

ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Научно-практический журнал

Выходит четыре раза в год

Основан в 1968 году

Главный редактор академик РАМН,
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

2013

САРАТОВ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

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

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

© Федеральное казенное учреждение здравоохранения
Российский научно-исследовательский противочумный
институт «Микроб», 2013

ISSN 0370-1069



9 770370 106008 >

2013, Issue 3

Problems of Particularly Dangerous Infections

Scientific and Practical Journal
Issued quarterly. Founded in 1968

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

Editor-in-Chief

Kutyrev V.V., Member of the RAMS,
Doctor of Medical Science, Professor

Editorial Board

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

Editorial Council

Antonov V.A., Doctor of Medical Science, Professor (Volgograd)
Bezsmertny V.E., Candidate of Medical Science (Moscow)
Balakhonov S.V., Doctor of Medical Science, Professor (Irkutsk)
Bondarev V.P., Doctor of Medical Science, Professor (Moscow)
Borisevich I.V., Doctor of Medical Science, Professor (Moscow)
Gintsburg A.L., Doctor of Medical Science, Member of the RAMS (Moscow)
Dyatlov I.A., Doctor of Medical Science, Corresponding Member
of the RAMS (Obolensk)
Kulichenko A.N., Doctor of Medical Science, Professor (Stavropol)
Kutyrev V.V., Doctor of Medical Science, Member of the RAMS (Saratov)
Lvov D.K., Doctor of Medical Science, Member of the RAMS (Moscow)
Maleev V.V., Doctor of Medical Science, Member of the RAMS (Moscow)
Motin V.L., Ph. D., Professor (Galveston, USA)
Rakin A.V., Ph. D. (Munich, Germany)
Sergeev A.N., Doctor of Medical Science, Professor (Koltsovo)
Sergiev V.P., Doctor of Medical Science, Member of the RAMS (Moscow)
Skurnik M., Professor (Helsinki, Finland)

Editorial Office Address:

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

Подписной индекс в каталоге «Почта России» – 24687

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

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

Зав. редакцией Л.С.Пронина. Тел. (845-2) 51-82-22. Факс (845-2) 51-52-12

Пробл. особо опасных инф. 2013. Вып. 3. 1–92

Редактор Е.С.Герасимова. Технический редактор Т.К.Меркулова. Перевод на английский Т.Б.Караваяевой, А.П.Рыжовой, А.Ю.Моцной

Подписано в печать 10.09.13. Формат 60×88 1/8. Бумага мелованная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 11,3. Гарнитура Таймс. Заказ 880
Журнал отпечатан в типографии ООО «ИППОЛит-XXI век». 410012, Саратов, Б. Казачья, 79/85

Эпидемиология

Балахонов С.В., Андаев Е.И., Чеснокова М.В., Алленов А.В., Хоменко Т.В., Иванов Л.И., Никитин А.А., Косилко С.А., Ковальский А.Г., Куликалова Е.С. Роль противочумных учреждений в обеспечении эпидемиологического благополучия при подготовке и проведении саммита АТЭС-2012..... 5

Евченко Ю.М., Куличенко А.Н., Мозлов Г.А., Мезенцев В.М. Особенности пространственной структуры Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы 13

Матросов А.Н., Чекашов В.Н., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Шилов М.М., Кузнецов А.А., Захаров К.С., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Толоконникова С.И., Удовиков А.И., Красовская Т.Ю., Шарова И.Н., Кресова У.А., Кедрова О.В., Попов Н.В., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Условия циркуляции вируса и предпосылки формирования природных очагов лихорадки Западного Нила в Саратовской области 17

Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Удовиков А.И., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., Федоров Ю.М., Попов В.П., Гражданов А.К., Аязбаев Т.З., Яковлев С.А., Каравасева Т.Б., Кутырев В.В. Влияние современного изменения климата на состояние природных очагов чумы России и других стран СНГ 23

Удовиченко С.К., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Куклев Е.В., Кедрова О.В., Сафронов В.А., Раздорский А.С., Попов Н.В., Князева Т.В., Топорков В.П., Кутырев В.В. Оценка потенциальной эпидемической опасности международных массовых мероприятий по актуальным инфекционным болезням 29

Шиянова А.Е., Топорков В.П., Смоленский В.Ю. Терминологический аспект обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в России и на международном уровне 40

Микробиология

Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Виноградова Н.А., Носов Н.Ю., Ерошенко Г.А., Гусева Н.П., Кутырев В.В. Фенотипические и молекулярно-генетические особенности штаммов *Yersinia pestis* из Забайкальского степного очага чумы 44

Одинок Г.Н., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Куклева Л.М., Черкасов А.В., Шавина Н.Ю., Кутырев В.В. Анализ полногеномной последовательности штаммов *Yersinia pestis* на основе ступенчатого 680-SNP алгоритма..... 49

Мотин В.Л. Системная биология *Yersinia pestis*..... 55

Epidemiology

Balakhonov S.V., Andaev E.I., Chesnokova M.V., Allenov A.V., Khomenko T.V., Ivanov L.I., Nikitin A.Ya., Kosilko S.A., Koval'sky A.G., Kulikalova E.S. The Role of Anti-Plague Institutions in Provision of the Epidemiological Well-Being During the Preparation and Carrying out of the APEC 2012 Summit 5

Evchenko Yu.M., Kulichenko A.N., Mozlov G.A., Mezentsev V.M. Peculiarities of Spatial Structure of the Central Caucasian High-Mountain Natural Plague Focus 13

Matrosov A.N., Chekashov V.N., Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Shilov M.M., Kuznetsov A.A., Zakharov K.S., Knyazeva T.V., Mokrousova T.V., Tolokonnikova S.I., Udovikov A.I., Krasovskaya T.Yu., Sharova I.N., Kresova U.A., Kedrova O.V., Popov N.V., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Conditions for Virus Circulation and Premises for Natural West Nile Fever Foci Formation in the Territory of the Saratov Region 17

Popov N.V., Bezsmertny V.E., Udovikov A.I., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Fedorov Yu.M., Popov V.P., Grazhdanov A.K., Ayazbaev T.Z., Yakovlev S.A., Karavaeva T.B., Kutyrev V.V. Impact of the Present-Day Climate Changes on the Natural Plague Foci Condition, Situated in the Territory of the Russian Federation and Other CIS Countries 23

Udovichenko S.K., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Kuklev E.V., Kedrova O.V., Safronov V.A., Razdorsky A.S., Popov N.V., Knyazeva T.V., Toporkov V.P., Kutyrev V.V. Assessment of the Potential Epidemic Hazard as Regards International Public Events in Terms of the Currently Important Infectious Diseases 29

Shiyanova A.E., Toporkov V.P., Smolensky V.Yu. Terminological Issues of Sanitary-Epidemiological Welfare Provision Both in Russia and on the Global Scale 40

Microbiology

Kukleva L.M., Shavina N.Yu., Vinogradova N.A., Nosov N.Yu., Eroshenko G.A., Guseva N.P., Kutyrev V.V. Phenotypic and Molecular-Genetic Peculiarities of *Yersinia pestis* Strains from Trans-Baikal Steppe Plague Focus 44

Odinokov G.N., Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Kukleva L.M., Cherkasov A.V., Shavina N.Yu., Kutyrev V.V. Analysis of the Genome Wide Sequence of *Yersinia pestis* strains Based on the Consecutive 680-SNP Algorithm 49

Motin V.L. Systems Biology of *Yersinia pestis* 55

Ракин А., Газетти Д. Различные сидерофоры обуславливают фенотип высокой патогенности иерсиний.

58

Иммунология, профилактика

Бугоркова С.А., Девдариани З.Л., Щуковская Т.Н., Кутырев В.В. Исторические и современные представления о проблеме специфической профилактики чумы

63

Мокриевич А.Н., Вахрамеева Г.М., Миронова Р.И., Комбарова Т.И., Титарева Г.М., Кравченко Т.Б., Бахтеева И.В., Дятлов И.А., Павлов В.М. Создание и изучение вариантов вакцинного штамма *Francisella tularensis* без генов *iglC*. Сообщение 1

70

Информация

Ракин А. 11-й Международный симпозиум по чуме: Привлечение широкой общественности и многостороннее сотрудничество как способ борьбы с бактериальными инфекциями и решения проблемы недостатка информации в данной области

75

Рецензии

Злобин В.И. Рецензия на монографию С.В.Балахонова, М.В.Чесноковой, Е.И.Андаева, С.А.Косилко, А.Я.Никулина «Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита АТЭС-2012» / под ред. акад. РАМН Г.Г.Онищенко. – Новосибирск: «Наука-Центр»; 2013. – 419 с.

83

Исторические очерки

Хендерсон Д.А. Ликвидация натуральной оспы: лидирующая роль и вклад России

86

Юбилеи

К 150-летию Александра Иерсина

90

К 150-летию Владимира Ивановича Вернадского ...

91

К 100-летию Читинской противочумной станции ...

91

К 80-летию Научно-исследовательского института дезинфектологии

92

Юбилеи

92

Rakin A., Garzetti D. Different siderophores contribute to the high-pathogenicity phenotype in *Yersinia*

Immunology, prophylaxis

Bugorkova S.A., Devdariani Z.L., Shchukovskaya T.N., Kutyrev V.V. Historical and Modern Views on the Problem of Specific Plague Prophylaxis

Mokrievich A.N., Vakhrameeva G.M., Mironova R.I., Kombarova T.I., Titareva G.M., Kravchenko T.B., Bakhteeva I.V., Dyatlov I.A., Pavlov V.M. Construction and Investigation of the Vaccine Strain *Francisella tularensis* without *iglC* genes. Communication 1

Information

Rakin A. The 11 International Symposium on *Yersinia*: Crowdsourcing and Multilateral Cooperation – the Way to Address Bacterial and Data Challenges

Book review

Zlobin V.I. Review on the monograph "Provision of Sanitary and Epidemiological Well-Being during the Arrangement and Carrying out Summit APEC-2012" by S.V.Balakhonov, M.V.Chesnokova, E.I.Andaev, S.A.Kosilko, A.Ya.Nikulin

Historical essays

Henderson D.A. Smallpox eradication: Russian Leadership And Contributions

Anniversaries

To the 150-th Anniversary of Alexander Yersin

To the 150-th Anniversary of Vladimir I. Vernadsky

To the 100-th Anniversary of the Chita Plague Control Station

To the 80-th Anniversary of the Research Institute of Disinfectology

Anniversaries

С.В.Балахонов¹, Е.И.Андаев¹, М.В.Чеснокова¹, А.В.Алленов², Т.В.Хоменко², Л.И.Иванов³,
А.Я.Никитин¹, С.А.Косилко¹, А.Г.Ковальский³, Е.С.Куликалова¹

РОЛЬ ПРОТИВОЧУМНЫХ УЧРЕЖДЕНИЙ В ОБЕСПЕЧЕНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ ПРИ ПОДГОТОВКЕ И ПРОВЕДЕНИИ САММИТА АТЭС-2012

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и ДВ», Иркутск, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Приморская противочумная станция», Уссурийск, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция», Хабаровск, Российская Федерация

В статье подведены итоги работы по обеспечению эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита АТЭС на о. Русский. Представлен комплекс организационных и профилактических мер, направленных на снижение потенциальной опасности возникновения чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера. Мероприятия по обеспечению эпидемиологического благополучия гостей и участников саммита АТЭС, основанные на взаимодействии региональных противочумных учреждений с противочумной и медицинской службами Приморского края показали свою эффективность. Эпидемиологическая ситуация на о. Русский и во Владивостоке в период проведения международного форума сохранялась благополучной.

Приведенные материалы могут быть востребованы при разработке комплекса мероприятий, направленных на обеспечение эпидемиологического благополучия во время проведения крупномасштабных политико-экономических мероприятий российского и международного уровня.

Ключевые слова: саммит АТЭС, эпидемиологическое благополучие, противочумные учреждения, мониторинг, индикация, опасные, природно-очаговые инфекционные болезни, СПЭБ.

S.V.Balakhonov¹, E.I.Andaev¹, M.V.Chesnokova¹, A.V.Allenov², T.V.Khomenko², L.I.Ivanov³, A.Ya.Nikitin¹,
S.A.Kosilko¹, A.G.Koval'sky³, E.S.Kulikalova¹

The Role of Anti-Plague Institutions in Provision of the Epidemiological Well-Being During the Preparation and Carrying out of the APEC 2012 Summit

¹Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation; ²Primorsk Plague Control Station, Ussuriysk, Russian Federation; ³Khabarovsk Plague Control Station, Khabarovsk, Russian Federation

Summarized are the results of the work on provision of sanitary and epidemiological well-being during the arrangement and carrying out the APEC Summit on the Russky Island. The set of organizational and prophylactic measures aimed at prevention of potential danger of emergency situation of sanitary and epidemiological character is presented. Measures on provision of epidemiological well-being of the participants and guests of the APEC Summit, based upon interaction of the regional plague-control institutions with anti-epidemic and health services of the Primorsky Region, demonstrated their efficiency. Epidemiological situation on the Russky Island and Vladivostok city was safe. The materials presented can be used to develop a set of measures ensuring the epidemiological well-being during large scale political and economic events holding at the national and international levels.

Key words: APEC summit, epidemiological well-being, anti-plague institutions, monitoring, indication, dangerous natural focal infectious diseases, specialized anti-epidemic team.

Проведение крупных международных мероприятий, на уровне глав государств и правительств, требует от органов и учреждений государственного санитарно-эпидемиологического надзора и здравоохранения максимально высокого уровня готовности по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия участников, гостей и местного населения. Всемирная организация здравоохранения на основе обобщенного опыта подготовки и проведения массовых международных мероприятий (Олимпиады, Универсиады и т.д.) рекомендует поэтапное обеспечение защиты от биологических угроз, включающее оценку эпидемиологических рисков, осуществление полноценного эпидемиологического надзора, своевременное и адекватное реагирование при возникно-

вании эпидемических осложнений [10, 16].

Санитарно-эпидемиологическое благополучие гостей и участников саммита «Азиатско-Тихоокеанское экономическое сотрудничество (АТЭС)» из 21 государства, состоявшегося 2–10 сентября 2012 г. на острове Русский, обеспечивалось органами и учреждениями Роспотребнадзора, здравоохранения Приморского края во взаимодействии с Федеральной службой охраны РФ, Медицинским управлением Управления делами Президента РФ и региональными противочумными учреждениями.

Уникальность ситуации заключалась в том, что для проведения саммита выбран о. Русский, территория которого до последнего времени была недостаточно изучена в отношении опасных инфекций и

активности природных очагов зооантропонозов из-за ограничения доступа в связи с размещением там военных объектов.

Обеспечение биологической безопасности саммита АТЭС проводилось в два этапа: подготовка и проведение самого саммита.

Для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки саммита АТЭС на основе ретроспективного анализа эпидемиологической ситуации по опасным, природно-очаговым и другим инфекционным болезням в Приморском крае в рамках компетенции противочумных учреждений определены следующие задачи:

- изучить фауну, численность, пространственное распределение, особенности сезонной активности потенциальных носителей и переносчиков возбудителей трансмиссивных зооантропонозов;
- оценить зараженность носителей и переносчиков возбудителями природно-очаговых инфекционных болезней;
- исследовать иммунологическую структуру населения острова по отношению к возбудителям природно-очаговых инфекционных болезней;
- организовать расширенный мониторинг поверхностных водоемов и морской акватории на вибриофлору;
- провести дифференциацию территории острова по степени эпидемиологического риска для участников, гостей и обслуживающего персонала саммита АТЭС, разработать комплекс мер профилактики для снижения эпидемиологических рисков.

Подготовительный этап был начат в 2009 г., продолжался до начала международной встречи и включал в себя организационно-методические и практические мероприятия. Для обеспечения эффективного взаимодействия всех служб разработан и согласован «План мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия, биологической, химической и радиологической безопасности в период подготовки и проведения саммита АТЭС (2012 г.) на 2010–2012 гг.» и программа «Эпизоотолого-эпидемиологическое обследование о. Русский (Приморский край) на комплекс природно-очаговых инфекционных болезней» с ежегодным подведением итогов выполнения и корректировкой.

В рамках реализации практических мероприятий в течение 2010–2012 гг. специалисты Приморской противочумной станции и Иркутского научно-исследовательского противочумного института при содействии учреждений Роспотребнадзора Приморского края проводили регулярные эпизоотолого-эпидемиологические обследования территории острова, включающие отлов мелких млекопитающих и членистоногих, сбор сывороток крови местного населения, отбор проб воды поверхностных водоемов и морской акватории. Организованы четыре экспедиции (222 человеко-дня), выполнено более 8000 исследований (таблица).

Полученные результаты оперативно обрабаты-

вали, анализировали, доводили до сведения администрации, руководителей санитарно-эпидемиологической службы Приморского края на совещаниях, коллегиях и конференциях [1, 2, 3, 4].

При изучении сывороток крови местных жителей выявлено наличие сероположительных лиц к большинству возбудителей природно-очаговых инфекций (туляремии, лептоспирозам, иерсиниозам), передаваемых клещами – клещевому энцефалиту, иксодовому клещевому боррелиозу, комарами – лихорадки Западного Нила, Инко, Гета [2].

За все время эпизоотолого-эпидемиологического обследования выставлено 5260 орудий лова (давилок Геро), отловлено 272 особи мелких млекопитающих шести видов (*Apodemus peninsulae*, *A. agrarius*, *Clethrionomys rufocanus*, *Microtus fortis*, *Tamias sibiricus*, *Rattus norvegicus*), обычно регистрируемых на острове [12]. Показано, что численность животных во время осенних работ предсказуемо значительно выше, чем весной. Обилие зверьков по разным точкам учета колебалось от 0 до 8 % попаданий. Исследование грызунов проводили бактериологическим, вирусологическим, серологическим (в том числе с помощью иммуноферментного анализа), молекулярно-генетическим и биологическим методами на выявление возбудителей вирусной, бактериальной и паразитарной этиологии (таблица). Обнаружены антитела/антиген к возбудителям туляремии, ГЛПС, клещевого энцефалита, а также детектированы ДНК/РНК возбудителей лептоспирозов и клещевого энцефалита [2].

Массовый сбор иксодовых клещей из различных биотопов о. Русский позволил подтвердить обитание здесь четырех видов иксодид: *Ixodes persulcatus* Schulze, 1930; *Haemaphysalis concinna* Koch 1844; *H. japonica douglasi* Nuttall et Warburton, 1915; *Dermacentor silvarum* Olenov, 1932 – обычных для территории Приморского края [1, 5, 7, 9, 13] и обнаружить новый для этой территории вид – *I. pavlovskyi* Pomerantzev, 1946. В ходе двух весенних обследований собрано 1142 особи иксодовых клещей, причем доля *I. pavlovskyi* составила около 16 % от общей суммы, что позволило установить существование на острове самостоятельных популяций этого вида с высокой численностью особей [3, 8].

