers for indication of *Brucella* genus and *B. melitensis* and *B. abortus* species; positive control DNA (1, 2, 3), *B. suis* DNA (4), *B. abortus* DNA (5, 7), В – *B. melitensis* DNA (6, 8); amplification with primers for VNTR analysis

B. melitensis (COR52_12390). В пределах этих локусов произведен дизайн праймеров и зондов для ПЦР. Точность амплификации ДНК-маркеров для индикации бактерий рода *Brucella* и подтверждения их принадлежности к указанным видам определялась с использованием контрольной плазмиды.

Для удобства учета количества VNTR повторов по различным локусам и сличения полученных MLVA профилей с аналогичными профилями различных штаммов и изолятов *B. abortus* и *B. melitensis* рекомендуется использовать сформированную в ходе выполнения данной работы базу данных, находящуюся в открытом доступе по ссылке <http://vnivi.ru/images/mlva.xls>.

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

Список литературы

- Агольцев В.А., Веселовский С.Ю., Частов А.А., Попова О.М. Эпидемиологические и эпизоотологические особенности бруцеллеза в Саратовской и в Западно-Казахстанской областях. *Научная жизнь*. 2017; 7:92–100.
- Адиева А.А., Израилова Г.Р., Халилов Р.А., Меджидова М.Г., Умарова Ю.А. Использование биоинформационных методов при конструировании праймеров конститутивного гена, кодирующего белок тубулин для проведения ОТ-ПЦР. *Современные проблемы науки и образования*. 2016; 6:526–33.
- Александрова Н.М., Хаммадов Н.И., Шуралев Э.А., Елизарова И.А. Дифференциальная диагностика туберкулеза у человека и животных с применением мультиплексной тест-системы. *Молекулярная диагностика: сб. трудов IX Всерос. науч.-практич. конференции с междунар. участием*. Тамбов: ООО «Юлис»; 2017. Т. 1. С. 493.
- Желудков М.М., Церельсон Л.Е. Резервуары бруцеллезной инфекции в природе. *Зоологический журнал*. 2010; 89(1):53–60.
- Лямкин Г.И., Головнева С.И., Худолеев А.А., Чеботарева Е.Н., Шакирова Л.И., Куличенко А.Н. Обзор эпизоотической и эпидемической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации в 2013 г. и прогноз на 2014 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; 2:29–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-2-29-32.
- Ндайишмийе Э.В., Хаммадов Н.И., Осянин К.А., Фаизов Т.Х., Шуралев Э.А., Мукминов М.Н. Биоинформационный анализ олигонуклеотидов для молекулярно-генетической индикации возбудителей аспергиллеза и аскаридоза пчел. *Ветеринарный врач*. 2015; 2:3–9.
- Садикалиева С.О., Строчков В.М., Орынбаев М.Б., Шораева К.А., Еспембетов Б.А., Сансызбай А.Р., Султанкулова К.Т. Молекулярно-генетическое типирование бактерий рода *Brucella*, циркулирующих в республике Казахстан. *Вестник башкирского университета*. 2017; 22(2):403–8.
- Сафина Г.М., Фомин А.М., Косарев М.А. Аprobация новой системы специальных противобруцеллезных мероприятий на заключительном этапе оздоровления хозяйств от бруцеллеза крупного рогатого скота. *Ветеринарный врач*. 2016; 4:12–5.
- García-Yoldi D., Marín C.M., de Miguel M.J., Muñoz P.M., Vizmanos J.L., López-Góñi I. Multiplex PCR assay for the identification and differentiation of all *Brucella* species and the vaccine strains *Brucella abortus* S19 and RB51 and *Brucella melitensis* Rev1. *Clin. Chem.* 2006; 52(4):779–81. DOI: 10.1373/clinchem.2005.062596.
- Kang S.I., Her M., Kim J.W., Kim J.Y., Ko K.Y., Ha Y.M., Jung S.C. Advanced multiplex PCR assay for differentiation of *Brucella* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(18):6726–8. DOI: 10.1128/AEM.00581-11.
- Khammadova A.V., Shuralev E.A., Khammadov N.I., Oumarou B.M., Faizov T.K., Mukminov M.N. Design of primers for identification of honey bee viruses in multiplex-PCR. *Astra Salvensis*. 2017; 5(1):481–9.
- Livia de Lima Orzil, Ingred Sales Preis, Iassudara Garcia de Almeida, Patricia Gomes de Souza, Paulo Martins Soares Filho, Fabricio Barcelos Jacinto, Antônio Augusto Fonseca Júnior. Validation of the multiplex PCR for identification of *Brucella* spp. *Ciência Rural, Santa Maria*. 2016; 46(5):847–52. DOI: 10.1590/0103-8478cr20150065.