Суммарное обилие иксодовых клещей колебалось по учетам от 9,0 до 63,0 особей на флажок-час, в том числе в зоне строительства объектов саммита на полуострове Саперный [3, 4]. Все обнаруженные иксодовые клещи могут участвовать в поддержании циркуляции в природных очагах болезней целого ряда патогенных для человека возбудителей [6, 7, 8, 13]. Индивидуальное изучение имаго клещей показало наличие в них вируса клещевого энцефалита (изолировано девять штаммов), боррелий, риккетсий, эрлихий, анаплазм (таблица). Наиболее зараженным оказался *I. persulcatus*, что согласуется с данными предыдущих исследований [6, 7]. Значительную роль в поддержании циркуляции вируса клещевого энце-

Результаты исследования на комплекс возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней полевого и клинического материала, собранного в 2011-2012 гг. на о. Русский

Исследуемый материал	Метод	Нозологическая форма	Результаты исследований	
			всего	из них положительных (абс./%)
Образцы сывороток крови людей (выявление антител)	ИФА	Иерсиниозы	77	12/15,5
	РНГА	Туляремия	77	16/20,7
	РМАЛ	Лептоспирозы	77	2/2,6
	ИФА	КЭ	77	15/19,4
	РН	КЭ	77	11/14,2
	ИФА	ИКБ	77	5/5
	ИФА	ГАЧ	77	0
	ИФА	МЭЧ	27	0
	РСК	Риккетсиозы	77	3/3,9
	РН	Инко	77	6/7,8
	РН	Гета	77	5/6,5
	РН	Батаи	77	1/1,3
	ИФА	ЛЗН	77	7/9,1
	НМФА	ГЛПС	77	1/1,3
Образцы сывороток крови мелких млекопитающих (выявление антител)	РНГА	Туляремия	101	4/3,9
	НМФА	ГЛПС	97	1/1,03
	ИФА	КЭ	4	1/25,0
Суспензии органов мелких млекопитающих (выявление антигенов)	ИФА	ГЛПС	101	0
	ИФА	ЛЗН	101	0
	ИФА	КЭ	97	3/3,1
Суспензии органов мелких млекопитающих (выявление РНК/ДНК)	ОТ-ПЦР / ПЦР	КЭ	101	24/23,8
		ЛЗН	101	0
		Лептоспирозы	101	7/6,9
		Туляремия	97	0
Биопроба (от мелких млекопитающих)	Бак. анализ	Туляремия	4	0
Индивидуальные суспензии иксовых клещей (обнаружение антигенов)	ИФА	КЭ	884	21/2,4
Индивидуальные суспензии иксовых клещей (обнаружение РНК/ДНК)	ОТ-ПЦР / ПЦР	КЭ	1065	236/22,2
		ИКБ	1068	210/19,7
		КР	743	134/18,0
		МЭЧ	551	8/1,5
		ГАЧ	552	8/1,4
Индивидуальные суспензии иксовых клещей (изоляция в биопробе и культуре клеток)	Вирусологический	КЭ	190	9/4,7
Штаммы вируса	Секвенирование фрагмента генома	КЭ	9	9

фалита и боррелий играет *I. pavlovskyi* [3].

На основании данных о видовом составе, численности и зараженности иксовых клещей возбудителями трансмиссивных зооантропонозов проведена дифференциация территории острова по степени эпидемиологического риска. Установлено, что наибольшая опасность связана с пребыванием людей в лесных биотопах по сравнению с антропогенно трансформированными. Учитывая сохранение иксовыми клещами активности в сентябре–октябре [4, 10], рекомендовано, наряду с вакцинопрофилактикой обслуживающего саммит персонала от клещевого энцефалита, проведение дератизационных и акарицидных обработок на п-ве Саперный непосредственно перед саммитом АТЭС [3].

В ходе мониторинга объектов окружающей среды на вибриофлору из поверхностных водоемов Приморья за последние три года изолировано 10

авирулентных штаммов *Vibrio cholerae* O1 серогруппы. Стационарные точки отбора проб на холеру определены заблаговременно и утверждены для каждого поверхностного водоема Управлением Роспотребнадзора по Приморскому краю и Иркутским научно-исследовательским противочумным институтом. В 2010–2012 гг. из 1496 проб поверхностных водоемов на территории Владивостокского городского округа выделено 140 штаммов вибрионов не O1/O139 серогрупп, 51 культура *V. parahaemolyticus*, 290 – *V. alginolyticus*, 55 – *V. metschnikovii* [14]. Обследование акватории о. Русский выявило разнообразный вибриофлору водных объектов: в пробах морской воды в четырех из пяти обследованных точек обнаружено присутствие галофильных вибрионов – *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. metschnikovii* (рис. 1). Значительное инфицирование галофильными вибрионами поверхностных водоемов не исключает возник-



Рис. 1. Точки отбора проб на вибриофлору на о. Русский, откуда изолированы *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. metschnikovii* (отмечены красными метками)

новение вспышек ОКИ по типу токсикоинфекций, что требует настороженности медицинской службы при выявлении пищевых отравлений, связанных с употреблением морепродуктов [12].

Климатогеографические особенности региона, а также регулярное обнаружение в пробах из водоемов Приморья штаммов нетоксигенного холерного вибриона эльтор позволяют предполагать наличие условий для его сохранения и размножения в окружающей среде, где может произойти накопление токсигенных эпидемически опасных клонов возбудителя холеры в случае их заноса на территорию установленными или невыявленными больными и (или) вибрионосителями, что и имело место при эпидемических осложнениях¹ в Приморском крае в 1999 г.

Высокий риск заноса инфекции на территорию Приморья, обусловленный увеличением миграционных потоков из неблагоприятных по холере стран, в том числе и за счет привлечения к строительству и реконструкции объектов саммита иностранной рабочей силы, диктует необходимость усиления санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска через государственную границу РФ. Однако на современном этапе развития транспортных средств своевременное обнаружение опасных инфекционных больных в пунктах пропуска весьма затруднено, что существенно повышает роль лечебно-профилактических учреждений в раннем выявлении таких больных на эта-

пах обращения за медицинской помощью. Высокий процент легких форм и вибрионоительства при холере эльтор, а также интенсивное развитие зон рекреации выдвигает на передний план в системе профилактических мероприятий мониторинг вибриофлоры объектов окружающей среды с обязательной углубленной оценкой биологических свойств (в том числе молекулярно-генетических особенностей) изолируемых культур холерного вибриона, а также надзор за системами водоснабжения и водоотведения на территории, что и было предусмотрено при подготовке саммита АТЭС.

В ходе подготовки к противоэпидемическому обеспечению мероприятий саммита АТЭС в Центре индикации и диагностики опасных инфекционных болезней в Дальневосточном федеральном округе на базе ФКУЗ «Хабаровская противочумная станция» (Центр индикации) разработано и внедрено в практику положение о проведении диагностических исследований, определяющее их спектр и алгоритмы выполнения. Отработаны логистические схемы доставки и приема проб в Центр индикации из Владивостока с использованием авиационного (3–5 ч), автомобильного (8–10 ч) и железнодорожного транспорта (12–14 ч). На основе анализа эпидемиологической и эпизоотологической обстановки в Приморском и Хабаровском краях, а также в странах-участниках саммита в Центре индикации создан запас диагностических препаратов, сред, расходных материалов для выявления возбудителей 31 вирусной, риккетсиозной и 22 бактериальных болезней, в т.ч. микроорганизмов III–IV групп патогенности, способных к эпидемическому распространению воздушно-капельным путем или тяжелому течению

¹Вспышка холеры во Владивостоке, обусловленная атипичным клоном *V. cholerae* eltor, продолжалась в течение 33 дней в августе-сентябре 1999 г. с регистрацией 23 больных, 5 вибрионосителей и обнаружением токсигенного холерного вибриона в объектах окружающей среды [11]. Формирование местного очага произошло спустя три недели после заноса инфекции на территорию Приморского края водителями автотранспорта, прибывшими из КНР.

(*Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* и др.). Расширение диагностических исследований позволило в 2010–2011 гг. увеличить расшифровку пневмоний с атипичным клиническим течением и летальными исходами до 90 %, а также впервые лабораторно верифицировать 10 случаев лихорадки Денге (в Приморском крае – 7, Хабаровском – 3) и лейшманиоза у двух больных, вернувшихся из эндемичных стран (Таиланд, Вьетнам) в Хабаровск. Как показал опыт, реальное время доставки проб клинического материала из ЛПУ Владивостока составляет от 5–6 до 18 ч.

На основании оценки эпизоотолого-эпидемиологической обстановки на о. Русский, инфекционной заболеваемости во Владивостоке в канун саммита АТЭС, с учетом времени его проведения, степень риска возникновения эпидемических осложнений определена как умеренная, не исключающая возникновения спорадических случаев опасных инфекционных болезней среди участников, гостей саммита, обслуживающего персонала. В то же время нельзя было полностью исключить угрозу биотерроризма во время саммита.

На период проведения саммита АТЭС для повышения противоэпидемической готовности (на основании приказа Руководителя Федеральной службы Роспотребнадзора № 832 от 20.08.2012 г.) во Владивосток направлена группа сотрудников из состава специализированной противоэпидемической бригады (СПЭБ) Иркутского научно-исследовательского противочумного института, включающая эпидемиолога, двух бактериологов, вирусолога и паразитолога с необходимым материально-техническим оснащением.

Для обеспечения эпидемиологического благополучия в период проведения саммита АТЭС перед специалистами СПЭБ и противочумных учреждений поставлены следующие задачи:

- индикация и лабораторная диагностика возбудителей опасных инфекционных болезней и других инфекций неясной этиологии с тяжелым или атипичным течением;
- исследование материала, подозрительного на опасные инфекционные болезни вирусной и риккетсиозной этиологии Центром индикации;
- усиление эпидемиологического надзора за холерой;
- контроль и оценка оперативной эпизоотолого-эпидемиологической ситуации на транспортных узлах и эпидемиологически значимых объектах Владивостока;
- оказание практической и методической помощи в проведении противоэпидемических мероприятий учреждениям Роспотребнадзора и Департамента здравоохранения.

Развертывание группы СПЭБ осуществлено на базе Владивостокского отделения ФКУЗ «Приморская противочумная станция», оснащенного баканализатором «Vitek 2 Compact» и оборудова-

нием для проведения молекулярно-генетических исследований с учетом результатов в режиме реального времени и по конечной точке.

Перед началом работы саммита проведено санитарно-топографическое обследование точек отбора проб на наличие холерного вибриона из поверхностных водоемов Владивостока (закрепленных за Владивостокским ПЧО) с оценкой их санитарно-гигиенического состояния. Географические координаты стационарных точек отбора проб фиксировались с помощью GPS-навигатора Garmin GPSmap 62s. Экспорт и интеграция пространственных данных осуществлялись с использованием программ Mapsource 6.16.03 и Google Earth на платформе Microsoft Windows 2007. Результаты обследования и оценки позволили сделать вывод об эпидемиологической обоснованности выбранных точек отбора проб, из них 13 используются для рекреационного водопользования (в т.ч. федерального значения), а 10 находятся ниже сброса неочищенных и необеззараженных сточных вод (рис. 2).

Для специалистов Приморской ПЧС и эпизоотолого-диагностической группы СПЭБ на период проведения саммита установлен двухсменный график работы, организовано круглосуточное дежурство. Всего в проведении мероприятий участвовали 10 специалистов противочумных учреждений, задействовано две единицы автотранспорта.

По прибытии во Владивосток организовано взаимодействие группы СПЭБ с Управлением Роспотребнадзора по Приморскому краю, ФБУЗ ЦГиЭ в Приморском крае и Департаментом здравоохранения. Проведены два рабочих совещания о готовности группы СПЭБ, Центра индикации, Приморской ПЧС, оптимизации и организации их работы в случае выявления больного опасной инфекционной болезнью, взаимодействию с учреждениями здравоохранения, Роспотребнадзора края. По результатам эпизоотолого-эпидемиологического обследования территории о. Русский в преддверии саммита АТЭС дана оценка рисков возникновения трансмиссивных зооантропонозов. Согласованы тактика экспресс-диагностики клинического материала от больных с диагнозом, не исключающим холеру, кишечные инфекции вирусной этиологии, другие опасные инфекционные болезни, схемы транспортировки, при необходимости, клинического материала в Центр индикации.

Эпидемиологическая ситуация на о. Русский и во Владивостоке в период проведения международного форума сохранялась благополучной. Однако среди участников, гостей саммита и обслуживающего персонала зарегистрировано 20 случаев ОКИ, у всех заболевших выставлен диагноз «Пищевая токсикоинфекция» (ПТИ) различной степени тяжести.

За период работы с 3.09 по 11.09.2012 г. специалистами противочумных учреждений исследован материал от 10 больных с диагнозом ПТИ с диарейным синдромом, не исключающим холеру, 35 образцов

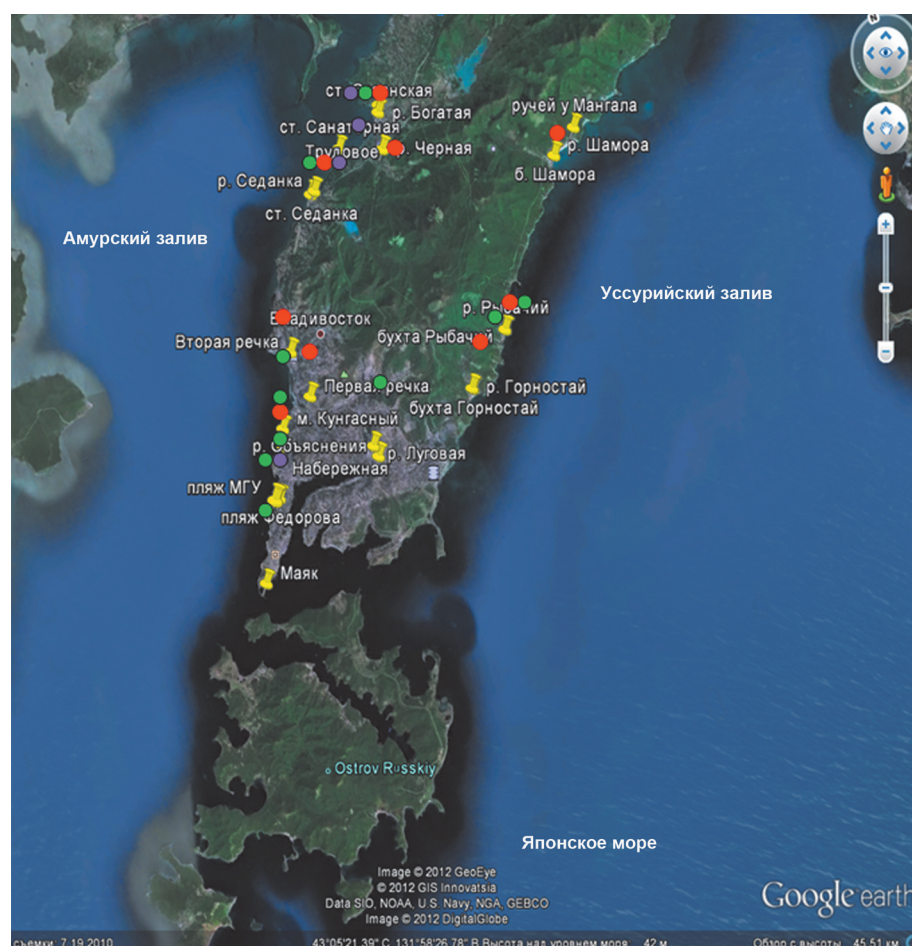


Рис. 2. Пункты мониторинга состояния поверхностных водоемов Владивостока и его окрестностей:

● – точки выделения *Vibrio cholerae* не O1/O139 серогрупп: из пресной воды ручьев Горностай и поселка Рыбачий; ручьев 1 и 2 бухты Лазурной; рек Богатая, Черная, Шамора, Седанка, Первая и Вторая, из морской воды в Спортивной гавани;

● – *V. alginolyticus* (пр. Объяснения, Богатая, море в районе бухты Щитовой, Лазурной, Федорова, поселка Рыбачий, Спортивной гавани, пляжа МГУ, мыса Кунгасный, станции Седанка, Маяк);

● – *V. parahaemolyticus* (бухта Федорова, море в районе станций Океанская, Санаторная, Седанка)

воды поверхностных водоемов и 3 пробы ила на наличие холерного вибриона.

На заселенность грызунами обследованы территории торгового порта, морского и железнодорожного вокзалов и других объектов Владивостока площадью 5800 кв.м. Отработано 275 ловушко-суток, отловленные пять серых крыс и одна полевая мышь исследованы на чуму с отрицательным результатом. Эктопаразитов не обнаружено.

Выполнено 665 микробиологических исследований, в том числе:

- молекулярно-генетических исследований на чуму, холеру и кишечные инфекции вирусной этиологии, из них: 20 – методом ПЦР в режиме реального времени на кишечные вирусные инфекции с использованием наборов реагентов для выявления РНК энтеровирусов («АмплиСенс Enterovirus-FL»), ротавирусов группы А, норовирусов 2 генотипа и астровирусов («АмплиСенс Rotavirus/Norovirus/Astrovirus-FL»); 54 – методом ПЦР с электрофоретической детекцией результатов на наличие гена холерного токсина *ctxA* с использованием тест-системы «Генхол», (производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», Саратов); 21 – методом ПЦР в режиме реального времени с использованием наборов реагентов для выявления ДНК *Yersinia pestis* («АмплиСенс *Yersinia pestis*-FL»);

- бактериологических исследований – 150 (про-

изведено 1830 посевов, изучено 469 подозрительных колоний), в т.ч. и с применением автоматического микробиологического анализатора «Vitek 2 Compact»;

- серологических исследований – 420 методом флуоресцирующих антител с иммуноглобулинами диагностическими флуоресцирующими холерными к O1 серогруппе, реакция иммобилизации вибрионов и ориентировочная реакция агглютинации с сыворотками диагностическими холерными O1, O139 и RO.

При исследовании материала от больных методом ПЦР на холеру и вирусные кишечные инфекции получены отрицательные результаты.

При бактериологическом исследовании выделены две культуры группы ЭПКП от больного У. – гражданина Канады (участвующего в работе саммита) и больной Е. (обслуживающий персонал), одна культура *V. parahaemolyticus* от больного Т. (участника саммита). Изучение *V. parahaemolyticus*, выполненное на базе лаборатории холеры Иркутского научно-исследовательского противочумного института, установило наличие характерного для этого возбудителя гена *flaE* фрагмента родоспецифического гена 16S rRNA и отсутствие генов *ctxA* *tcpA* *wbe* *wbf* *hly*. По гемолитической активности на среде Вагатцума культура Канагава – положительна, обладает энтеротоксигенными свойствами.

Из проб воды поверхностных водоемов выделено 16 штаммов *Vibrio cholerae* не O1/O139 серо-

групп, 18 штаммов галофильных вибрионов, в т.ч. 14 *V. alginolyticus*, 4 – *V. parahaemolyticus* (рис. 2).

Таким образом, мероприятия по обеспечению эпидемиологического благополучия гостей и участников саммита АТЭС, основанные на взаимодействии региональных противочумных учреждений с противоэпидемической и медицинской службами Приморского края, показали свою эффективность.

Основные задачи в период подготовки саммита по выявлению эпидемиологических рисков в отношении комплекса опасных и природно-очаговых инфекционных болезней и в период проведения саммита по усилению мониторинга воды поверхностных водоемов, морской акватории на вибриофлору, обследование больных ОКИ, не исключая холеру, а также материала от грызунов на чуму были успешно выполнены. Исполнение учреждениями Роспотребнадзора рекомендованных мер по профилактике трансмиссивных, зооантропонозных природно-очаговых инфекций позволило минимизировать риск заражения ими на о. Русский.

В результате оперативной работы специалистов противочумной службы с привлечением эпидемиолого-диагностической группы из состава СПЭБ диагноз ОКИ подтвержден выделением возбудителей эшерихиоза и галофилеза в двух и одном случае соответственно у участников и обслуживающего персонала международного форума. В пробах морской воды обнаружены 14 штаммов галофильных вибрионов и 16 холерных вибрионов не O1/O139 серогрупп. Среднесуточная нагрузка на лабораторную группу составила 60 исследований в сутки, что стало возможным в результате рационального использования сил и средств и размещения ее на базе противочумного учреждения.

Проведенные санитарно-эпидемиологической службой края противоэпидемические мероприятия по локализации и ликвидации возникших очагов позволили предотвратить развитие массовых эпидемических осложнений.

Противочумные учреждения и сформированные на их базе специализированные формирования (СПЭБ), оснащенные современным высокотехнологичным оборудованием для выполнения лабораторных исследований, наглядно продемонстрировали способность осуществлять эффективный эпидемиологический мониторинг и разработку комплекса профилактических мероприятий в рамках своей компетентности как на этапе подготовки, так и в период проведения крупномасштабных политико-экономических мероприятий российского и международного уровней совместно с территориальными органами и учреждениями Роспотребнадзора, минимизируя риск возникновения чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера.

Дальнейшее развитие о. Русский как крупного научного, культурного и рекреационного центра на Дальнем Востоке, открытого для международного туризма, неизбежно повлечет за собой антропоген-

ную трансформацию всего природного комплекса, что требует постоянного мониторинга опасных, природно-очаговых инфекций и оптимизации эпидемиологического надзора, в том числе инфекционных болезней, имеющих значение в краевой патологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алленов А.В., Борзов В.П., Краснощеков В.Н., Боровская Н.А., Кушнарцева Т.В., Кириков В.Ю. Сочетанность природных очагов туляремии, лептоспироза и хантавирусной инфекции в экосистемах Приморского края. Тихоокеанский мед. журн. 2008; 2:40–3.
2. Андаев Е.И., Борисова Т.И., Сидорова Е.А., Адельшин Р.В., Никитин А.Я., Балахонов С.В. Изоляция и молекулярно-генетическая характеристика вируса клещевого энцефалита от иксодовых клещей с острова Русский (Приморский край). Сиб. мед. журн. 2012; 4:93–6.
3. Балахонов С.В., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Алленов А.В., Борисенко Е.А., Зверева Т.В., Гордейко Н.С., Краснощеков В.Н., Адельшин Р.В., Борисова Т.И., Вержуцкая Ю.А., Вершинин Е.А., Сидорова Е.А. Эколого-паразитологическая характеристика совмещенных очагов инфекций, передаваемых клещами, на территории проведения Саммита АТЭС (2012 г.). Сиб. мед. журн. 2012; 4:67–71.
4. Балахонов С.В., Никитин А.Я., Зверева Т.В., Адельшин Р.В., Алленов А.В., Андаев Е.И., Борисенко Е.А., Борисова Т.И., Вержуцкая Ю.А., Вершинин Е.А., Гордейко Н.С., Климов В.Т., Краснощекова В.Н., Сидорова Е.А. Эпизоотологическое обследование острова Русский и меры, необходимые для предотвращения заболеваемости населения и участников саммита АТЭС инфекциями, передающимися иксодовыми клещами. Пробл. особо опасных инф. 2012; 2(112):5–8.
5. Бурухина Е.Г., Жебровская Е.В., Петрова Н.К., Просяникова М.Н., Захарова Г.А., Симонов С.Б. Иксодовые клещи и их эпизоотологическое значение на острове Русский. Здоровье. Медицинская экология. 2012; 3–4 (49–50):187–90.
6. Бурухина Е.Г., Симонов С.Б., Симонов П.С., Симонова Т.Л., Жебровская Е.В. Мышевидные грызуны и их роль в поддержании природно-очаговых инфекций на острове Русский. Здоровье. Медицинская экология. 2012; 3–4 (49–50):185–7.
7. Конева И.В. Использование карты населения иксодовых клещей для эпидемиологического прогнозирования. В кн: Опыт создания карты иксодовых клещей Азиатской России. Иркутск: Ин-т геогр. Сибири и ДВ СО РАН СССР, 1974. С. 55–72.
8. Леонова Г.Н. Клещевой энцефалит в Приморском крае: вирусологические и эколого-эпидемиологические аспекты. Владивосток: Дальнаука; 1997. 190 с.
9. Никитин А.Я., Зверева Т.В., Гордейко Н.С., Борисенко Е.А., Вержуцкая Ю.А., Каменева Т.А. Структура сообществ иксодовых клещей в континентальной части юга Приморского края и на острове Русский. Бюл. ВСНЦ. 2012; 5 (87 Ч. 1):281–3.
10. Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Грижебовский Г.М., Клинухов В.П. Обеспечение защиты от биологических угроз при проведении Олимпийских игр. Пробл. особо опасных инф. 2010; 4(106):5–8.
11. Онищенко Г.Г., Марамович А.С., Голубинский Е.П., Маслов Д.В., Вершкова Т.И., Урбанович Л.Я., Алленов А.В., Мурначев Г.П., Гарковенко Л.Е., Воронок В.М. Холера на Дальнем Востоке России. Сообщение 1. Эпидемиологическая характеристика вспышки холеры эльтор в г. Владивостоке. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2000; 5:26–31.
12. Онищенко Г.Г., Ганин В.С., Голубинский Е.П. Вибрионы не O1 серологической группы и их значение в патологии человека. М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2001. 384 с.
13. Симонов С.Б., Симонов П.С., Симонова Т.Л., Борисова Д.С. Мышевидные грызуны острова Русский (Южное Приморье). Зоол. журн. 2010; 89(11):1366–73.
14. Смоликова Л.М., Монахова Е.В., Шалу О.А., Голенничева Е.Н., Алленов А.В., Мурначев Г.П., Хоменко Т.В., Жиров А.Я., Гальцева Г.В., Непомнящая Н.Б., Божко Н.В., Дуванова О.В., Чемисова О.С., Санамянц Е.М., Рыковская О.А., Саакалянц М.М. Биологические особенности паразитических вибрионов, выделенных в Черноморском и Дальневосточном регионах Российской Федерации. Холера и патогенные для человека вибрионы. 2011; 24:129–35.
15. Филиппова Н.А., Пласскина М.А. Некоторые аспекты внутривидовой изменчивости близкородственных видов группы *Dermacentor marginatus* (Acari: Ixodidae) как показатель микроэволюционного процесса. Паразитология. 2005; 39(5):337–64.
16. Communicable disease alert and response for mass gatherings: key consideration [Internet]. Geneva: WHO; 2008 [cited 19 Nov 2012]. 119 p. Available from http://www.who.int/csr/Mass_gatherings2.pdf

References

1. Allenov A.V., Borzov V.P., Krasnoshchekov V.N., Borovskaya N.A., Kushnareva T.V., Kiryakov V.Yu. [Combined natural foci of tularemia, leptospirosis and hantaviral infection in the ecologic systems of the Primorsky Region]. *Tikhookeansky Med. Zh.* 2008; 2:40–5.
2. Andaev E.I., Borisova T.I., Sidorova E.A., Adel'shin R.V., Nikitin A.Ya., Balakhonov S.V. [Isolation and molecular-genetic characterization of the tick-borne encephalitis virus from Ixodes ticks at the Russky Island (Primorsky Region)]. *Sibirsky Med. Zh.* 2012; 4:93–6.
3. Balakhonov S.V., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Allenov A.V., Borisenko E.A., Zvereva T.V., Gordeiko N.S., Krasnoshchekov V.N., Adel'shin R.V., Borisova T.I., Verzhutskaya Yu.A., Vershinin E.A., Sidorova E.A. [Ecological-parasitologic characteristics of the combined tick-borne infections foci in the territory of APEC Summit holding in 2012]. *Sibirsky Med. Zh.* 2012; 4:67–71.
4. Balakhonov S.V., Nikitin A.Ya., Zvereva T.V., Adel'shin R.V., Allenov A.V., Andaev E.I., Borisenko E.A., Borisova T.I., Verzhutskaya Yu.A., Vershinin E.A., Gordeiko N.S., Klimov V.T., Krasnoshchekova V.N., Sidorova E.A. [Epizootiological survey of the isle Russian and measures necessary for the prophylaxis of tick-born infections among population of the Region and participants of APEC Summit]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 2 (112):5–8.
5. Burukhina E.G., Zhebrovskaya E.V., Petrova N.K., Prosyannikova M.N., Zakharova G.A., Siminov S.B. [Ixodic ticks and their epizootiological significance on the isle Russian]. *Zdorov. Medits. Ecol.* 2012; 3–4(49–50):187–90.
6. Burukhina E.G., Simonov S.B., Simonov P.S., Simonova T.L., Zhebrovskaya E.V. [Mouse-like rodents and their role in maintaining of natural-focal infections on the island Russian]. *Zdorov. Medits. Ecol.* 2012; 3–4(49–50):185–7.
7. Koneva I.V. [Use of map of ixodic ticks population for epidemiological forecast]. In: [Experience of Mapping of Ixodic Ticks in Asian Russia]. Irkutsk: 1974. P. 55–72.
8. Leonova G.N. [Tick-Borne Encephalitis in the Primorye Region: Virological, Environmental-and-Epidemiological Aspects]. Vladivostok: 1997. 190 p.
9. Nikitin A.Ya., Zvereva T.V., Gordeiko N.S., Borisenko E.A., Verzhutskaya Yu.A., Kameneva T.A. [Community Structure of Ixodic Ticks in the Continental Part of the South in the Primorye Region and the Island Russian]. *Byul. VSNTs.* 2012; 5(87 Part 1):281–3.
10. Onishchenko G.G., Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Grizhebovsky G.M., Klindukhov V.P. [Ensuring of protection from biological threats during Olympic Games]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; (106):5–8.
11. Onishchenko G.G., Maramovich A.S., Golubinsky E.P., Maslov D.V., Vershkova T.I., Urbanovich L.Ya., Allenov A.V., Murnachev G.P., Garkovenko L.E., Voronok V.M. [Cholera in the Far East of Russia. Communication 1. Epidemiological characteristics of the outbreak of cholera El tor in Vladivostok]. *Zh. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2000; 5:26–31.
12. Onishchenko G.G., Ganin V.S., Golubinsky E.P. [Vibrios of non-O1 Serological Group and Their Significance in Human Pathology]. M.: 2001; 384 p.
13. Simonov S.B., Simonov P.S., Simonova T.L., Borisova D.S. [Mouse-like rodents of the Island Russian (South Primorye)]. *Zool. Zh.* 2010; 89(11):1366–73.
14. Smolikova L.M., Monakhova E.V., Shalu O.A., Golenishcheva E.N., Allenov A.V., Murnachev G.P., Khomenko T.V., Zhiron A.Ya., Gal'iseva G.V., Nepomnyashchaya N.B., Bozhko N.V., Duvanova O.V., Chemisova O.S., Sanamyants E.M., Rykovskaya O.A., Sagakyants M.M. [Biological features of *Vibrio parahaemolyticus* isolated in the Black Sea and Far East regions of the Russian Federation]. *Kholera Patogen. dlya Chelov. Vibriony.* 2011; 24:129–35.
15. Philippova N.A., Plaskina M.A. [Some aspects of intraspecific variability of the closely related species of the *Dermacentor marginatus* complex (Acari: Ixodidae) as a demonstration of microevolutionary process]. *Parazitologia.* 2005; 39(5):337–64.
16. Communicable disease alert and response for mass gatherings: key consideration [Internet]. Geneva: WHO; 2008 [cited 19 Nov 2012]. 119 p. Available from http://www.who.int/csr/Mass_gatherings2.pdf

Authors:

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

Allenov A.V., Khomenko T.V. Primorsk Plague Control Station. 46, Dzerzhinskogo St., Ussuriysk, 692512, Russian Federation.

Ivanov L.I., Koval'sky A.G. Khabarovsk Plague Control Station. 7, Sanitarniy Per., Khabarovsk, 680031, Russian Federation. E-mail: chum@chum.khv.ru

Об авторах:

Балахонov С.В., Андаев Е.И., Чеснокова М.В., Никитин А.Я., Косилко С.А., Куликалова Е.С. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Алленов А.В., Хоменко Т.В. Приморская противочумная станция. Российская Федерация, 692512, Приморский край, г. Уссурийск, ул. Дзержинского, 46. E-mail: prchsadm@mail.ru

Иванов Л.И., Ковальский А.Г. Хабаровская противочумная станция. Российская Федерация, 680031, Хабаровский край, г. Хабаровск, Санитарный пер., 7. E-mail: chum@chum.khv.ru

Поступила 05.12.12.

Ю.М.Евченко¹, А.Н.Куличенко¹, Г.А.Мозлов², В.М.Мезенцев¹ОСОБЕННОСТИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ
ЦЕНТРАЛЬНО-КАВКАЗСКОГО ВЫСОКОГОРНОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ¹ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация; ²ФГБУН «Институт экологии горных территорий» Кабардино-Балкарского Научного центра РАН, Нальчик, Российская Федерация

В пределах Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы установлено наличие двух участков природной очаговости. Участок природной очаговости в горной степи восточной части очага имеет паразитарную систему, сходную по структурной организации и функционированию с равнинными очагами сусликового типа. Второй участок, располагающийся в западной части, сходен с Тувинским горным природным очагом чумы, в котором также отсутствуют блохи *Neopsylla setosa*, а эпизоотическая активность характеризуется одновершинной кривой с апогеем в июле-августе. Сходство очагов может быть использовано для оптимизации приемов эпидемиологического надзора, профилактических мероприятий, а также методологии изучения горных природных очагов сусликового типа.

Ключевые слова: природный очаг чумы, участки природной очаговости, паразитарная система.

Yu.M.Evchenko¹, A.N.Kulichenko¹, G.A.Mozlov², V.M.Mezentsev¹

Peculiarities of Spatial Structure of the Central Caucasian High-Mountain Natural Plague Focus

¹Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation; ²Institute of Ecology of the Mountain Areas, RAS Scientific Center in Kabardino-Balkaria, Russian Federation

Within the limits of Central Caucasian high-mountain natural plague focus discovered are two zones of natural focality. The first natural focality zone in the mountain steppe of the eastern part of the focus has a parasitic complex similar in structural organization and functioning to lowland foci of the souslik type. Another one, situated in the western part of the focus, is compatible with Tuva mountain natural plague focus, where fleas *Neopsylla setosa* are absent, and epizootic activity is characterized by a single-humped curve with an apex for July-August period. The similarities stated above can be used for optimization of epidemiological surveillance techniques, preventive measures, and methodology of studying mountain natural plague foci of the souslik type.

Key words: natural plague focus, natural focality zones, parasitic complex.

В разных районах Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы условия циркуляции чумного микроба существенно отличаются [5]. Пространственная структура этого очага характеризуется наличием двух участков очаговости, отличающихся между собой особенностями паразитарных систем и сезонной динамикой проявлений чумы. Учет и анализ динамики дает возможность усовершенствовать систему эпизоотического мониторинга рассматриваемых очаговых территорий. Тем более, аналогичные особенности пространственной структуры и паразитарной системы Тувинского горного природного очага чумы ранее уже были внедрены в практику эпидемиологического надзора [1, 3].

Материалы и методы

Для анализа сезонной активности природного очага использована созданная нами база данных в системе Excel Microsoft Office 2000 на основе официальных форм отчетности Кабардино-Балкарской противочумной станции за период 1971–2011 гг.

База данных содержит такие характеристики, как пункт выделения штаммов чумы, шифр первичного сектора, год и месяц отбора полевых проб, объекты,

из которых выделены штаммы чумного микроба, в том числе подобранные трупы животных и отловленные суслики.

Эпизоотическую активность разных участков природного очага характеризовали количеством выделенных штаммов чумного микроба [4]. Анализ внутригодовой активности разных участков природного очага проводили, характеризуя закономерности динамики изменений количества выделенных штаммов в разные месяцы эпизоотического сезона. Летальность горных сусликов от чумной инфекции вычисляли путем определения доли числа трупов от общего числа живых зверьков и трупов, от которых выделены штаммы чумного микроба, соответственно отловленных и собранных на изучаемых участках очага. При статистической обработке полученных данных использовали метод ранговой корреляции Спирмена (r_s). Критическим уровнем значимости результатов статистического исследования принимали 0,05 [7].

Результаты и обсуждение

В восточной части очага, расположенной в Кабардино-Балкарской республике (КБР), качествен-

ный состав сочленов паразитарной триады сходен с равнинными природными очагами сусликового типа, в том числе здесь распространены типичные штаммы чумного микроба, а основные носители – горные суслики – по генетическим критериям стоят ближе к малым сусликам Предкавказья [5]. Однако видовой состав основных переносчиков чумы в различных группах поселений горных сусликов существенно отличается. Первая группа объединяет поселения в восточной части очага, где одним из основных переносчиков являются блохи *N. setosa*. Вторая группа – поселения горного суслика в восточной части очага, на которых блохи *N. setosa* или не встречаются, или их численность находится на очень низком уровне. В западной части очага, расположенной в пределах Карачаевского и Малокарачаевского районов Карачаево-Черкесской республики (КЧР), штаммы чумного микроба обладают сниженной вирулентностью, аукоотрофностью по пролину, а также имеют дополнительную четвертую плазмиду. В качестве основных переносчиков выступают блохи только одного вида – *Citellophilus tesquorum ciscaucasicus* (Ioff, 1936).

Непосредственными критериями дифференциации первой и второй групп послужили данные о выделении штаммов чумного микроба от блох *N. setosa*. По этому признаку к первой группе отнесены поселения горных сусликов, расположенные в пределах шести первичных секторов: 23801434, 23801441, 23801442, 23801531, 23801532, 23801533 (рис. 1).

Они находятся, преимущественно, в горной степи долины р. Баксан, как на правом берегу, т.е. в Баксано-Черекском ландшафтно-эпизоотологическом районе,

так и на левом – в Малко-Баксанском ландшафтно-эпизоотологическом районе Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы. Их общая площадь составляет около 4800 га, что равно 48–50 % площади всех поселений, расположенных на горностепных участках Малко-Баксанского и западной части Баксано-Черекского ландшафтно-эпизоотологических районов. Эти поселения получили названия урочищ, в которых они расположены: 1-е ущелье, 3-е ущелье, Былым, Былым (огороды), Верхний Перк, Гижгит I, Гижгит II, Калакол, Камук, Коштан, Кырбаши, Кюльходжар, окрестности пос. Былым, Перк, Ранбаши, Сад, Старый Былым, Хычау, Шашбоуат.

Вторая группа объединяет поселения горного суслика в восточной части природного очага, на которых не зарегистрированы зараженные чумным микробом блохи *N. setosa*. Они расположены, преимущественно, в зоне субальпийских и альпийских лугов в правобережье р. Малка на западе и бассейне р. Баксан на востоке. Общая площадь поселений носителя на них составляет около 21 тыс. га. В их пределах блохи *N. setosa* могут встречаться в отдельных поселениях горного суслика, однако, по данным многолетнего эпизоотологического обследования, случаев их заражения не наблюдалось.

Эпизоотии в урочищах, расположенных в горной степи долины р. Баксан, имеют два пика активности. Первый – весенний – приходится на апрель, второй – на июнь (рис. 2).

Сезонная активность эпизоотий в зонах альпийских и субальпийских лугов имеет характер одновершинной кривой с максимальным количеством вы-

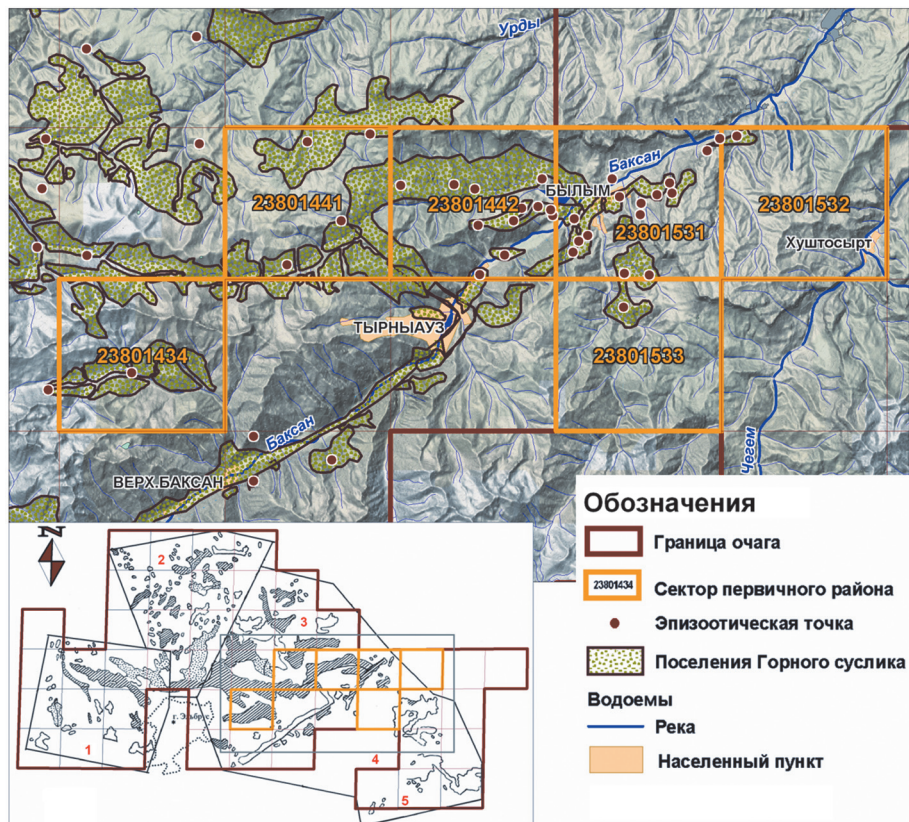


Рис. 1. Карта-схема Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы (внизу) и участок природной очаговости в горной степи долины р. Баксан (вверху):

1 – Верхне-Кубанский, 2 – Кубано-Малкинский, 3 – Малко-Баксанский, 4 – Баксано-Чегемский, 5 – Чегемо-Черекский

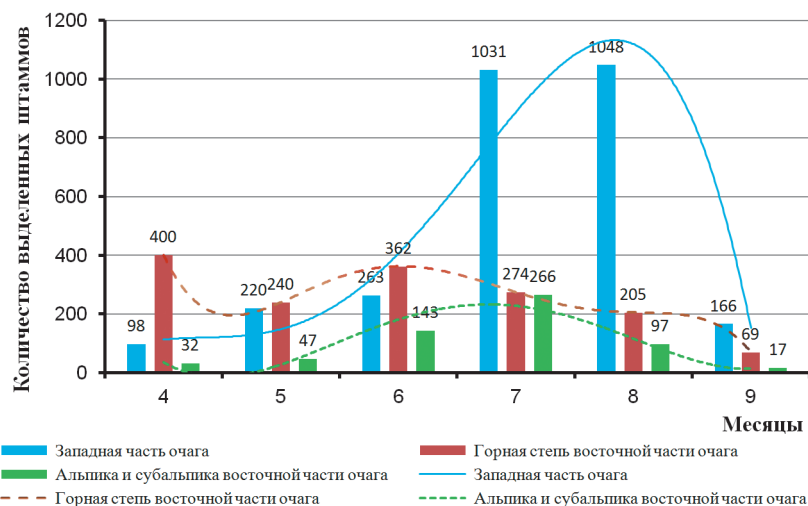


Рис. 2. Эпизоотическая активность в горной степи р. Баксан, в зонах альпийских и субальпийских лугов восточной части, западной части Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы

деленных штаммов в июле, при этом она проявляет статистически достоверное сходство с таковою в западной части очага ($r_{s1} = 0,786$) и отличие – от горной степи долины р. Баксан ($r_{s2} = 0,314$).