- Mustafa A.S., Habibi N., Osman A., Shaheed F., Khan M.W. Species identification and molecular typing of human *Brucella* isolates from Kuwait. *PLoS One*. 2017; 12(8):e0182111. DOI: 10.1371/journal.pone.0182111.
- Shevtsova E., Shevtsov A., Mukanov K., Filipenko M., Kamalova D., Sytnik I., Syzdykov M., Kuznetsov A., Akhmetova A., Zharova M., Karibaev T., Tarlykov P., Ramanculov E. Epidemiology of brucellosis and genetic diversity of *Brucella abortus* in Kazakhstan. *PLoS One*. 2016; 11(12):e0167496. DOI: 10.1371/journal.pone.0167496.
- Agol'tsev V.A., Veselovsky S.Yu., Chastov A.A., Popova O.M. [Epidemiological and epizootiological features of brucellosis in the Saratov and West Kazakhstan Regions]. *Nauchnaya zhizn'*. 2017; 7:92–100.
- Adieva A.A., Izrailova G.R., Khalilov R.A., Medzhidova M.G., Umarova Yu.A. [The use of bioinformation techniques in constructing primers of a constitutive gene encoding a tubulin protein for RT-PCR]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016; 6:526–33.
- Aleksandrova N.M., Khammadov N.I., Shuralev E.A., Elizarova I.A. [Differential diagnosis of tuberculosis in humans and animals using a multiplex test system]. *Molecular Diagnostic: Proceeding of IX Russian Research Conference with international participation*. Tambov: «Yulis»; 2017. Vol. 1. P. 493.
- Zheludkov M.M., Tserel'son L.E. [The reservoirs of brucellosis infection in nature]. *Zoologicheskii Zhurnal*. 2010; 89(1):53–60.
- Lyamkin G.I., Golovneva S.I., Khudoleev A.A., Chebotareva E.N., Shakirova L.I., Kulichenko A.N. [Review of epizootic and epidemic situation on brucellosis in the Russian Federation in 2013 and the forecast for 2014]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*. 2014; 2:29–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-2-29-32.
- Ndayishimiye E.V., Khammadov N.I., Osyenin K.A., Faizov T.Kh., Shuralev E.A., Mukminov M.N. [Bioinformatics analysis of oligonucleotides for molecular-genetic indication of pathogens of bees aspergillosis and ascosporeosis]. *Veterinarny Vrach*. 2015; 2:3–9.
- Sadikalieva S.O., Strochkov V.M., Orynbaev M.B., Shoraeva K.A., Espembetov B.A., Sansyzbay A.R., Sultankulova K.T. [Molecular-genetic typing of *Brucella* genus bacteria circulating in the Republic of Kazakhstan]. *Vestnik Bashkirskogo Universiteta*. 2017; 22(2):403–8.
- Safina G.M., Fomin A.M., Kosarev M.A. [Approbation of a new system of special anti-brucellosis measures at the final stage of farms' rehabilitation from brucellosis in cattle]. *Veterinarny Vrach*. 2016; 4:12–5.
- García-Yoldi D., Marín C.M., de Miguel M.J., Muñoz P.M., Vizmanos J.L., López-Góñi I. Multiplex PCR assay for the identification and differentiation of all *Brucella* species and the vaccine strains *Brucella abortus* S19 and RB51 and *Brucella melitensis* Rev1. *Clin. Chem.* 2006; 52(4):779–81. DOI: 10.1373/clinchem.2005.062596.
- Kang S.I., Her M., Kim J.W., Kim J.Y., Ko K.Y., Ha Y.M., Jung S.C. Advanced multiplex PCR assay for differentiation of *Brucella* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(18):6726–8. DOI: 10.1128/AEM.00581-11.
- Khammadova A.V., Shuralev E.A., Khammadov N.I., Oumarou B.M., Faizov T.K., Mukminov M.N. Design of primers for identification of honey bee viruses in multiplex-PCR. *Astra Salvensis*. 2017; 5(1):481–9.
- Livia de Lima Orzil, Ingred Sales Preis, Iassudara Garcia de Almeida, Patricia Gomes de Souza, Paulo Martins Soares Filho, Fabricio Barcelos Jacinto, Antônio Augusto Fonseca Júnior. Validation of the multiplex PCR for identification of *Brucella* spp. *Ciência Rural, Santa Maria*. 2016; 46(5):847–52. DOI: 10.1590/0103-8478cr20150065.
- Mustafa A.S., Habibi N., Osman A., Shaheed F., Khan M.W. Species identification and molecular typing of human *Brucella* isolates from Kuwait. *PLoS One*. 2017; 12(8):e0182111. DOI: 10.1371/journal.pone.0182111.
- Shevtsova E., Shevtsov A., Mukanov K., Filipenko M., Kamalova D., Sytnik I., Syzdykov M., Kuznetsov A., Akhmetova A., Zharova M., Karibaev T., Tarlykov P., Ramanculov E. Epidemiology of brucellosis and genetic diversity of *Brucella abortus* in Kazakhstan. *PLoS One*. 2016; 11(12):e0167496. DOI: 10.1371/journal.pone.0167496.

Authors:

Khammadov N.I., Osyenin K.A., Usol'tsev K.V., Faizov T.Kh. Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety. Nauchnyi Gorodok-2, Kazan, Tatarstan, 420075, Russian Federation. E-mail: vnivi@mail.ru.

Khammadova A.V. Kazan Federal University. 18, Kremlyovskaya St., Kazan, Tatarstan, 420008, Russian Federation. E-mail: ecology@kpfu.ru.

Shuralev E.A. Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety; Nauchnyi Gorodok-2, Kazan, Tatarstan, 420075, Russian Federation. Kazan Federal University; 18, Kremlyovskaya St., Kazan, Tatarstan, 420008, Russian Federation. Kazan State Medical Academy; 36, Butlerova St., Kazan, Tatarstan, 420012, Russian Federation.

Об авторах:

Хаммадов Н.И., Осянин К.А., Усольцев К.В., Фаизов Т.Х. Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности. Российская Федерация, 420075, Татарстан, г. Казань, Научный городок-2. E-mail: vnivi@mail.ru.

Хаммадова А.В. Казанский (Приволжский) федеральный университет. Российская Федерация, 420008, Татарстан, г. Казань, ул. Кремлевская, 18. E-mail: esology@krfu.ru.

Шураев Э.А. Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности; Российская Федерация, 420075,

Татарстан, г. Казань, Научный городок-2. Казанский (Приволжский) федеральный университет; Российская Федерация, 420008, Татарстан, г. Казань, ул. Кремлевская, 18. Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Российская Федерация, 420012, Татарстан, г. Казань, ул. Бутлерова, 36.

Поступила 09.07.18.

Отправлена на доработку 17.08.18.