Важным признаком функционирования паразитарной системы является острота течения чумной инфекции в популяциях основного носителя на разных этапах эпизоотического процесса. При этом достаточно надежным критерием течения эпизоотий является летальность горных сусликов от чумы в природных условиях. В горной степи долины р. Баксан летальность характеризуется высокими показателями в первой половине эпизоотического сезона и низкими во второй (таблица).

В зоне альпийских и субальпийских лугов восточной части очага летальность сусликов растет с апреля, достигая максимальных показателей в августе, и продолжает регистрироваться с несколько пониженным значением в сентябре. Различия с горной степью обладают статистической значимостью ($r_{s3} = 0,086$). В рамках настоящего исследования эта группа поселений горного суслика пока не может быть охарактеризована как участок природной очаговости за отсутствием соответствующих данных о структуре и функциональных особенностях сочленов паразитарной триады.

Иная картина наблюдается в Кубано-Малкинском и Верхне-Кубанском ландшафтно-эпизоотологических районах, составляющих западную часть природного очага. Динамика летальности у них относится к одной генеральной совокупности: корреляция является статистически значимой ($r_{s4} = 0,943$).

В апреле и мае летальность не регистрируется, но уже в июне достигает максимального значения в сезоне. В следующие месяцы она, снижаясь, остается на достаточно высоком уровне. Кубано-Малкинский и Верхне-Кубанский районы имеют статистически достоверные различия летальности сусликов с таковыми в восточной части очага, в зоне альпийских и субальпийских лугов ($r_{s5} = 0,643$ и $r_{s6} = 0,586$) и горной степи в долине р. Баксан ($r_{s7} = 0,071$ и $r_{s8} = 0,129$ соответственно).

Таким образом, в структуре паразитарной системы Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы установлено наличие двух участков природной очаговости. Участок природной очаговости в горной степи долины р. Баксан имеет паразитарную систему, сходную по структурной организации и функционированию с равнинными очагами сусликового типа. Он располагается в пределах следующих первичных секторов: 23801434, 23801441, 23801442, 23801531, 23801532, 23801533. Западная часть, составляющая основную территорию Центрально-Кавказского высокогорного природного очага, имеет сходство с Тувинским горным природным очагом чумы, в котором также отсутствуют блохи *N. setosa* [3], эпизоотическая активность характеризуется одновершинной кривой с апогеем в июле–августе, когда отмечено преобладание высоковирулентных штаммов чумного микроба [1, 2, 6]. Сходство очагов может быть использовано для оптимизации приемов эпидемиологического надзора, профилактических мероприятий, а также методологии изучения горных природных очагов сусликового типа.

Летальность горных сусликов на разных участках Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы

Участки природного очага	Летальность в течение эпизоотического сезона, %					
	апрель	май	июнь	июль	август	сентябрь
Горная степь в долине р. Баксан	55	54,5	56,6	30	18,8	0
Альпийка и субальпийка в восточной части очага	40	37,5	46,2	51,6	57,1	33,3
Западная часть очага, Кубано-Малкинский район	0	0	64	35,4	38,5	5
Западная часть очага, Верхне-Кубанский район	0	0	41,2	25	11,9	7,1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Базанова Л.П., Попков А.Ф., Галацевич Н.Ф. Сезонная динамика заражающей способности блохи *Citellophilus tesquorum altaicus* в Тувинском природном очаге чумы. Паразитология. 2004; 38(1):46–7.
2. Вержуцкий Д.Б. Динамика активности участков очаговости Тувинского природного очага чумы. Мед. паразитол. и паразитарн. бол. 2003; 3:36–9.
3. Иннокентьева Т.И., Попков А.Ф., Вержуцкий Д.Б., Базанова Л.П., Вершинин Е.А., Корзун В.М., Немченко Л.С., Никитин А.Я., Окунев Л.П., Очиров Ю.Д., Чипанин Е.В. Совершенствование эпизоотологического мониторинга в природных очагах чумы Сибири. Пробл. особо опасных инф. 2002; 1(83):52–8.
4. Куличенко А.Н., Евченко Ю.М., Мозлов Г.А., Григорьев М.П., Ляпустина Л.В., Чурикова Н.В. Эпизоотическая активность Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы. Пробл. особо опасных инф. 2011; 4(110):23–6.
5. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 192 с.
6. Ростовцев М.Г., Хомушку Е.Ч., Калаш Ю.А., Чульдун А.Ф. Новый подход к оценке сезонной активности Каргинского участка очаговости Тувинского очага чумы. Бюл. Восточно-Сибирского науч. центра Сиб. отд. РАН. 2004; 2(1):157–4.
7. Сидоренко Е.В. Методы математической обработки в психологии. СПб: Речь; 2007. 220 с.

References

1. Bazanova L.P., Popkov A.F., Galatsevich N.F. [Seasonal dynamics of infecting ability in fleas *Citellophilus tesquorum altaicus* in the Tuva natural plague focus]. Parazitologia. 2004; 38(1):46–7.
2. Verzhutsky D.B. [Dynamics of activity as regards natural focal-ity zones of Tuva natural plague focus]. Med. Parazitol. Parazitarn. Bol.

2003; 3:36–9.

3. Innokent'eva T.I., Popkov A.F., Verzhutsky D.B., Bazanova L.P., Vershinin E.A., Korzun V.M., Nemchenko L.S., Nikitin A.Ya., Okunev L.P., Ochirov Yu.D., Chipanin E.V. [Improvement of epizootiological monitoring in the natural plague foci of Siberia]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2002; (83):52–8.
4. Kulichenko A.N., Evchenko Yu.M., Mozlov G.A., Grigor'ev M.P., Lyapustina L.V., Churikova N.V. [Epizootic activity of the Central Caucasian high-mountain natural plague focus]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2011; (110):23–6.
5. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci in the territory of Caucasus, Caspian Sea Region, Central Asia, and Siberia]. M.: Meditsina; 2004. 192 p.
6. Rostovtsev M.G., Khomushku E.Ch., Kalush Yu.A., Chal'dum A.F. [Novel approach to the evaluation of seasonal activity of the Karkinsk focal-ity zone in the territory of Tuva natural plague focus]. Bulletin of the East-Siberian Scientific Center, RAMS Siberian Branch. 2004; 2(1):157–4.
7. Sidorenko E.V. [Methods of Mathematical Processing in Psychology]. St. Petersburg: Rech'; 2007. 220 p.

Authors:

Evchenko Yu.M., Kulichenko A.N., Mezentsev V.M. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru
 Mozlov G.A. Institute of Ecology of the Mountain Areas, RAS Scientific Center in Kabardino-Balkaria. Nalchik, Russian Federation.

Об авторах:

Евченко Ю.М., Куличенко А.Н., Мезенцев В.М. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru
 Мозлов Г.А. Институт экологии горных территорий Кабардино-Балкарского Научного центра РАН. Российская Федерация, Нальчик.

Поступила 04.07.12.

А.Н.Матросов¹, В.Н.Чекашов¹, А.М.Поршаков¹, С.А.Яковлев¹, М.М.Шилов¹, А.А.Кузнецов¹,
К.С.Захаров¹, Т.В.Князева¹, Т.В.Мокроусова¹, С.И.Толоконникова¹, А.И.Удовиков¹, Т.Ю.Красовская¹,
И.Н.Шарова¹, У.А.Кресова², О.В.Кедрова¹, Н.В.Попов¹, С.А.Щербакова¹, В.В.Кутырев¹

УСЛОВИЯ ЦИРКУЛЯЦИИ ВИРУСА И ПРЕДПОСЫЛКИ ФОРМИРОВАНИЯ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»;
Российская Федерация; ²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области», Саратов,
Российская Федерация

Региональные изменения климата (повышение средних температур и количества осадков, увеличение длительности безморозного периода года) приводят к расширению ареалов и росту численности животных – носителей и переносчиков вируса Западного Нила на территории Саратовской области. По результатам эколого-эпизоотологического мониторинга в 2006–2012 гг. отслежены видовой состав, динамика численности и характера распределения птиц водного и антропогенного комплексов, кровососущих комаров и иксодовых клещей. Рассматриваются возможные причины расширения нозоареала ЛЗН, связанные с экологией перелетных птиц, зимующих в Африке. Устойчивая циркуляция вируса в интразональных пойменных биоценозах способствует формированию вторичных природных очагов лихорадки Западного Нила и приводит к эпидемическим осложнениям по этой особо опасной трансмиссивной инфекции. На основе анализа плотности гидрографической сети, структуры фауны и численности птиц и комаров – потенциальных носителей и переносчиков ВЗН, результатов эпизоотологического и эпидемиологического обследования разработана прогностическая картосхема, иллюстрирующая вероятность формирования устойчивых очагов этой инфекции в разных районах области.

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила, птицы, комары, клещи.

A.N.Matrosov¹, V.N.Chekashov¹, A.M.Porshakov¹, S.A.Yakovlev¹, M.M.Shilov¹, A.A.Kuznetsov¹, K.S.Zakharov¹,
T.V.Knyazeva¹, T.V.Mokrousova¹, S.I.Tolokonnikova¹, A.I.Udovikov¹, T.Yu.Krasovskaya¹, I.N.Sharova¹,
U.A.Kresova², O.V.Kedrova¹, N.V.Popov¹, S.A.Shcherbakova¹, V.V.Kutyrev¹

Conditions for Virus Circulation and Premises for Natural West Nile Fever Foci Formation in the Territory of the Saratov Region

¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation; ²Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region, Saratov, Russian Federation

Local climate change (rise of mean temperatures and amount of precipitation, prolongation of frost-free season) triggers further distribution, and increase in numbers of animals – carriers and vectors of West Nile fever virus in the territory of the Saratov region. Based on the results of ecological-epizootiological monitoring (2006–2012) traced out have been the species composition, abundance dynamics, and character of distribution of birds habitant in aquatic and anthropogenic complexes, mosquitoes and *Ixodidae* ticks. Investigated are possible causes of West Nile fever nosoarea expansion, related to ecology of migrating birds wintering in Africa. Persistent circulation of the virus in intra-zonal inundated biocenosis facilitates formation of secondary natural foci of West Nile fever and factors into epidemic complications as regards this particularly dangerous vector-borne infection. On the basis of analytical data concerning hydrographic network density, fauna structure, population numbers of birds and mosquitoes – potential carriers and vectors of WNF, epizootiological and epidemiological surveillance, designed has been expectation-driven forecasting map chart which illustrates possibility of sustainable WNF foci formation in various territories of the Saratov region.

Key words: West Nile fever, birds, mosquitoes, ticks.

В настоящее время обострилась ситуация по Лихорадке Западного Нила (ЛЗН) – особо опасной арбовирусной природно-очаговой трансмиссивной болезни, характеризующейся широким распространением по всему миру [4, 7, 14]. На территории России ее активные проявления начали регистрировать с 1997 г. В период 1997–2012 гг. общее число больных составило 2126 чел. При этом последовательно проявлялась тенденция к росту заболеваемости населения и расширению нозоареала ЛЗН. К 2012 г. число регионов, где отмечаются случаи заболеваний, возросло до 21, а маркеры вируса Западного Нила (ВЗН) обнаружены в 53 субъектах Российской Федерации [8].

Природными резервуарами ВЗН являются беспозвоночные и позвоночные животные, среди которых большое значение в его распространении имеют перелетные птицы. Общеприняты представления о том, что энзоотичными по ЛЗН являются тропические и субтропические зоны Африки и Азии, а на территории умеренных зон вирусы заносятся мигрирующими птицами [5, 15]. Как правило, в организме птиц околотовидного комплекса (гусеобразные, ржанкообразные, поганкообразные, веслоногие и аистообразные) инфекция протекает в скрытой форме, но наблюдаются длительная персистенция возбудителя и высокий уровень вирусемии, которые обеспечивают массовое заражение орнитофильных

комаров-переносчиков. Из птиц наземного комплекса большое эпидемиологическое значение в качестве носителей ВЗН имеют врановые птицы и голуби, высокая численность которых в населенных пунктах может приводить к инфицированию синантропных комаров и заражению людей. Современные данные свидетельствуют о большой роли кровососущих членистоногих в хранении и передаче возбудителя, в первую очередь комаров. *Culex*, *Aedes* и *Anopheles*, а также клещей рр. *Hyalomma*, *Argas*, *Ornithodoros* и др. В циркуляцию ВЗН могут также включаться дикие млекопитающие и домашние животные: лошади, коровы и верблюды [4]. Современное расширение нозоареала ЛЗН связано с изменениями климата [9].

Заносы ВЗН на территорию Саратовской области подтверждаются результатами многолетних исследований, осуществляемых региональными учреждениями Роспотребнадзора. Антигены вируса ранее были выявлены в пробах от комаров *Anopheles maculipennis* и *Ochlerotatus cataphylla*, а также от клещей *Rhipicephalus rossicus*, *Rh. schulzei*, *Dermacentor marginatus* и *D. reticulatus* [3, 6, 13]. В 2012 г. в Саратовской области было зарегистрировано 11 больных ЛЗН.

Материалы и методы

Для анализа использованы материалы эколого-эпизоотологических наблюдений на территории Саратовской области, осуществляемых группой специалистов РосНИПЧИ «Микроб» и Центра гигиены и эпидемиологии в Саратовской области в 2006–2012 гг. Целевые исследования по ЛЗН начаты в 2010 г. на территориях, граничащих с эндемичными по этой болезни районами Волгоградской области. Первоочередному обследованию подвергались участки поймы Волги, а также долин степных рек Карамыш, Медведица, Большой Иргиз, Еруслан, Большой и Малый Узени. Общая площадь районов обследования составила 49,8 тыс. кв. км.

Для лабораторных исследований по ЛЗН были добыты 631 экз. птиц 88 видов, 3878 млекопитающих, 11527 комаров, 15057 иксодовых клещей, 459 гамазовых клещей, 360 клопов и 90 жуков-стафилинид. За период работ накоплено в процессе отлова мелких млекопитающих – 25834 ловушко-ночей, при учете птиц – 9537 км автомобильных и 489 км пеших маршрутов, при сборе комаров – 88 ч, клещей – 528 флаго-километров. На автомобильных маршрутах было учтено 65430 экз. птиц, на пеших – 28943. Птиц отстреливали на водоемах и в окрестностях населенных пунктов. Мелких млекопитающих учитывали при отлове на ловушко-линиях. Комаров отлавливали эксгаустером по методу Гуцевича «на себе». Иксодовых клещей в природных биотопах собирали флаanelевыми флагами, а также при осмотре млекопитающих. Гамазовые клещи были собраны с грызунов или из гнезд береговой ласточки, кровососущие клопы – из нор и гнезд береговой ласточки.

С целью выявления маркеров (антигены и РНК) ВЗН исследовали суспензии головного мозга птиц, органов млекопитающих (печени, селезенки, легких, почек), суспензии кровососущих членистоногих. Для обнаружения антигенов ВЗН использовали иммуноферментный анализ (ИФА), для выявления РНК вируса – ОТ-ПЦР-анализ. Исследования проводили в соответствии с инструкциями по применению тест-систем.

Результаты и обсуждение

Территория Саратовской области располагается на юго-востоке Русской равнины в пределах 3 природных зон – лесостепной, степной и полупустынной. Континентальный климат региона характеризуется большой изменчивостью по годам, засушливостью и обилием солнечных и ветреных дней. Гидрографическая сеть представлена водоемами Волжского и Донского бассейнов, а также бессточным бассейном Камыш-Самарских озер. В растительном покрове доминирует степная растительность, лесной фонд небогат (лесистость 6,2 %). Животный мир достаточно разнообразен.

Формирование фауны животных, изменения их ареалов, численности и характера распределения по территории определяются природными факторами, а в ряде случаев зависят от антропогенных воздействий. В последние десятилетия в европейской части России наблюдаются изменения климата: укоротился морозный и увеличилась длительность безморозного периодов, повысились средние температуры, возросло количество осадков, изменилось распределение их по сезонам года [10]. Сменился гидрологический режим, произошла трансформация фоновой растительности [2]. Все эти явления напрямую или опосредованно повлияли на распространение патогенных микроорганизмов – возбудителей инфекций и структуру заболеваемости природно-очаговыми болезнями в регионе.

Природные условия левобережной и правобережной частей области существенно различаются. Правобережная часть располагается на юге Приволжской возвышенности и отличается холмистым рельефом, иссечена оврагами и балками. Долина Волги определяет структуру интразональных ландшафтов, характеризующихся большим биоразнообразием. На западе в границах Окско-Донской равнины рельеф сглаживается, но долины миандрирующих рек Хопер и Медведица также способствуют формированию богатой флоры и фауны. В низменном левобережье ландшафты долины Волги отличаются богатством фауны, а в пределах Сыртовой равнины, отрогов Общего Сырта и Прикаспийской низменности преобладают зональные ландшафты засушливых степей и полупустыни, фауна которых относительно бедна. Таким образом, в Саратовской области в настоящее время имеются все условия для формирования природных очагов ЛЗН.

В орнитофауне Саратовской области насчитывается 334 вида птиц, относящихся к 19 отрядам [1]. По нашим данным, в долинах и поймах рек в 2006–2012 гг. было зарегистрировано 179 видов птиц, среди которых наиболее часто встречались в периоды гнездования, весенних и осенних миграций 120 видов. При этом преобладали по численности в периоды весенних и осенних миграций речные утки (ИД 13,3 %), нырковые утки (7,2 %), чайковые (11,8 %), кулики (10,2 %) и врановые (5,5 %). В летний послегнездовой период доля речных уток и куликов сокращалась (ИД 5,0 % у обеих групп), относительно высоким был ИД лысухи (10,0 %), большого баклана (8,1 %), ласточек (10,3 %), в то время как у чаек он сохранялся на уровне показателей, сравнимых с долей в периоды перелетов (12,3 %).