Принята к публ. 24.08.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-94-96

УДК 616.98:579.841.95(470.41)

Т.А. Савицкая¹, В.П. Попов², В.А. Трифонов^{1,3}, И.В. Милова⁴, Г.Ш. Исаева^{1,5},
И.Д. Решетникова^{1,6}

ОЦЕНКА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ТУЛЯРЕМИИ В РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН

¹ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», Казань, Российская Федерация;
²ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация; ³Казанская государственная медицинская академия – филиал
ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Казань, Российская Федерация; ⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике
Татарстан (Татарстан)», Казань, Российская Федерация; ⁵ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»
Минздрава России, Казань Российская Федерация; ⁶Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань,
Российская Федерация

Цель. Оценка эпизоотологической и эпидемиологической активности природных очагов туляремии в Республике Татарстан для дальнейшего прогнозирования ситуации, выработки тактики проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий. **Материалы и методы.** В работе использованы статистические данные, отчеты ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан» и литературные источники. **Результаты и обсуждение.** С 1995 г. в Республике Татарстан не регистрируется заболеваемость туляремией среди людей. На территории республики расположены природные очаги в 19 энзоотических по туляремии административных районах. Эпизоотологический мониторинг природных очагов позволяет сделать вывод, что за последние четыре года произошла их активизация. В связи с этим остается актуальным проведение комплекса противоэпидемических мероприятий, регламентируемых действующими нормативно-методическими документами, своевременная и качественная диагностика туляремии, в том числе среди пациентов, имеющих сходную с данным заболеванием симптоматику.

Ключевые слова: туляремия, заболеваемость, носители, переносчики инфекции.

Корреспондирующий автор: Савицкая Татьяна Александровна, e-mail: tatasav777@mail.ru.

Для цитирования: Савицкая Т.А., Попов В.П., Трифонов В.А., Милова И.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д. Оценка эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по туляремии в Республике Татарстан. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:94–96. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-94-96

T.A. Savitskaya¹, V.P. Popov², V.A. Trifonov^{1,3}, I.V. Milova⁴, G.Sh. Isaeva^{1,5}, I.D. Reshetnikova^{1,6}

Assessment of Epidemiological and Epizootiological Situation on Tularemia in the Republic of Tatarstan

¹Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation; ²Plague Control Center, Moscow, Russian Federation; ³Kazan State Medical Academy – Affiliated Branch of the Federal State-Funded Educational Institution for Further Vocational Education “Russian Medical Academy of Continuing Professional Education”, Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russian Federation; ⁴Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation; ⁵Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russian Federation; ⁶Kazan (Privolzhsky) Federal University, Kazan, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was to assess epidemiological and epizootiological activity of natural tularemia foci in the Republic of Tatarstan for further forecasting of the developments and working out the tactics for implementation of preventive and anti-epidemic measures. **Materials and methods.** We utilized statistical data, reports of the Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan, and literature sources for the analysis. **Results and conclusions.** Since 1995, the incidence among the population in Tatarstan has not been registered. Natural tularemia foci are situated in 19 enzootic as regards the infection administrative districts in the territory of the Republic. Epizootiological monitoring of the natural foci suggests that over the last four years their activation occurred. In this context realization of complex anti-epidemic measures, regulated by the current normative-methodological documents remains relevant, as well as timely and effective diagnostics, including among the patients with a similar to tularemia symptoms.

Key words: tularemia, morbidity rates, carriers, vectors of infection.

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

Corresponding author: Tatiana A. Savitskaya, e-mail: tatasav777@mail.ru.

Citation: Savitskaya T.A., Popov V.P., Trifonov V.A., Milova I.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D. Assessment of Epidemiological and Epizootiological Situation on Tularemia in the Republic of Tatarstan. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 3:94–96. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-94-96

Received 23.04.18. Revised 10.05.18. Accepted 16.08.18.

В работе использованы статистические данные по заболеваемости туляремией в Республике Татарстан в период с 1949 по 1995 год, а также ма-

териалы эпизоотологического обследования природных очагов этой инфекции, выполненных ФБУЗ ЦГиЭ в Республике Татарстан в 1979–1998 гг.