По материалам учетов, проведенных на автомобильных маршрутах, общая численность птиц в июле-августе колебалась в разные годы от 34 до 236 особей на 1 кв. км. Обращают на себя внимание различия в численности популяций правобережья и левобережья. Общая средняя плотность птиц на низменном левом берегу составила 132 ос./кв. км, что вдвое выше, чем на правом – 56. По всем группам лимнофильных птиц, исключая ракшеобразных и ласточек, численность в левобережье была заметно выше. На возвышенном правом берегу располагаются основные гнездовья золотистой шурки, сизоворонки, береговой ласточки, что отражается на структуре группировок. Так численность ласточек на правом берегу составила 32,6 ос./кв. км, ИД 58,0 %, на левом – 17,3 ос./кв. км и 13,3 % соответственно. Синантропные группировки птиц: врановые, воробьи по численности также заметно выше в левобережье. На водоемах по учетам на пеших маршрутах эти тенденции также хорошо просматриваются. Здесь общая численность птиц по годам варьировала от 248 до 676 ос./кв. км. В заливах и заводях низменного левого берега много уток, лебедей, лысух, цаплевых, чаек и куликов, а также врановых и скворцов, зато ракшеобразных и ласточек было гораздо больше на правом берегу.

В периоды весенних и осенних миграций орнитофауна обогащается пролетными видами. Территория области располагается в границах Восточно-Европейского миграционного потока, связывающего европейскую часть России с Африкой. Основные места зимовок саратовских популяций лимнофильных видов находятся в Прикаспии, Причерноморье, Средиземноморье, Западной и Южной Европе. Вместе с тем из 209 наиболее часто встречающихся видов птиц 90 зимуют в Африке, энзоотичной по ЛЗН. В их число входят такие многочисленные и колониальные виды, как большой баклан, сизая и озерная чайки, речная, черная, белошекая, белокрылая, малая крачки, черный стриж, сизоворонка и золотистая шурка, береговая, деревенская и городская ласточки, серый и малый жаворонки. По материалам учетов мигрирующих птиц в ранневесенний и

осенний периоды также отмечались различия показателей численности. По учетам на автомобильных маршрутах общая их плотность в апреле варьировала в разные годы от 48 до 116 ос./кв. км, в конце октября – от 36 до 91 ос./кв. км. Вполне естественно, что численность птиц на водоемах при учетах на пеших маршрутах была в 5 раз больше общего показателя на всей территории. Средний показатель плотности околоводных птиц весной составил 390, осенью – 259 ос./кв. км.

Фауна млекопитающих области включает 84 вида из 6 отрядов [12]. В наших сборах мелкие млекопитающие, обитающие во влажных интразональных биотопах, были представлены 16 видами: домовая, малая лесная, полевая и желтогорлая мыши, обыкновенная, общественная и водяная полевки, обыкновенная слепушонка, ондатра, степная пеструшка, степная мышовка, серый хомячок и хомячок Эверсмана, лесная соня, малая белозубка и обыкновенная бурозубка. Явно доминировали во все сезоны обследования всего 4 вида: малая лесная (ИД 36,1 %) и домовая (ИД 35,0 %) мыши, обыкновенная (ИД 8,6 %) и общественная (ИД 12,6 %) полевки. Численность мелких млекопитающих в период исследований колебалась по годам. Средний многолетний показатель в мае составил 8,9 % попадания в давилки. Во второй половине лета численность возрастала и в августе достигала 20,3 %. Ее многолетний уровень в конце лета на возвышенном правобережье составил 16,8 %, на низменном левом берегу был почти вдвое выше – 27,7 %. Отличалась также и структура пойменных биоценозов: на правом берегу в сборах отмечали 5 видов мелких млекопитающих, на левом – 9.

В современный период кровососущие комары в области представлены 25 видами, из которых массовыми можно указать лишь 8. В наших сборах 2010–2012 гг. отмечено 13 видов, в числе которых летом преобладали 7: *Aedes vexans* (ИД=31,4 %), *Ochlerotatus cantans* (16,7 %), *Oc. cyprius* (4,5 %), *Anopheles maculipennis* (25,5 %), *An. hyrcanus* (8,1 %), *Culex modestus* (6,0 %) и *Cx. pipiens* (3,5 %). В конце апреля 2012 г. в полупустынной зоне саратовского Заволжья был отмечен массовый выплод *Oc. caspius* (собрано 1165 экз.). Индексы обилия (ИО) комаров в сезоны активного нападения, по нашим данным, составили 18 экз. за 20 мин при колебаниях от единичных насекомых до 129 экз. При этом обилие существенно различалось на правом и левом берегах. В 2011 г. по результатам учета в июле средний ИО составил в правобережной части 13, в левобережной – 24. В 2012 г. учеты выявили аналогичную тенденцию: численность комаров на правом берегу в июне 16, на левом – 43; в августе – 19 и 29 соответственно. Обращали на себя внимание различия в суточной активности нападения комаров. В весенний период наблюдалась дневная активность, летом она смещалась на сумеречные часы, а осенью снова сдвигалась на теплое дневное время. В июле-августе в самые жаркие дни комары оказывались активными в короткий

вечерний период (с 20.00) в течение 1–2 ч.

Фауна иксодовых клещей Саратовской области насчитывает 12 видов 5 родов: *Dermacentor* (3 вида), *Rhipicephalus* (2), *Ixodes* (4), *Haemaphysalis* (1) и *Hyalomma* (2). Широко распространенными и многочисленными являются *D. marginatus*, *D. reticulatus*, *Rh. rossicus*, *Ix. ricinus* и *Hl. scupense* [11]. В 2006–2012 гг. в интразональных биотопах нами были собраны клещи 7 видов, из которых преобладали 3: *D. marginatus* (ИД 68,7 %), *D. reticulatus* (20,0 %) и *Hl. scupense* (9,0 %). Численность иксодовых клещей, максимальная активность которых на территории области наблюдается в апреле–мае и августе–сентябре, также различалась. На территории правобережья средний показатель весной составил 21 (17–27), левобережья – 29 экз./флаго-км (11–58). В сентябре численность клещей достигала 13 экз./флаго-км.

В 2012 г. нами были проведены исследования паразитофауны земляных нор и гнезд береговой ласточки – массового колониального вида, гнездящегося в глинистых обрывах и откосах по берегам рек, на склонах оврагов, в карьерах. Из 46 нор, раскопанных в период строительства гнезд, собрали 630 экз. беспозвоночных, из 48 нор после вылета птенцов – 5651 экз. Членистоногие-нидиолы в этих сборах были представлены 3 классами: высшие раки, паукообразные и насекомые. Из высших раков в массе встречались мокрицы, из паукообразных – пауки, скорпионы, гамазовые и иксодовые клещи, из насекомых – стафилиниды, карапузики, муравьи, чернотелки, кожееды, клопы и блохи. Всего было собрано 6281 экз. беспозвоночных, в числе которых 3235 (51,5 %) относятся к кровососущим эктопаразитам. В период строительства гнезд фауна и численность нидиолов были небогатые. Общий ИО составил 13,7, а индекс встречаемости (ИВ) — 78,3 %, в том числе для кровососущих членистоногих – 0,4 и 7,4 % соответственно. В августе число видов возросло, значительно увеличилась численность беспозвоночных: ИО 117,7, ИВ 100,0 %, в том числе кровососущих паразитов – 67,4 и 87,5 % соответственно. Таким образом, численность нидиолов – обитателей гнезда береговой ласточки к концу лета возрастает в 8,5 раза. При этом в сотни раз увеличивается доля кровососущих эктопаразитов. С учетом полученных данных можно предположить, что беспозвоночные нидиолы могут играть большую роль в сохранении вируса ЛЗН и участвовать в трансвариальной и трансфазовой его передаче.

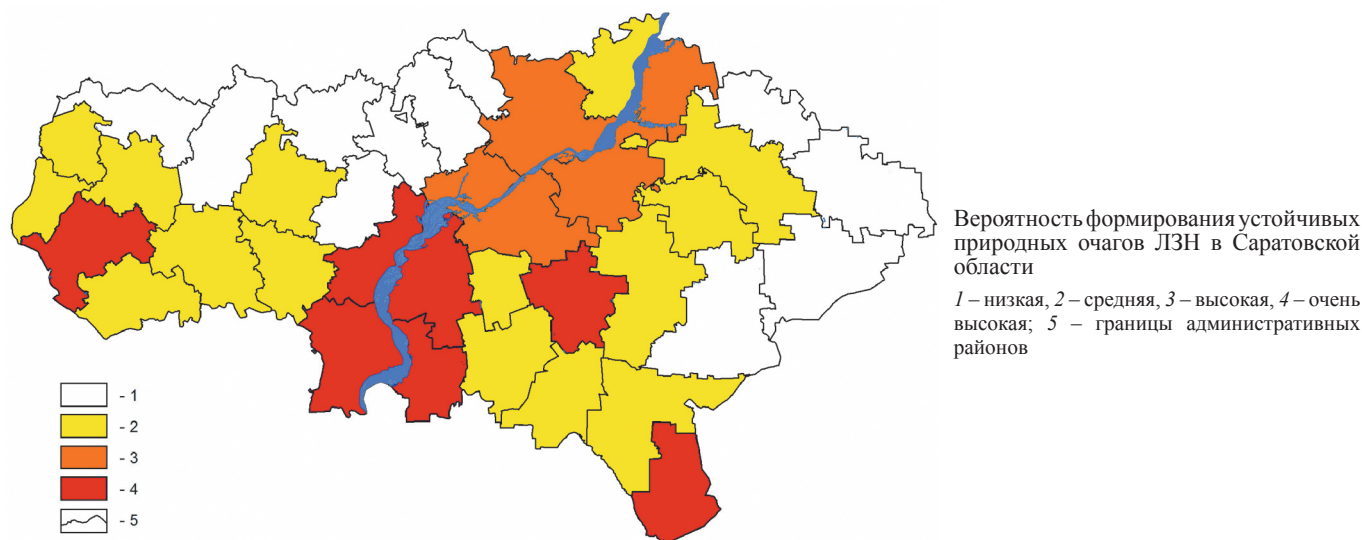
При исследовании в 2006–2012 гг. на ВЗН 3956 проб биологического материала маркеры вируса были обнаружены в 47 (1,2 %) пробах. Из 38 положительных проб суспензий органов млекопитающих (1,8 %) от домашней мыши было 18 проб, малой лесной мыши – 6, обыкновенной полевки – 8, общественной полевки – 3, рыжей полевки – 2, зайца-русака – 1. Из 8 положительных проб суспензий мозга птиц (1,4 %) от большого баклана и серой цапли обнаружено по 2 пробы, от сизой чайки, речной крачки, полевого

воробья и серой вороны – по 1 пробе. При исследовании иксодовых клещей положительный результат выявлен в одном случае (0,1 %) – от клеща *D. marginatus*. Исследования суспензий комаров положительных результатов не дали.

На основании проведенных исследований можно констатировать, что на территории Саратовской области в популяциях птиц лимнофильного и антропогенного комплексов, а также мелких млекопитающих устойчиво циркулирует вирус Западного Нила. Под воздействием климата и антропогенных трансформаций природных биоценозов меняются фауна, численность и характер распределения животных – носителей и переносчиков ВЗН. Повышение температуры и увеличение влажности стимулировало смещение ареалов теплолюбивых видов к северу, привело к росту численности животных, увеличило длительность активного периода в годовом цикле жизни кровососущих эктопаразитов (возросло число генераций полициклических видов комаров). Эти же условия оказались благоприятными и для распространения микроорганизмов, в числе которых много патогенных видов: бактерий, риккетсий и вирусов. Расширение ареала и устойчивая циркуляция ВЗН в природных биоценозах приводит к формированию природных очагов ЛЗН. По всей вероятности, в настоящее время происходит становление антропоургических очагов ЛЗН в населенных пунктах, располагающихся в долинах и поймах рек, изобилующих удобными биотопами для массового размножения кровососущих комаров и клещей, скопления птиц антропогенного комплекса.

Можно также заключить, что расширение зооареала ЛЗН связано с целым комплексом факторов и условий, приводящих к заносу возбудителя и его сохранению на территории Саратовской области. По всей вероятности, из птиц большое значение как носители ВЗН имеют не только гусеобразные, веслоногие, аистообразные и ржанкообразные – обитатели водоемов, но и представители ракшеобразных и воробьинообразных, в первую очередь колониальные виды. Постоянный занос ВЗН возможен во время перелетов мигрантов, зимующих на африканском континенте: куликов, чаек, крачек, ласточек, стрижей, шурок и сизоворонок. Самое пристальное внимание необходимо обратить на изучение роли береговой ласточки – массового колониального вида, гнездящегося на обширной территории России и устраивающего гнезда в земляных норах. Наши предварительные данные о богатой фауне и высокой численности нидиолов в гнездах этого вида являются основанием для углубленного изучения вопроса о возможности сохранения ВЗН в подземных норах птиц.

На основании результатов проведенных исследований в Саратовской области нами разработана прогностическая картосхема, иллюстрирующая вероятность формирования природных очагов ЛЗН (рисунок). При ее проектировании были использованы качественные критерии: плотность гидрографи-



ческой сети, структура фауны и численность птиц и комаров – потенциальных носителей и переносчиков ВЗН, результаты эпизоотологического и эпидемиологического обследования. К территориям с низкой вероятностью формирования устойчивых природных очагов ЛЗН мы отнесли районы лесостепи и степи с неразвитой гидрографической сетью, в связи с чем здесь низка доля пойменных биотопов, привлекающих перелетных и гнездящихся птиц, нет условий для массового размножения кровососущих членистоногих – клещей и комаров. Территории со средней вероятностью формирования природных очагов – районы лесостепи и степи с более или менее развитой гидрографической сетью, но численность птиц и комаров невысока. Сюда могут заноситься вирусы, но условий для их устойчивой циркуляции нет. К территориям с высокой вероятностью формирования стойких очагов лихорадки относятся районы, расположенные в долинах Волги и других рек, изобилующие птицами и комарами, и где есть условия для стойкой циркуляции вируса в природных биотопах. Наконец, на территориях с очень высокой вероятностью формирования устойчивых очагов ЛЗН уже обнаружены маркеры ВЗН в биологическом материале (птицы, клещи, грызуны, сыворотки крови доноров), либо зарегистрированы спорадические случаи заболеваний ЛЗН среди населения. Именно в этих районах возможно возникновение эпидемических осложнений. Проведенная дифференциация может служить основой для планирования обследования и профилактических мероприятий.

Результаты настоящих исследований в Саратовской области свидетельствуют о необходимости постоянного мониторингирования ситуации по лихорадке Западного Нила. От того насколько устойчивы формирующиеся очаги ЛЗН в пространстве и времени в значительной степени зависит тактика эпиднадзора за этой опасной инфекцией. При этом первоочередное внимание следует уделять изучению циркуляции ВЗН в окрестностях населенных пунктов и форми-

рования антропоургических очагов этой лихорадки: риски заражения в таких условиях многократно возрастают. В этой связи и с учетом необходимости проведения комплекса неспецифической профилактики ЛЗН в основу защиты населения должны быть положены современные методы и средства борьбы с комарами в зонах рекреации и в населенных пунктах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Завьялов Е.В., Шляхтин Г.В., Табачишин В.Г., Якушев Н.Н., Хрустов И.А. Птицы севера Нижнего Поволжья. Кн.1. История изучения, общая характеристика и состав орнитофауны. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та; 2005. 296 с.
2. Злотокрылин А.Н., Виноградова В.В. Соотношение между климатическими и антропогенными факторами восстановления растительного покрова юго-востока европейской России. Аридные экосистемы. 2007; 13(33–34):7–16.
3. Красовская Т.Ю., Шербакова С.А., Шарова И.Н., Найденова Е.В., Билько Е.А., Чекашов В.Н., Матросов А.Н., Яковлев С.А., Поршаков А.М., Шилов М.М., Рябова А.В., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Федорова З.П., Кресова У.А., Талаева Е.А., Миронова Н.И., Кутырев В.В. Изучение циркуляции вируса Западного Нила на территории Саратовской области в 2010 г. Пробл. особо опасных инф. 2011; 3(109):13–7.
4. Львов Д.К. Лихорадка Западного Нила. Вопр. вирусол. 2000; 2:4–9.
5. Львов Д.К., Ильичев В.Д. Миграции птиц и перенос возбудителей инфекций (эколого-географические связи птиц с возбудителями инфекций). М.: Наука; 1979. 271 с.
6. Ляпин М.Н., Ермаков Н.М., Маликова Т.А., Головки Е.М., Куляш Г.Ю., Андреева Л.Б., Алексеев Е.В., Сиухин Б.И., Шербакова С.А. Прогнозирование и выявление циркуляции арбовирусов в Саратовской области. В кн.: Вопросы риккетсиологии и вирусологии. Астрахань-Москва; 1996. С. 88–93.
7. Онищенко Г.Г., Литвицкий А.В., Алексеев В.В. Эпидемиологическая ситуация по лихорадке Западного Нила. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. 2011; 3:115–20.
8. Письмо Роспотребнадзора от 05.12.2012 № 01/13890-12-32 Об итогах надзора за ЛЗН в эпидсезон 2012 г. URL: http://rospotrebnadzor.ru/rss_all/-/asset_publisher/Kq6J/content/id/1818119 (дата обращения 15.01.2013).
9. Русев И.Т., Закусило В.Н., Винник В.Д. Эколого-фаунистические предпосылки циркуляции арбовирусов в Северо-Западном Причерноморье. Вісник дніпропетровського університету. Біологія. Медицина. 2011; 2(2):95–109.
10. Сажин А.Н., Петров С.А., Погосян Н.В., Васильев Ю.И., Волошенкова Т.В., Козина О.В., Моников С.Н. Связь внутривековых изменений увлажнения со сменой циркуляционных эпох и ее отражение в природных процессах атлантико-европейского сектора Евразии. Известия РАН. Сер. геогр. 2006; 1:26–34.
11. Турцева М.А., Кресова У.А., Матросов А.Н., Чекашов В.Н., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Шарова И.Н., Красовская Т.Ю., Кузнецов А.А., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Котоманова В.Г., Сантылова О.А. Новые данные о распространении иксодовых клещей и переносимых ими возбудителей природно-

очаговых инфекций в Саратовской области. Пробл. особо опасных инф. 2009; 4(102):40–4.

12. Шляхтин Г.В., Ильин В.Ю., Опарин М.Л., Беляченко А.В., Быстракова Н.В., Ермаков О.А., Завьялов Е.В., Захаров К.С., Кайбелева Э.И., Кошкин В.А., Курмаева Н.М., Лукьянов С.Б., Мосолова Е.Ю., Опарина О.С., Семихатова С.Н., Смирнов Д.Г., Сонин К.А., Табачишин В.Г., Титов С.В., Филиппов А.О., Хучраев С.О., Якушев Н.Н. Млекопитающие севера Нижнего Поволжья. В кн.: Состав териофауны. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та; 2009. 248 с.

13. Щербакова С.А., Билько Е.А., Найденова Е.В., Красовская Т.Ю., Слудский А.А., Князева Т.В., Матросов А.Н., Чекашов Н.В., Шарова И.Н., Самойлова Л.В., Кутырев В.В. Выявление антигенов арбовирусов в комарах и клещах, обитающих на территории Саратовской области. Мед. паразитол. и паразитарн. бол. 2009; 2:38–41.

14. Patersen L.R., Roehrig J.T. West Nile virus: A reemerging global pathogen. Emerg. Infect. Dis. 2001; 7(4):611–4.

15. Rappole J. H., Derrickson Scott R., Hubalek Z. Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. Emerg. Infect. Dis. 2000; 4(6):319–28.

References

1. Zav'yalov E.V., Shlyakhtin G.V., Tabachishin V.G., Yakushev N.N., Khrustov I.A. [Birds Habitant in the North of the Lower Volga Region. Volume 1. The History of Studies, Avifauna General Properties and Composition]. Saratov: Saratov State University Publishing House; 2005. 296 p.

2. Zlotokrylin A.N., Vinogradova V.V. [Anthropogenic-to-climatic-factor relation as concerns restoration of vegetation cover in the south-east of the European part of Russia]. Aridnye Ekosistemy. 2007; 13(33–34):7–16.

3. Krasovskaya T.Yu., Shcherbakova S.A., Sharova I.N., Naydenova E.V., Bil'ko E.A., Chekashov V.N., Matrosov A.N., Yakovlev S.A., Porshakov A.M., Shilov M.M., Ryabova A.V., Knyazeva T.V., Mokrousova T.V., Fedorova Z.P., Kresova U.A., Talaeva E.A., Mironova N.I., Kutyrev V.V. [Studies of West Nile virus circulation in the territory of the Saratov region in 2010]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2011; (109):13–7.

4. L'vov D.K. [West Nile fever]. Vopr. Virusol. 2000; 2:4–9.

5. L'vov D.K., Il'ichev V.D. [Bird Migration and Etiological Agent Transfer (Ecological-Geographical Connections Between Birds and Infectious Agents)]. M.: Nauka; 1979. 271 p.

6. Lyapin M.N., Ermakov N.M., Malukova T.A., Golovko E.M., Kulyash G.Yu., Andreeva L.B., Alekseev E.V., Siukhin B.I., Shcherbakova S.A. [Forecasting and detection of arbovirus circulation in the territory of the Saratov region]. In: [Issues of Rickettsiology and Virology]. Astrakhan-Moscow; 1996. P. 88–93.

7. Onishchenko G.G., Lipnitsky A.V., Alekseev V.V. [Epidemiological situation on West Nile fever]. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 2011; 3:115–20.

8. Rospotrebnadzor Informational Letter “Regarding the results of surveillance over the WNF during the epidemic season of 2012” [cited 15 Jan 2013]. Available from: http://rospotrebnadzor.ru/bytag2/-/asser_publisher/01Cv/content.

9. Rusev I.T., Zakusilo V.N., Vinnik V.D. [Ecological-faunistic premises of arbovirus circulation in the North-West Black Sea region]. Dmitropevsk

University Bulletin. Biology. Medicine. 2011; 2(2):95–109.

10. Sazhin A.N., Petrov S.A., Pogosyan N.V., Vasil'ev Yu.I., Voloshenkova T.V., Kozina O.V., Monikov S.N. [Connections between inter-secular changes of humidification and circulation period shift, and their manifestations in the natural processes of atlantic-european sector in Eurasia]. RAS Izvestiya. Ser. Geogr. 2006; 1:26–34.

11. Turtseva M.A., Kresova U.A., Matrosov A.N., Chekashov V.N., Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Sharova I.N., Krasovskaya T.Yu., Kuznetsov A.A., Knyazeva T.V., Mokrousova T.V., Scherbakova S.A., Kotomanova V.G., Santylova O.A. [The new data on distribution of ixodic ticks and agents of natural-focal infections transferred by them in Saratov region]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2009; (102):40–4.

12. Shlyakhtin G.V., Il'in V.Yu., Oparin M.L., Belyachenko A.V., Bystryakova N.V., Ermakov O.A., Zav'yalov E.V., Zakharov K.S., Kaybeleva E.I., Koshkin V.A., Kurmaeva N.M., Luk'yanov S.B., Mosolova E.Yu., Oparina O.S., Semikhatova S.N., Smirnov D.G., Sonin K.A., Tabachishin V.G., Titov S.V., Filip'chev A.O., Khuchraev S.O., Yakushev N.N. [Mammals habitant in the north of the Lower Volga region]. In: [Theriofauna Composition]. Saratov: Saratov State University Publishing House; 2009. 248 p.

13. Shcherbakova S.A., Bil'ko E.A., Naydenova E.V., Krasovskaya T.Yu., Sludsky A.A., Knyazeva T.V., Matrosov A.N., Chekashov V.N., Sharova I.N., Samoylova L.V., Kutyrev V.V. [Arbovirus antigen detection in mosquitoes and Ixodic ticks habitant in the territory of the Saratov region]. Med. Parazitol. Parazitarn Bol. 2009; 2:38–41.

14. Patersen L.R., Roehrig J.T. West Nile virus: A reemerging global pathogen. Emerg. Infect. Dis. 2001; 7(4):611–4.

15. Rappole J. H., Derrickson Scott R., Hubalek Z. Migratory birds and spread of West Nile virus in the Western Hemisphere. Emerg. Infect. Dis. 2000; 4(6):319–28.

Authors:

Matrosov A.N., Chekashov V.N., Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Shilov M.M., Kuznetsov A.A., Zakharov K.S., Knyazeva T.V., Mokrousova T.V., Tolokonnikova S.I., Udovikov A.I., Krasovskaya T.Yu., Sharova I.N., Kedrova O.V., Popov N.V., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Kresova U.A. Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region. 69, Bolshaya Gornaya St., Saratov, 410031, Russia. E-mail: fguz@gigiena-saratov.ru

Об авторах:

Матросов А.Н., Чекашов В.Н., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Шилов М.М., Кузнецов А.А., Захаров К.С., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Толоконникова С.И., Удовиков А.И., Красовская Т.Ю., Шарова И.Н., Кедрова О.В., Попов Н.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Кресова У.А. Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области. 410031, Саратов, ул. Большая Горная, 69. E-mail: fguz@gigiena-saratov.ru

Поступила 25.03.13.

Н.В.Попов¹, В.Е.Безсмертный², А.И.Удовиков¹, А.А.Кузнецов¹, А.А.Слудский¹, А.Н.Матросов¹,
Т.В.Князева¹, Ю.М.Федоров², В.П.Попов², А.К.Гражданов¹, Т.З.Аязбаев³, С.А.Яковлев¹,
Т.Б.Караваева¹, В.В.Кутырев¹

ВЛИЯНИЕ СОВРЕМЕННОГО ИЗМЕНЕНИЯ КЛИМАТА НА СОСТОЯНИЕ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЧУМЫ РОССИИ И ДРУГИХ СТРАН СНГ

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация; ³Уральская противочумная станция КГЭСН МЗ Республики Казахстан, Уральск, Республика Казахстан

Изменения климата определяют динамику эпизоотической активности природных очагов чумы в XX–XXI столетиях. В современный период усиление его континентальности в Северном полушарии может привести к выходу из состояния межэпизоотического периода равнинных степных и полупустынных природных очагов Предкавказья, Северного и Северо-Западного Прикаспия. Наблюдаемое в настоящее время одновременное развитие межэпизоотических периодов в природных очагах чумы различной биоценотической структуры на территории Прикаспийской низменности, дает основание предполагать наличие общей причины, обуславливающей депрессивное состояние паразитарных систем в этом регионе. В частности, одной из главных составляющих этого феномена является изменение статуса малого суслика – прежде основного носителя чумы в данном регионе. В связи с изменением климата основную роль в качестве носителей чумы все более приобретают незимоспящие виды грызунов. В частности, в связи с этим ожидается значительный рост эпизоотического потенциала пустынных природных очагов чумы на территории Казахстана и Средней Азии. По мере дальнейшего понижения температур зимних месяцев, увеличения высоты снегового покрова и роста площади ледников, эпизоотическая активность горных и высокогорных природных очагов должна значительно снизиться. Вместе с тем современные данные по экологии чумного микроба, определяющие возможность его существования в почвенной биоте, подтверждают определяющую роль климатических факторов в механизме энзоотии чумы.

Ключевые слова: природные очаги чумы стран СНГ, изменения климата, эпизоотическая активность, эпизоотологический прогноз.

N.V.Popov¹, V.E.Bezsmertny², A.I.Udovikov¹, A.A.Kuznetsov¹, A.A.Sludsky¹, A.N.Matrosov¹, T.V.Knyazeva¹,
Yu.M.Fedorov², V.P.Popov², A.K.Grazhdanov¹, T.Z.Ayazbaev³, S.A.Yakovlev¹, T.B.Karavaeva¹, V.V.Kutyrev¹

Impact of the Present-Day Climate Changes on the Natural Plague Foci Condition, Situated in the Territory of the Russian Federation and Other CIS Countries

¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; ²Plague Control Center, Moscow, Russian Federation; ³Uralsk Plague Control Station of the Committee for Sanitary and Epidemiological Surveillance, Ministry of Health in the Republic of Kazakhstan, Uralsk, Republic of Kazakhstan

Climate changes determine dynamics of epizootic activity of natural plague foci in the XX and XXI centuries. Obvious shift to continentality in the Northern hemisphere can put an end to inter-epizootic period in lowland steppe and semi-desert natural foci of the Pre-Caucasian region, North and North-West Caspian Sea regions. Presently observed conjoined development of inter-epizootic periods in natural plague foci with different biocenotic structure in the territory of Pre-Caspian Lowland gives the grounds for assuming the presence of a common cause preconditioning parasitic system depression in the region. One of the key elements of this phenomenon is a change of status of little souslik – formerly the main plague carrier in the region. Subsequent to the climate change the key role of plague carrier is more often played by non-hibernating rodent species nowadays. Thus a significant increase in epizootic potential of steppe natural plague foci in the territory of Kazakhstan and Central Asia is prognosticated. With the further temperature fall during wintertime, snow cover height increase and glacial area extension epizootic activity of the mountain and high mountain foci must drop off significantly. Alongside with this updated data on plague agent ecology, predetermining possibility of its existence in the soil biota, confirm the key role of climatic factors in the plague enzootic outbreak.

Key words: natural plague foci of the CIS countries, climate changes, epizootic activity, epizootiological prognosis.

На территории России и других стран СНГ расположено 45 природных очагов чумы различной биоценотической структуры с общей площадью 2123660 кв. км [7]. В XX–XXI столетиях под влиянием глобального потепления климата эпизоотическая активность, пространственная и биоценотическая структура очагов чумы, подверглись значительным изменениям. С 90-х годов прошлого столетия в очагах, расположенных в границах степной и полупустынной ландшафтно-географических зон России и других

стран СНГ, имело место развитие глубоких депрессий численности носителей и переносчиков чумного микроба, в первую очередь малого и даурского сусликов, вплоть до установления длительных межэпизоотических периодов [5]. На территории северной подзоны пустыни России и Казахстана эпизоотическая активность природных очагов чумы также значительно снизилась. Напротив, отмечена общая тенденция увеличения площади энзоотии и роста потенциальной эпидемической опасности пустынных природных очагов

чумы, расположенных в южных регионах Республики Казахстан, в первую очередь в Прибалхашье [10]. В горных и высокогорных ландшафтах проявления чумы носили постоянный характер.

Флуктуации эпизоотической активности природных очагов чумы в многолетнем аспекте во многом зависят от ритмики атмосферных процессов, определяющих изменения погодных условий [9, 11]. Разработка и обоснование эколого-эпидемиологических прогнозов позволяет минимизировать негативные последствия повышения эпизоотической активности природных очагов чумы.

Материалы и методы

Оценка активности природных очагов чумы Российской Федерации и других стран СНГ выполнена на основе анализа архивных и оперативных материалов эпизоотологического обследования ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора и ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора за период 1950–2012 гг., а также литературных данных и информационных материалов о состоянии очагов в странах ближнего зарубежья. Для оценки влияния климатических факторов на состояние очагов чумы были привлечены базы унифицированных данных ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора за период 1976–2012 гг. При выполнении работы использованы картографические, эпизоотологические и статистические методы обработки данных.

Результаты и обсуждение

На основании результатов выполненного анализа установлено, что современные особенности эпизоотической активности природных очагов чумы, расположенных в различных ландшафтно-географических зонах и поясах гор во многом определяются изменениями климата. Начавшееся в 40-х годах прошлого столетия потепление в Северном полушарии носило волновой характер [8, 12]. Наиболее крупные волны снижения континентальности климата 50–60-х и 90-х годов XX столетия сопровождались значительным повышением температуры зимних месяцев, снижением уровня и устойчивости снегового покрова, формированием дефицита зимних и весенних осадков, смещением максимума выпадения осадков с весеннего на летний период. Все это в целом неизменно оказывало неблагоприятное влияние на состояние паразитарных систем равнинных очагов степной, полупустынной ландшафтно-географических зон, а также северной подзоны пустынь России и Казахстана [6, 7]. Напротив, смягчение континентальности климата Северного полушария в середине XX столетия способствовало росту эпизоотического потенциала горных и высокогорных природных очагов чумы. Вследствие потепления климата в 1946–1954 гг. имело место значительное обострение эпизоотической и эпидемиологической обстановки в гор-

ных ландшафтах Тянь-Шаня и Западного Алая. На фоне сохранения тенденции глобального потепления климата, эпизоотии были впервые выявлены в горных системах Закавказского нагорья (1958 г.), Алтая (1961 г., 1964 г.), Кавказа (1970–1971 гг.), Гиссаро-Дарваза (1970 г.), Таласского Алатау (1977 г.), Джунгарского Алатау (1990 г.). К настоящему времени на территории России, Казахстана, Киргизии, Таджикистана, Армении выявлено 14 высокогорных и горных природных очагов чумы, в том числе высокогорных – Центрально-Кавказский (01), Закавказский (04–06), Восточно-Кавказский (39), Гиссарский (34), Тянь-Шанский (31–33), Алайский (35), Таласский (40), Джунгарский (44), горных – Алтайский (36) и Тувинский (37). Общая площадь высокогорных и горных очагов составляет 126390 кв. км, т.е. 6,0 % очаговой территории (рис. 1).

С распадом СССР интенсивность обследования высокогорных энзоотических по чуме территорий, в первую очередь горных систем Средней Азии и Закавказья, значительно снизилась, и информация об их современном эпизоотическом потенциале практически отсутствует. Можно лишь констатировать, что вплоть до середины 90-х годов прошлого столетия высокогорные и горные природные очаги чумы Средней Азии и Закавказья, как и России, характеризовались высокой эпизоотической активностью [5]. На территории России в 2000–2012 гг. высокая эпизоотическая активность сохранилась в Алтайском и Тувинском горных, Восточно-Кавказском и Центрально-Кавказском высокогорном (до 2007 г.) очагах чумы.

Полупустынные и степные равнинные и низкорослые природные очаги сусликового типа представлены Терско-Сунженским низкогорным (02), Дагестанским равнинно-предгорным (03), Прикаспийским Северо-Западным степным (14), Волго-Уральским степным (15), Зауральским (Урало-Уильским) степным (17), Забайкальским степным (38). Общая площадь этой группы очагов составляет 263780 кв. км; т.е. 12,4 % очаговой территории. Среди глобальных позитивных эпидемиологических последствий изменений климата следует отметить значительное снижение потенциальной эпидемической опасности равнинных, предгорных и низкогорных природных очагов чумы сусликового типа в Предкавказье, Северном и Северо-Западном Прикаспии, Забайкалье. Вследствие многолетней депрессии численности малого суслика на европейском юго-востоке России здесь исчезли факторы (высокая численность зверьков и их блох, эпизоотии чумы, промысел сусликов), определявшие в прошлом высокую эпидемическую опасность равнинных и низкогорных природных очагов сусликового типа. Основной причиной сокращения площади поселений и численности малого суслика явилось раннее пробуждение зверьков в условиях повышения температур зимних месяцев, которое за счет частого возврата холодов неизменно вызывало увеличение смертности перезимовавших особей и показателей

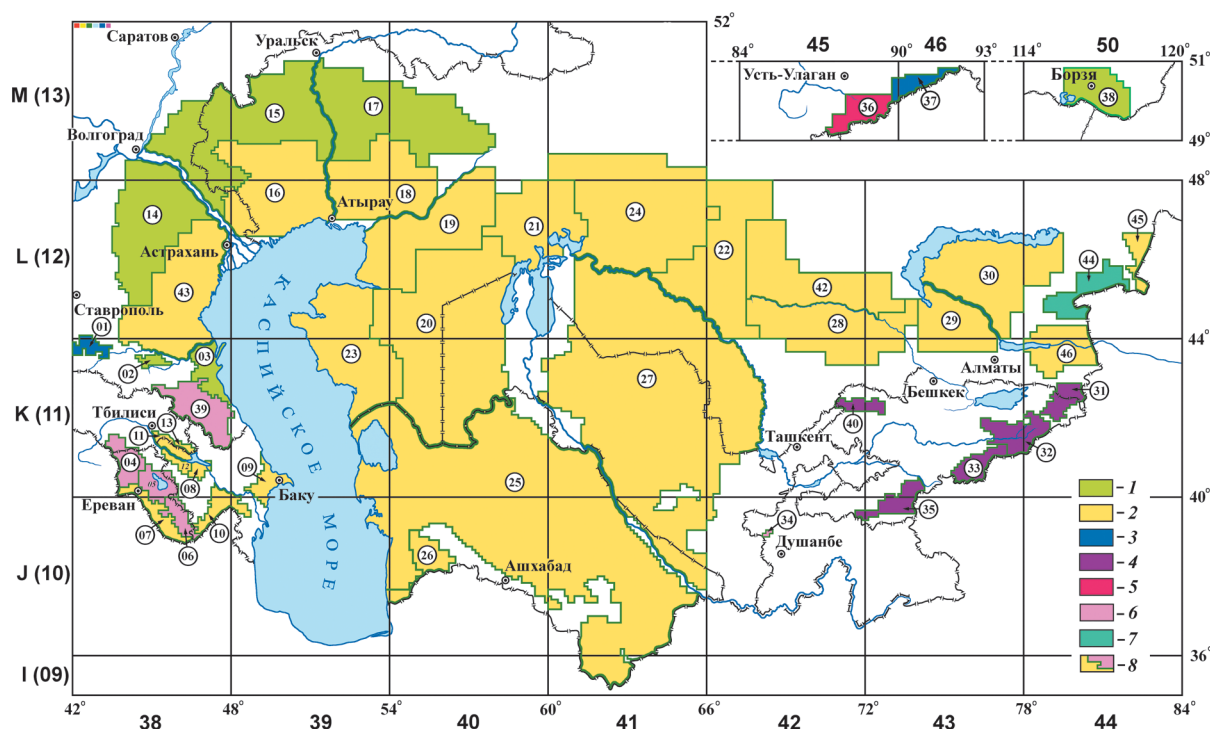


Рис. 1. Типы природных очагов чумы на территории стран СНГ

Равнинные и низкогорные: 1 – полупустынные и сухостепные очаги сусликового типа; 2 – пустынные и полупустынные очаги песчаночного типа. *Горные и высокогорные:* 3 – сусликового типа; 4 – сурочьего типа; 5 – пищухового типа; 6 – полевого типа; 7 – смешанного (полево-сусликово-сурочьего) типа; 8 – границы очагов

резорбции эмбрионов. Начавшаяся в 50–60-х годах XX столетия на европейском юго-востоке России и смежных территориях Казахстана естественная депрессия численности малого суслика была значительно усилена проведением крупномасштабных, беспрецедентных в мировой практике, работ по борьбе с грызунами [7]. Вследствие одновременного суммарного воздействия на популяции малого суслика нескольких неблагоприятных факторов (истребительные мероприятия, климатические условия) была достигнута очень высокая эффективность истребительных работ, когда численность сусликов повсеместно снизилась до уровня 5–10 особей на 1 га. Последнее послужило основным аргументом для утверждения мнения о достижении соответствующего «эпизоотического порога» численности зверьков и полного оздоровления Прикаспийского Северо-Западного степного и Волго-Уральского степного очагов чумы.

На фоне депрессивного состояния популяций сусликов имело место развитие длительных межэпизоотических периодов в Прикаспийском Северо-Западном степном (1955–1971 гг.), Дагестанском равнинно-предгорном (1957–1974 гг.), Волго-Уральском степном (1951–1977 гг.) и Зауральском степном (1943–1963 гг.) очагах. В этот же период отмечено развитие межэпизоотического периода в Забайкальском степном очаге чумы (1947–1965 гг.), где в результате охотпромысла и истребительных мероприятий, начатых в 1939 г., исчез тарбаган, считавшийся здесь вплоть до 1946 г. основным носителем чумы. В кон-

це 70-х – начале 80-х годов прошлого столетия на фоне очередной волны усиления континентальности климата, повлекшего за собой повышение увлажненности аридных территорий и стабилизацию численности малых сусликов в Предкавказье, Северном и Северо-Западном Прикаспии, отмечена новая синхронная волна роста эпизоотической активности равнинных степных и полупустынных природных очагов чумы сусликового типа. В частности, в 1970–1971 гг. эпизоотии чумы впервые отмечены на территории Терско-Сунженского низкогорного очага, в 1972–1973 гг. – в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге, в 1975 г. – в Дагестанском равнинно-предгорном очаге. В 1978 г. отмечена активизация Волго-Уральского и Зауральского степных очагов. В 1979–1980 гг. эпизоотии чумы выявлены в восточной части Прикаспийского Северо-Западного степного очага и в Предкавказье.