Официальная регистрация больных туляремией в Республике Татарстан началась в 1949 г., когда выявили 459 больных (показатель заболеваемости на 100 тыс. населения составил 17,2) в Казани, Актанышском, Агрызском, Алексеевском, Елабужском, Менделеевском, Мензелинском, Муслимовском, Нижнекамском и Тукаевском районах с максимальным числом заболевших в мае и июне. Эту эпидемическую вспышку заболеваемости принято считать промысловой, связанной с заготовкой шкур водной полевки. В 1950 г. на территории республики зарегистрировано 149 заболевших (показатель заболеваемости на 100 тыс. населения – 5,6). С 1951 по 1955 год, на фоне начавшейся иммунизации населения против туляремии, заболевания не регистрировались. В последующие годы заболеваемость приобрела спорадический характер в виде единичных случаев: 1956 г. – 2 случая, 1957 г. – 1, 1978 г. – 1, 1992 г. – 2, 1994 г. – 1, 1995 г. – 2. Доля городского населения среди заболевших туляремией составляла 61 %, что связано с посещением горожанами природных очагов туляремии при выезде за город, в лес, на дачные участки и др. Заболевания, в основном, регистрировались в летние месяцы. Наибольшую часть среди заболевших составляли лица в возрасте 29–49 лет. Среди типов заражения преобладали контактный, алиментарный и аспирационный. Заболевали непривитые лица.

На сегодняшний день в Республике Татарстан насчитывается 19 энзоотических по туляремии административных районов: Агрызский, Актанышский, Алексеевский, Альметьевский, Высокогорский, Верхнеуслонский, Елабужский, Зеленодольский, Лаишевский, Мамадышский, Менделеевский, Мензелинский, Нижнекамский, Пестречинский, Рыбно-слободский, Спасский, Тетюшский, Тукаевский и Чистопольский.

Энзоотическая по туляремии территория дифференцирована на три типа нозоочагов – лесной, луго-полевой и пойменно-болотный.

Наиболее эпидемически активными, в прошлом, являлись очаги пойменно-болотного типа, расположенные по долинам и поймам рек Волга, Кама, Вятка, Свияга, Иж, Ик, Кандыз, Зай, Уратьма и др. Их площадь составляет 4,42 тыс. км². Очаги лесного типа занимают более 12 тыс. км² и распространены, в основном, на разрозненных участках сохранившихся темнохвойных и широколиственных лесов. Природные очаги луго-полевого типа занимают значительные площади луговых степей и сельскохозяйственных земель на месте бывших лесов. В настоящее время наибольшее значение в поддержании природных очагов в поймах рек на территории республики имеют ондатра, водяная, рыжая и обыкновенная полевки, а также клещи родов *Dermacentor* и *Ixodes*.

Плановая профилактическая иммунизация в Республике Татарстан ежегодно проводится среди работников зерно- и овощехранилищ, сахарных заво-

дов, спиртзаводов, животноводческих и птицеводческих ферм, работающих с зерном, соломой, фуражом, работников меховых фабрик, занятых первичной обработкой шкур, охотников. Так, в 2017 г. плановой вакцинацией охватили 394, а ревакцинацией 110 человек. Выполнение плана составило 118 и 92,4 % соответственно. Однако количество лиц, подлежащих плановой иммунизации, ежегодно снижается.

В рамках дифференциальной диагностики ежегодно лабораторно обследуются на туляремию 250–350 заболевших с клиническими проявлениями не исключающими туляремию.

За период 1979–1998 гг. проведены бактериологические исследования зоопаразитологического материала с островов и побережья Куйбышевского и Нижнекамского водохранилищ. Из 54194 особей иксодовых клещей (р.р. *Ixodes* и *Dermacentor*) выделено три культуры туляремийного микроба. Исследования органов 10573 особей грызунов (ондатра, водяная и обыкновенная полевки, прочие виды) не дали положительных результатов. В то же время серологическим методом исследовано 5030 проб погадок хищных птиц, из них положительных проб – 68 (1,3 %), и экскрементов млекопитающих 276, положительных – 13 (4,7 %). За последние восемь лет (2010–2017 гг.) при исследовании проб полевого материала (объекты внешней среды, животные) получено 57 положительных результатов на наличие туляремийного антигена, в том числе: из воды открытых водоемов – 3,3 %, от мелких млекопитающих – 1,5, погадок хищных птиц – 2,8, экскрементов грызунов – 0,6. При исследовании кровососущих членистоногих положительных результатов не получено.