В 1966–1970 гг., после перерыва с 1946 г., эпизоотии были зарегистрированы в Забайкальском степном очаге чумы. Отмеченный подъем эпизоотической активности равнинных и низкогорных природных очагов чумы сусликового типа завершился новой глубокой депрессией численности малого и даурского сусликов. Причем, развитие современной, еще более значительной по масштабам, депрессии численности малого суслика на территории всего европейского юго-востока России и смежных территорий Казахстана, проходило, в основном, под влиянием климатических факторов [7, 11]. В период 1972–2012 гг. фоновая численность малого суслика в рав-

нинных степных очагах чумы на территории России сократилась в 20–30 раз и составляет 1–5 особей на 1 га. В настоящее время развитие длительных межэпизоотических периодов отмечено в Прикаспийском Северо-Западном степном (с 1991 г.), Терско-Сунженском низкогорном (с 2001 г.), Дагестанском равнинно-предгорном (с 2004 г.), Волго-Уральском степном (с 2002 г.), Зауральском (Урало-Уильском) степном (с 2003), Забайкальском степном (с 1971 г.) природных очагах чумы.

Особо подчеркнем, что в настоящее время тенденция развития межэпизоотических периодов отмечена и на территории северной подзоны пустынной зоны России и Казахстана – в Волго-Уральском песчаном (с 2008 г.), Урало-Эмбенском пустынном (с 2003 г.), Прикаспийском песчаном (с 2011 г.) очагах чумы (рис. 2). Наблюдаемый феномен одновременного развития межэпизоотических периодов в очагах различной биоценотической структуры на огромной территории Прикаспийской низменности, однозначно свидетельствует о наличии общей причины, обуславливающей депрессивное состояние их паразитарных систем. Причем современные данные по экологии чумного микроба, определяющие возможность его существования в почвенной биоте [14], однозначно подтверждают определяющую роль климатических факторов в механизме энзоотии чумы.

Напротив, эпизоотический потенциал и площадь природных очагов чумы песчаночье типа в южных регионах Казахстана значительно возросли (рис. 2). В настоящее время пустынные и полупустынные равнинные и низкогорные природные очаги чумы пес-

чаночье типа представлены Приараксинским низкогорным (07), Закавказским равнинно-предгорным (08–13), Волго-Уральским песчаным (15), Прикаспийским песчаным (43), Урало-Эмбенским пустынным (18), Предустюртским пустынным (19), Устюртским пустынным (20), Северо-Приаральским пустынным (21), Арыкумско-Дарьялыктакырским пустынным (22), Мангышлакским пустынным (23), Приаральско-Каракумским пустынным (24), Каракумским пустынным (25), Копетдагским равнинно-предгорным (26), Кызылкумским пустынным (27), Мойынкумским пустынным (28), Таукумским пустынным (29), Прибалхашским пустынным (30), Бетпакалинским пустынным (42), Приалакольским низкогорным (45), Илийским межгорным (46). Общая площадь этих очагов чумы песчаночье типа составляет 1733490 кв. км, т.е. 81,6 % очаговой территории.

В России во второй половине XX столетия вследствие аридизации климата на территории Прикаспийской низменности (Волго-Кумское междуречье, Волго-Уральские пески) дважды отмечали значительные изменения площади поселений малых песчанок. Первое расширение ареала малых песчанок проходило здесь в 40–60-х годах прошлого столетия на фоне формирования новых ландшафтов вслед за падением уровня Каспийского моря. К 1979 г. вследствие сокращения площади поселений сусликов в восточной части Северо-Западного Прикаспия сформировался новый Прикаспийский песчаный природный очаг чумы. В последние десятилетия расширение ареала, в первую очередь гребенщиковой

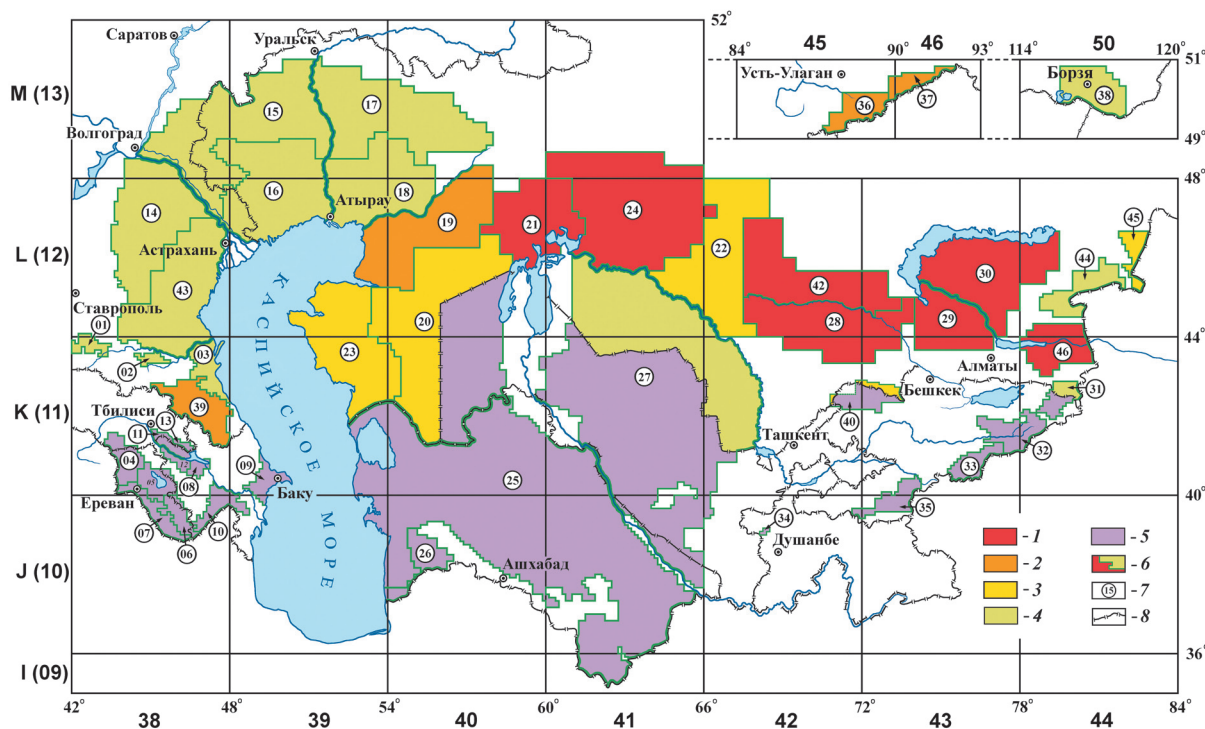


Рис. 2. Эпизоотическая активность природных очагов чумы на территории стран СНГ в 2012 г.

Регистрация: 1 – разлитых (более 1 тыс. кв. км) и 2 – локальных (менее 1 тыс. кв. км) эпизоотий или единичных штаммов; 3 – положительных серологических реакций; 4 – возбудитель и его следы не обнаружены; 5 – информация о состоянии очагов или их частей, находящихся на территории различных государств, не представлена; 6 – границы очагов; 7 – шифры очагов; 8 – государственные границы

песчанки, проходило в западном и юго-западном направлениях [13]. Отметим, что рост площади поселений песчанок сопровождается и расширением ареала блохи *Xenopsylla conformis* [4], что обуславливает значительный рост потенциальной эпидемической опасности энзоотических по чуме территорий Северо-Западного Прикаспия. Аналогичные негативные эпидемиологические последствия расширения ареала пустынных видов грызунов происходили в 50–90-х годах прошлого столетия в северной подзоне пустынь Казахстана. Так, в Зауралье наблюдалось продвижение в северном направлении ареала большой песчанки и ее блох *Xenopsylla skrjabini*, что привело к увеличению площади Урало-Эмбенского пустынного и сокращению границ Зауральского степного очагов чумы [3].

Под влиянием современной волны изменения климата произошли значительные изменения многолетней динамики развития эпизоотий чумы в северной и южной подзонах пустынь Казахстана. В 70–80-е годы прошлого столетия очаги северной пустыни (Волго-Уральский и Прикаспийский песчаные, Урало-Эмбенский, Предустюртский, Северо-Приаральский, Зааральский, Приаральско-Каракумский пустынные), характеризовались постоянной активностью. Площадь и интенсивность ежегодно регистрируемых здесь эпизоотий варьировала в отдельные годы не более чем в два раза, периоды отсутствия проявлений чумы на отдельных участках были весьма непродолжительны. В настоящее время Волго-Уральский песчаный и Урало-Эмбенский пустынный очаги чумы находятся в состоянии межэпизоотического периода [9]. В 2012 г. в северной пустыне сохранение высокой эпизоотической активности отмечено только для Предустюртского и Приаральско-Каракумского пустынных очагов чумы. Напротив, активность природных очагов чумы в южных регионах Казахстана (Мангышлакский, Устюртский, Муюнкумский, Таукумский, Прибалхашский, северная часть Кызылкумского) в 2000–2012 гг. значительно возросла. В 2000 г. эпизоотии чумы выявлены в Энбекши-Казахском районе Алматинской области после 72-летнего перерыва (Косагашская вспышка, 1929), в 2001 г., после 15-летнего перерыва – на Горном Мангышлаке, в 2002 г., после 17-летнего перерыва – на полуострове Бузачи и Южном Мангышлаке [1]. В связи с выявлением новых участков очаговости чумы в Балхаш-Алакольской впадине выделены Приалакольский и Илийский межгорный пустынные очаги песчаночьего типа [10]. Информация о состоянии природных очагов чумы южной подзоны пустынь (Каракумы, Южные Кызылкумы) в последние годы отсутствует.

В текущем пятилетии ожидается реализация очередной волны роста континентальности климата Северного полушария [2], сходной с периодом 20–30-х годов прошлого столетия. В связи с этим в долгосрочной перспективе (до 2020 г.) становится возможным выход из состояния межэпизоотического периода рав-

нинных природных очагов Предкавказья, Северного и Северо-Западного Прикаспия: Прикаспийского Северо-Западного степного (14), Волго-Уральского степного (15), Зауральского (Урало-Уильского) степного (17), Дагестанского равнинно-предгорного (03). В 2013–2017 гг. прогнозируется рост эпизоотической активности природных очагов чумы в северной подзоне пустынной зоны России и Казахстана, в том числе Волго-Уральского песчаного (16), Урало-Эмбенского (18) и Прикаспийского песчаного (43) природных очагов чумы. Ожидается также развитие крупной эпизоотической волны в южной подзоне пустынной зоны на территории Туркмении (Каракумы) и Узбекистана (Южные Кызылкумы). Напротив, в условиях роста континентальности климата, эпизоотическая активность горных и высокогорных природных очагов должна значительно снизиться.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атишбар Б.Б., Аубакиров С.А., Бурделов Л.А., Жумадилова З.Б., Агеев В.С., Утешева Г.С. Состояние природных очагов чумы Казахстана и перспективы сотрудничества с ведущими научно-исследовательскими центрами России по их изучению. Вопросы реагирования на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера. Материалы Круглого стола санитарно-эпидемиологических служб Российской Федерации и Республики Казахстан. Астрахань; 2011. С. 48–52.
2. Герман Д.Р., Голдберг Р.А. Солнце, погода и климат. Л.: Гидрометеиздат; 1981. 319 с.
3. Гражданов А.К. Современные факторы эпидемического потенциала в природных очагах чумы на западе Казахстана. Пробл. особо опасных инф. 2005; 1(89):16–8.
4. Кузнецов А.А., Осипов В.П., Синцов В.К., Князева Т.В., Матросов А.Н., Ким Т.С., Санджиев В.Б.-Х. Распространение и численность блохи *Xenopsylla conformis* Wagn., 1903 (Siphonaptera) в Прикаспийском песчаном очаге чумы. Пробл. особо опасных инф. 2007; 2(94):20–3.
5. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 192 с.
6. Попов Н.В., Безмертвый В.Е., Топорков В.П., Удовиков А.И., Караваева Т.Б., Попов В.П., Иванова С.М., Кутырев В.В. Причины низкой эпизоотической активности природных очагов чумы на территории России в начале XXI столетия. Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол. 2011; 5:23–6.
7. Попов Н.В., Санджиев В.Б.-Х., Сангаджиева Г.В., Удовиков А.И., Яковлев С.А., Караваева Т.Б., Подсвилов А.В., Кутырев В.В. Влияние современного потепления климата на развитие нового межэпизоотического периода Прикаспийского Северо-Западного степного природного очага чумы. Пробл. особо опасных инф. 2008; 1(95):31–4.
8. Рубенштейн Е.С., Полозова Л.Г. Современное изменение климата. Л.: Гидрометеиздат; 1986. 268 с.
9. Сараев Ф.А., Склярено Г.П. Возможные причины депрессии эпизоотической активности очагов чумы на территории деятельности Атырауской ПЧС. Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане. Алматы, 2010; 1–2(21–22):66–70.
10. Сапожников В.И., Безверхний А.В., Ковалева Г.Г., Конбаев Е.Ш. Эпидемический потенциал чумы в Балхаш-Алакольской впадине. Алматы; 2011. 179 с.
11. Удовиков А.И., Попов Н.В., Самойлова Л.В., Толоконникова С.И. Климат и трансформация экосистем на примере природных очагов чумы юго-востока России. Пробл. особо опасных инф. 2012; 2(112):21–4.
12. Шнитников А.В. Внутривековая изменчивость компонентов общей увлажненности. Л.: Наука; 1969. 245 с.
13. Яковлев С.А., Сангаджиева Г.В., Удовиков А.И., Санджиев В.Б.-Х., Осипов В.П., Диканская В.В., Попов Н.В. Оценка влияния ирригации и орошения на изменение западной границы ареала тамарисковой песчанки *Meriones tamariscinus* Pallas, 1773 (Rodentia, Cricetidae) на территории Республики Калмыкии. Пробл. особо опасных инф. 2008; 3(97):31–5.
14. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., N.V. Popov, Vidyayeva N.A., Konnov N.P. Molecular mechanisms of interactions of plague causative agents with invertebrates. Mol. Gen. Microbiol. Virol. 2009; 24(4):169–76.

References

1. Atshabar B.B., Aubakirov S.A., Burdelov L.A., Zhumadilova Z.B., Ageev V.S., Utesheva G.S. [Status of natural plague foci in the territory of Kazakhstan and prospective of establishing cooperation with leading research centers in Russia for their further investigations]. [Problems of adequate response to emergency situations in the sphere of sanitary epidemiological welfare of the population. Proceedings of the Penal Discussion with participation of sanitary epidemiological agencies of the Russian Federation and the Republic of Kazakhstan]. Astrakhan; 2011. P. 48–52.
2. German D.R., Goldberg R.A. [The Sun, Weather, and Climate]. L.: Gidrometeoizdat; 1981. 319 p.
3. Grazhdanov A.K. [Contemporary factors of epidemic potential in the natural plague foci of Western Kazakhstan]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2005; (89):16–8.
4. Kuznetsov A.A., Osipov V.P., Sintsov V.K., Knyazeva T.V., Matrosov A.N., Kim T.S., Sandzhiev V.B.-Kh. [Prevalence and quantity of the fleas *Xenopsylla conformis* Wagn., 1903 (Siphonaptera) in the Precaspian sandy plague focus]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2007; (94):20–3.
5. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci in the Territory of Caucasus, Caspian Sea Region, Central Asia and Siberia]. M.: Meditsina; 2004. 192 p.
6. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Toporkov V.P., Udovikov A.I., Karavaeva T.B., Popov V.P., Ivanova S.M., Kutyrev V.V. [The causes of low epizootic activity of natural plague foci in Russia in the beginning of the XXI century]. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 2011; 5:23–6.
7. Popov N.V., Sandzhiev V.B.-Kh., Sangadzhieva G.V., Udovikov A.I., Yakovlev S.A., Karavaeva T.B., Podsvirov A.V., Kutyrev V.V. [The impact of the present-day climate warming upon the evolution of the new inter-epidemic period in the Pre-Caspian North-Western steppe natural plague focus]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2008; (95): 31–4.
8. Rubenshtein E.S., Polozova L.G. [Current Climatic Change]. L.: Gidrometeoizdat; 1986. 268 p.
9. Saraev F.A., Sklyarenko G.P. [Possible causes of epizootic activity depression in natural plague foci in the territory which is under Atyrask plague control station supervision]. Karantin. i Zoonoz. Infek. v Kazakhstane. Almaty, 2010; 1–2(21–22):66–70.
10. Sapozhnikov V.I., Bezverkhny A.V., Kovaleva G.G., Kopbaev E.Sh. [Epidemic Potential of Plague in the Territory of the Balkhash-Alakolsk Cavity]. Almaty; 2011. 179 p.
11. Udovikov A.I., Popov N.V., Samoilova L.V., Tolokonnikova S.I. [Climate and transformation of ecosystems by the example of natural plague foci of South-East of Russia]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2012; (112):21–4.
12. Shnitnikov A.V. [Inter-Century Variability of Global Moisture Content Components]. L.: Nauka; 1969. 245 p.
13. Yakovlev S.A., Sangadzhieva G.V., Udovikov A.I., Sandzhiev V.B.-Kh., Osipov V.P., Dikanskaya V.V., Popov N.V. [Assessment of the influence of irrigation and watering on the changing of the western boundary of Tamarisk gerbil *Meriones tamariscinus* Pallas, 1773 (*Rodentia*, *Cricetidae*) natural habitat]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2008; (97):31–5.
14. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., N.V. Popov, Vidyaeva N.A., Konnov N.P. Molecular mechanisms of interactions of plague causative agents with invertebrates. Mol. Gen. Microbiol. Virol. 2009; 24(4):169–76.

Authors:

Popov N.V., Udovikov A.I., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Grazhdanov A.K., Yakovlev S.A., Karavaeva T.B., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Bezsmertny V.E., Fedorov Yu.M., Popov V.P. Plague Control Center. 10, Pogodinskaya St., B. 4, Moscow, 119121, Russian Federation. E-mail: protivochym@nlm.ru

Ayazbaev T.Z. Uralsk Plague Control Station. 36/1, Chapayeva St., Uralsk, 090001, Republic of Kazakhstan. E-mail: pchum@mail.ru

Об авторах:

Попов Н.В., Удовиков А.И., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., Гражданов А.К., Яковлев С.А., Караваева Т.Б., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Безсмертный В.Е., Федоров Ю.М., Попов В.П. Противочумный центр. Российская Федерация, 119121, Москва, Погодинская ул., 10, с. 4. E-mail: protivochym@nlm.ru

Аязбаев Т.З. 090001, Республика Казахстан, Западно-Казахстанская область, г. Уральск, ул. Чапаева 36/1. E-mail: pchum@mail.ru

Поступила 31.01.13.

С.К.Удовиченко, А.В.Топорков, И.Г.Карнаухов, Е.В.Куклев, О.В.Кедрова, В.А.Сафронов, А.С.Раздорский, Н.В.Попов, Т.В.Князева, В.П.Топорков, В.В.Кутырев

ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ ОПАСНОСТИ МЕЖДУНАРОДНЫХ МАССОВЫХ МЕРОПРИЯТИЙ ПО АКТУАЛЬНЫМ ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ

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

В процессе решения актуальных проблем в области эпидемиологии международных массовых мероприятий (ММ) впервые разработана схема определения их потенциальной эпидемической опасности (ПЭО), основанная на комплексной оценке эпидемиологического риска по отношению к инфекционным болезням из перечней Международных медико-санитарных правил – ММСП (2005 г.). На модели холеры показано, что наибольшая объективность оценки ПЭО ММ достигается при учете таких составляющих эпидемиологического риска как территория риска, время риска, факторы риска, контингенты риска. Интегральным выражением реализации всех составляющих эпидемиологического риска является угроза заносов инфекционных болезней в район ММ, возникновения чрезвычайных ситуаций в области общественного здравоохранения, имеющих международное значение, и нарушения хода проведения ММ. Функциональность разработанной схемы продемонстрирована на других инфекционных болезнях. Результат оценки ПЭО ММ позволяет заблаговременно определить приоритетные направления, рассчитать силы, средства, организационный ресурс, методологический и технологический арсенал при обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия и биологической безопасности при подготовке и проведении ММ.