Следует отметить, что количество положительных находок в 2014–2017 гг., по сравнению с предыдущими годами, значительно возросло. В связи с этим для обеспечения эпидемиологического благополучия по туляремии в условиях прогностического обострения эпизоотической обстановки на территории Республики Татарстан необходимо обеспечить выполнение требований действующих нормативно-методических документов по организации эпидемиологического надзора в природных очагах.

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

Список литературы

1. Литвин В.Ю., Коренберг Э.И. Природная очаговость болезней: развитие концепции к концу века. *Паразитология*. 1999; 33(3):179–91.
2. Коренберг Э.И. Природная очаговость инфекций: Современные проблемы и перспективы исследований. *Зоологический журнал*. 2010; 89(1):5–17.
3. Коренберг Э.И., Юркова Е.В. Проблема прогнозирования эпидемического проявления природных очагов болезней человека. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1983; 3:3–10.
4. 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 ситуация по туляремии в Российской Федерации в 2015 г. и прогноз на 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 1:28–32. DOI:

10.21055/0370-1069-2016-1-28-32.

5. Мещерякова И.С. Туляремия: современная эпидемиология и вакцинопрофилактика (К 80-летию создания первой туляремийной лаборатории в России). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 2(51):17–22.

6. Попова А.Ю., Мещеряков В.В., Степанова Т.Ф., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Марченко А.Н. Эпидемиология и профилактика туляремии на эндемичных территориях России. Тюмень; 2016. С. 7.

References

1. Litvin V.Yu., Korenberg E. I. [Natural foci of diseases: development of the concept by the end of the century]. *Parazitologiya*. 1999; 3: 179.

2. Korenberg, E.I. [Natural focality of infections: current problems and research prospects]. *Zoologicheskyy Zhurnal*. 2010; 89(1):5–17.

3. Korenberg E.I., Yurkova E.V. [The problem of forecasting epidemic manifestation of natural foci of human diseases]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni*. 1983; 3:3–10.

4. 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 forecast for 2016]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016, 1:28–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-28-32.

5. Meshcherikova I.S. [Tularemia: modern epidemiology and preventive vaccination]. *Epidemiologiya i Vaksinooprofilaktika*. 2010; 2(51):17–22.

6. Popova A.Yu., Mefod'ev V.V., Stepanova T.F., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Marchenko A.N. [Epidemiology and Prophylaxis of Tularemia in Endemic Regions of Russia]. Tyumen; 2016. P. 7.

Authors:

Savitskaya T.A. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation. E-mail: kniem@mail.ru.

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

Trifonov V.A. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian

Federation. Kazan medical Academy; 36, Butlerova St., Kazan, 420015, Russian Federation. E-mail: vatrifonov@mail.ru

Milova I.V. Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan. 13a, Sechenova St., Kazan, 420061, Russian Federation. E-mail: fguz.ooi@tatar.ru.

Isaeva G.Sh. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan State Medical University; 49, Butlerova St., Kazan, 420012, Russian Federation.

Reshetnikova I.D. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan (Privolzhsky) Federal University; 18, Kremlevskaya St., Kazan, 420008, Russian Federation.

Об авторах:

Савицкая Т.А. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии. Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67. E-mail: kniem@mail.ru.

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

Трифонов В.А. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67. Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Бутлерова, 36. E-mail: vatrifonov@mail.ru.

Милова И.В. Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан). Российская Федерация, 420061, г. Казань, ул. Сеченова, 13а. E-mail: fguz.ooi@tatar.ru.

Исаева Г.Ш. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67; e-mail: kniem@mail.ru. Казанский государственный медицинский университет; Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Бутлерова, 49.

Решетникова И.Д. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67; e-mail: kniem@mail.ru. Казанский (Приволжский) федеральный университет; Российская Федерация, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18.

Поступила 23.04.18.

Отправлена на доработку 10.05.18.

Принята к публ. 16.08.18.