Ключевые слова: потенциальная эпидемическая опасность (ПЭО) массовых мероприятий (ММ), эпидемиологический риск (территория риска, факторы риска, время риска, контингенты риска), актуальные инфекционные болезни, регламентированные в ММСП (2005 г.), занос инфекционных болезней в район массовых мероприятий

S.K.Udovichenko, A.V.Toporkov, I.G.Karnaukhov, E.V.Kuklev, O.V.Kedrova, V.A.Safronov, A.S.Razdorsky, N.V.Popov, T.V.Knyazeva, V.P.Toporkov, V.V.Kutyrev

Assessment of the Potential Epidemic Hazard as Regards International Public Events in Terms of the Currently Important Infectious Diseases

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

International public events (IPE) present some actual epidemiological problems requiring proper methodological elaboration. In this respect for the first time developed has been the scheme of assessment of their potential epidemic hazard (PEH), based on integrated evaluation of epidemiological risk as regards infectious diseases listed in the IHR (2005). On the cholera model demonstrated is the fact that high priority hazard of public events emerges when those are combined with such elements of epidemiological risk as territory and time of a threat, as well as risk factors and risk contingents. Thus the integral effect of all elements realization is manifested through high probability of infectious disease importation, which is associated with emergency situation, into the public event location and the disturbance of mass gathering progress. Reliability and functionality of the developed scheme is verified on other infections too. PEH assessment procedure allows for timely identification of priority goals, for rating means and capacities, organizational resources, methodological and technological arrays for the provision of sanitary-epidemiological welfare and biological safety when managing public event.

Key words: potential epidemic hazard (PEH) of public events (PE), epidemiological risk (territory and time of a threat, risk factors and contingent), currently important infectious diseases specified in the IHR (2005), importation of infection into the public event location.

На сегодняшний день эпидемиология массовых мероприятий (ММ) остается недостаточно разработанной. Отсутствует схема оценки потенциальной эпидемической опасности (ПЭО) ММ, необходимость которой отчетливо проявилась в связи с организацией в России таких международных массовых мероприятий, как XXVII Всемирная летняя Универсиада 2013 г. в Казани и последующих XXII Олимпийских игр и XI Паралимпийских зимних игр в 2014 г. в Сочи.

Вместе с тем в мире существует разработанная CDC структура оценки ММ. В этой структуре, наряду с параметрами самих мероприятий, наделенных баллами (вид, количество участников, их возраст,

продолжительность, суточное и годовое время проведения, вероятность употребления алкоголя, наркотиков, степень развития инфраструктуры, в том числе медицинских учреждений), имеется упоминание об эпидемиологической обстановке в месте проведения ММ без балльной ее оценки. То есть эпидемиологическая оценка присутствует в указанной схеме лишь номинально, без необходимой методической проработки ее осуществления. Восполнить этот пробел призвана данная работа. Нами разработана схема оценки ПЭО ММ.

Унифицированный эпидемиологический модус схемы определяется тем, что основана она на комплексном анализе эпидемиологического риска по

актуальным инфекционным болезням, являющимся внешними и (или) внутренними угрозами биологической безопасности по отношению к месту проведения ММ. Объективным приемом анализа эпидемиологического риска служит оценка четырех его составляющих: «территория риска» – эндемичная первичная, вторичная, энзоотичная, территория с вновь возникшим устойчивым эпидемиологическим неблагополучием; «факторы риска» – живые и неживые объекты, от которых и/или посредством которых происходит заражение человека; «контингенты риска» – часть населения, профессиональная деятельность которого или привязка мест проживания, рекреации обуславливают наиболее тесный контакт с факторами риска, вследствие чего происходит инфицирование и распространение болезни человеком, ее занос по традиционным миграционным путям, в том числе участниками и гостями ММ; «время риска» – периоды времени в многолетнем и сезонном аспекте, варьирующиеся по количеству больных на эндемичных территориях и заносов болезней. Эпидемиологический риск рассчитывают по отношению к инфекционным болезням, ассоциируемым с чрезвычайными ситуациями санитарно-эпидемиологического характера международного значения (ЧС).

На международном уровне названные ЧС вызывают особую тревогу. Они включают инфекционные болезни (актуальные, новые – неизвестные, возвращающиеся, перемещающиеся на новые территории) и массовые неинфекционные заболевания, обусловленные действием биологических, химических, радиоактивных факторов. При проведении ММ достаточность готовности стран к обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия определяется уровнем возможности проведения мероприятий по предупреждению и ликвидации ЧС в соответствии с требованиями Международных медико-санитарных правил – ММСП (2005 г.). Этим требованиям, а точнее готовности к современным угрозам и вызовам, должны соответствовать силы и средства страны-организатора и инфраструктуры ММ, а именно: организационный, методологический, технологический, материально-технический, кадровый ресурс, производственный потенциал, нормативно-правовая база в области эпидемиологического надзора и в целом санитарно-эпидемиологического благополучия, биологической безопасности населения, вопросы межведомственного взаимодействия, в том числе ориентированные на возможность биотеррористических актов.

Интегративным признаком активности упомянутых выше составляющих (категорий) эпидемиологического риска являются заносы инфекционных болезней, а времени риска – интенсивность их осуществления в многолетнем и сезонном аспекте. Другими словами наибольшая величина ПЭО ММ определяется совпадением периода наибольшей вероятности заносов и времени проведения ММ.

В целом потенциальная эпидемическая опас-

ность ММ складывается из:

- возможности заноса и распространения инфекционных болезней, в т.ч. ассоциируемых с ЧС, самими участниками, гостями и приезжим обслуживающим персоналом;

- возможности таковых при существующем обычном ходе международных сообщений стран вне зависимости от ММ, а также по миграционным путям перелетных птиц и других мигрирующих животных, с помощью которых, наряду с человеком, транспортируемые через границу грузами, животными, осуществляется занос патогенных микроорганизмов. Элементом ПЭО ММ является и возможность «активизации» внутренних для страны и места проведения ММ (эндемичных, энзоотичных) угроз, вследствие увеличения концентрации людских контингентов, нагрузки на рекреационные зоны и контактов с факторами риска.

Необходимо учитывать, что уровень совокупной ПЭО ММ, определяемый количеством нозологических форм, представляющих внешние и внутренние угрозы ММ, зависит не только от этих количественных составляющих, но и от качественных признаков. Таковыми являются наименования самих инфекционных болезней и, главным образом, их клинко-эпидемиологические особенности. Именно эти особенности, придающие событиям серьезный, неожиданный с точки зрения ММСП (2005 г.) характер, могут сыграть решающую роль в дезорганизации ММ.

Клинко-эпидемиологическая характеристика болезней как качественный признак характеризуется: тяжестью клинического течения, летальностью, принадлежностью возбудителя к бактериальной, вирусной, риккетсиозной природе, различным группам патогенности, механизмом передачи, индексом контагиозности, эффективностью диагностики, лечения и профилактики. Так, например, заносы холеры на благополучные в санитарно-коммунальном отношении территории, в том числе в район проведения ММ, при надлежащей готовности медицинской службы, могут остаться не реализованными и не привести к нарушению хода ММ. В то же время занос, например, лихорадки Эбола при ее высокой летальности, контагиозности, отсутствии радикальных средств лечения и профилактики скорее всего перерастет в экстраординарное событие международного масштаба. При отсутствии на сегодняшний день случаев регистрации лихорадки Эбола за пределами Африканского континента появление ее на новых территориях в зоне ММ будет служить аргументом прежде всего в пользу преднамеренного применения ее возбудителя, что следует учитывать при обеспечении биологической безопасности в месте ММ.

Различия в эпидемиологическом риске по отношению к конкретным инфекционным болезням в контексте количественной оценки ПЭО ММ, позволяют более обоснованно строить эпидемиологический прогноз, укреплять методологическую, технологическую, материально-техническую базу, кадро-

вый ресурс, целенаправленно в оптимальные сроки и в рациональных объемах проводить мероприятия по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия в периоды подготовки и проведения ММ.

Целью данной работы является определение ПЭО ММ на основе оценки эпидемиологического риска по ряду инфекционных болезней, способных создать ЧС международного значения. В качестве модельных разработок в наших исследованиях выбрана холера, частые заносы которой в мире создают перманентную угрозу ММ. И хотя случаев холеры при проведении ММ не зарегистрировано, между тем выявленные во время их проведения болезни в 43 % случаев характеризуются фекально-оральным механизмом передачи. Немаловажным для выбора модели холеры являются хорошо изученные ее клинико-эпидемиологические особенности, наличие большого объема фактических данных, что позволяет с достаточной детализацией в структурно-функциональном отношении представить эту модель.

Что касается всей взятой в разработку выборки инфекционных (паразитарных) болезней, то мы условно разделили ее на три группы: 1) холера, важную роль в экологии и устойчивой циркуляции возбудителя которой играют открытые водоемы и уровни санитарно-коммунального обустройства стран; 2) так называемые «комариные» лихорадки (лихорадка Денге, желтая лихорадка, лихорадка Западного Нила, малярия); 3) болезни, резервуарную роль в устойчивой циркуляции возбудителей которых выполняют и факторами риска являются теплокровные животные (лихорадки Ласса, Марбург, Эбола, чума).

В основу работы положены официальные данные Всемирной организации здравоохранения, материалы РосНИПЧИ «Микроб», а также большой объем данных опубликованных научных работ.

Холера. В разработку потенциальной эпидемической опасности этой болезни вошли данные ВОЗ, касающиеся VII пандемии. С 1961 по 2011 год общее число случаев холеры (инфицированных – больных+носителей) составило 7198535.

Территории риска. Говоря о территориях риска необходимо отметить, что 49,3 % больных приходятся на страны Африки, по 25,1 % – соответственно на страны Азии и Америки. Наиболее пораженными в Азии оказались южный (846533 больных), юго-восточный (632050), юго-западный (243968) и восточный (87849) регионы. Основная доля больных в Африке пришлась на восточную (1090043), западную (883028), центральную (865025), южную (710193), северную (100946) части. На Американском континенте в южной, центральной и северной частях зарегистрировано соответственно 1062071, 743927 и 530 больных холерой. За период VII пандемии отмечено 4830 заносов холеры. В целом угроза заноса холеры исходит из 3-х вариантов территорий риска, к которым относятся:

- первичные эндемичные территории Азии (Индия, Бангладеш, Иран и др.);

- вторичные эндемичные территории Африки (неблагополучные страны, проявления холеры в которых обусловлены циркуляцией возбудителя внутри континента – Сомали, Камерун, Демократическая Республика Конго, Уганда, Сьерра Леоне и др.);

- эпидемически неблагополучные территории, на которых холера возникла вследствие недавних заносов (Гаити, Доминиканская Республика, Куба и др.) [8].

Общая статистика заносов холеры такова, что в 62,9 % случаев она приходилась на страны Азии, 19,2 % – Европы, 13,0 % – Америки, 2,5 % – Океании и 2,3 % – Африки. Данные о заболеваемости и заносах по континентам учитывают таковую и в близко расположенных к ним островных государствах.

Время риска. Для характеристики времени риска в многолетнем аспекте использовано деление хода VII пандемии холеры на 3 периода, эпидемиологическая характеристика которым дана в работе Г.Г.Онищенко и соавт. [9]. Распределение количества больных (инфицированных) холерой и ее заносов по указанным периодам и географическим регионам (континентам) за 1961–2011 гг. приведено в табл. 1.

Данные табл. 1 свидетельствуют о неуклонном росте от периода к периоду количества больных и числа заносов холеры в мире при достижении максимального значения в III период. В Азии рост числа заносов произошел при снижении количества больных.

Характеризуя время риска в многолетнем аспекте можно отметить, что проведение ММ в настоящее время в принципе таит в себе неизмеримо большую

Таблица 1

Распределение количества больных (инфицированных) холерой и ее заносов по периодам VII пандемии и географическим регионам (1961–2011 гг.)

Периоды VII пандемии по географическим регионам	Число больных		Число заносов	
	абс.	средн. год.	абс.	средн. год.
Азия				
I (1961–1969)	417188	46354,2	173	19,2
II (1970–1990)	874335	41635,0	832	39,6
III (1991–2011)	518877	24708,4	2035	96,9
Океания				
I (1961–1969)	0	0	0	0
II (1970–1990)	4580	218,1	58	2,8
III (1991–2011)	16627	791,8	64	3,0
Европа				
I (1961–1969)	0	0	0	0
II (1970–1990)	6711	319,6	327	15,6
III (1991–2011)	4454	212,1	601	28,6
Америка				
I (1961–1969)	2	0,2	0	0
II (1970–1990)	101	4,8	38	1,8
III (1991–2011)	1806425	86020,2	589	28,0
Африка				
I (1961–1969)	0	0	0	0
II (1970–1990)	483402	23019,1	31	1,5
III (1991–2011)	3065833	145992,1	82	3,9
Всего в мире				
I (1961–1969)	417190	46354,4	173	19,2
II (1970–1990)	1369129	65196,6	1286	61,2
III (1991–2011)	5412216	257724,6	3371	160,5

потенциальную опасность заноса холеры по сравнению с I и II периодами. Что касается характеристики заносов холеры по географическим регионам, в которых могут проводиться ММ, то она существенно различается по периодам VII пандемии. Если бы ММ проводились в I период, когда начало VII пандемии и территориальное распространение холеры ограничивалось странами Азии, то наибольшая угроза заносов холеры в зону ММ существовала бы в случае их проведения на Азиатском континенте.

При проведении ММ в тот же I период в странах Европы, Америки и Африки, где отмечалось эпидемиологическое благополучие по холере, а заносы этой болезни происходили только в пределах Азии, риск заносов ее в зону ММ был бы минимальным. Таковы особенности проявления категорий «территория риска» и «время риска» при указанном выборе места проведения ММ в первый временной отрезок VII пандемии.

Во II и III периодах вероятность заноса холеры в зону ММ, в случае их проведения в любом из трех географических регионов, из гипотетической стала реальной и наиболее высокой в тех географических регионах и в то время, в которых регистрировалось эпидемиологическое неблагополучие по холере. При этом заносы холеры происходят в странах и между странами прежде всего в пределах неблагополучного географического региона. При эпидемическом неблагополучии по холере в странах Европы заносы этой болезни в основном ограничивались Европой. Точно такая же закономерность отмечалась на Американском континенте. В страны Европы и главным образом Западной Европы холера заносилась в основном из стран Африки, преимущественно северной ее части в силу существования избирательно прочных туристических связей между этими регионами.

Различия в опасности заносов холеры необходимо учитывать при составлении эпидемиологического прогноза не только относительно места проведения ММ, но также и с учетом принадлежности потоков участников и гостей ММ к определенным географическим регионам.

В связи с этим необходимо иметь в виду, что доля заносов из стран Азии составила в страны Азии 76,1 %, Европы – 15,7 %, Америки – 7,8 %, Австралии и Океании – 1,0 %. Заносов холеры из Азии в Африку не зарегистрировано. Из Африки в Европу доля заносов была равна 95,9 %, в Азию – 1,6 %. Исходя из приведенных выше числовых значений, а также данных табл. 1 можно заключить, что в качестве основного «поставщика» холеры на международную арену в период VII пандемии выступала Азия.

В 2010 г. в результате заноса холеры из Азии (Непала) возникла эпидемия этой болезни на Гаити. Это самое масштабное эпидемическое событие последних лет, угрожавшее миру новой пандемической волной. На Гаити с октября 2010 по 21 июля 2013 года, по данным ВОЗ, зарегистрировано 667122 больных, 8190 умерших. Из Гаити холера

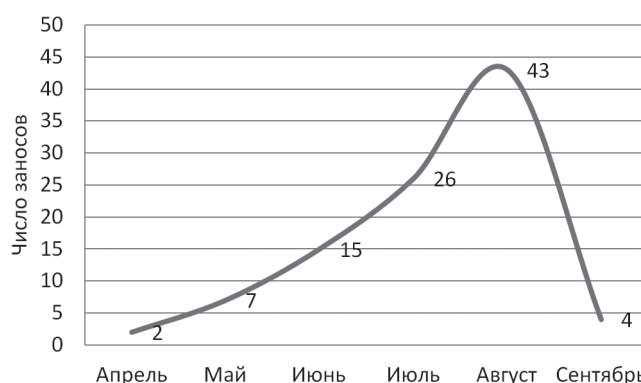
проникла в Доминиканскую Республику с последующим распространением инфекции в 28 из 32 провинций (30662 больных, 455 умерших), в США, Канаду, Чили, Великобританию и Германию. Из Доминиканской Республики в 2011–2012 гг. заносы холеры произошли в США, Венесуэлу, Мексику, Испанию и Сент-Мартин. Такая беспрецедентно мощная реализация заноса холеры на Гаити возникла в условиях разрушенной инфраструктуры страны, в том числе санитарно-коммунальной сферы в результате сильного землетрясения, последующего урагана, скопления людских контингентов, в том числе в большом количестве прибывших в зону стихийного бедствия из-за рубежа для проведения спасательно-восстановительных работ.

В страны Восточной Европы и Центральной Азии, т.е. государства-участники СНГ, заносы холеры осуществлялись преимущественно из стран Азии. Всего в страны СНГ с 1961 по 2012 год произошло 478 заносов холеры, из них в Россию – 146. Из числа зарегистрированных заносов холеры в Россию подавляющее большинство произошло из стран Азии – 80 %, заносы из Африки составили 16 %, из Европы – 4 %.

Время риска заносов холеры в Россию в сезонном аспекте характеризует распределение 97 случаев, для которых известна дата заноса (рисунок).

Из указанного числа заносов в 84 (86,6 %) случаях они приходились на июнь, июль, август, что составляет время максимального риска заноса холеры на территорию России. Средний уровень риска заноса приходится на апрель, май, сентябрь (13,4 %), минимальный – на январь, февраль, март, октябрь, ноябрь, декабрь. При выделении минимального уровня риска мы учитываем имевшие место на территории Российской Федерации 3 заноса и вспышки холеры в январе 1971 г. и феврале 1972 г. в Нижнем Новгороде, в октябре 1983 г. в Перми [5, 11]. Число таких вспышек в осенне-зимний период невелико, но его необходимо учитывать как аргумент в пользу обоснованного определения градации «минимальный уровень риска» применительно к холере.

Принципиально важным для оценки потенциальной эпидемической опасности ММ относительно холеры является совпадение максимального числа



Сезонное распределение заносных случаев холеры в Российской Федерации за период с 1991 по 2012 год

ее заносов в те же месяцы в странах Азии, Африки, Европы, что и в России и в целом в странах СНГ. Иным является Американский континент и прилегающие к нему страны Карибского бассейна, где заносы холеры довольно часто возникали в позднесенний, зимний, ранневесенний периоды [6]. Напомним, что эпидемия холеры на Гаити возникла в конце октября–ноябре 2010 г.

Таким образом, высокая потенциальная эпидемическая опасность ММ, проводимых на территории России в летнее время, относительно холеры определяется наложением наибольшего количества заносов холеры, принципиально присущих III ее периоду, летнего максимума заносов холеры в России, в странах СНГ, относящихся к Восточной Европе и Азии в целом.

Такой высокой потенциальной эпидемической опасностью относительно холеры характеризуется XXVII Всемирная летняя Универсиада 2013 г. в Казани, время проведения которой пришлось на июль. Подтверждающими реальность такой опасности являются 4 заноса холеры в Республику Татарстан в период с 1971 по 2012 год. В результате реализации последнего заноса в июле 2001 г. в Казани, вследствие попадания сточных вод, загрязненных холерным вибрионом, в искусственный водоем, используемый для купания, возникла крупная вспышка холеры – 52 больных и 18 вибрионосителей [10]. Согласно районированию административных территорий Российской Федерации по типам эпидемических проявлений холеры (СП 3.1.1.2521-09) Республика Татарстан отнесена к территории III типа подтипа А. Наличие заносов холеры в Республику Татарстан и их реализация в ретроспективе являются слагаемыми высокой потенциальной эпидемической опасности Универсиады-2013 по холере.

Другое ММ, планируемое в России, – XXII Олимпийские игры и XI Паралимпийские зимние игры, которые будут проведены с 7 по 23 февраля 2014 г. в Сочи, приходится на период минимального риска заноса холеры.

При проведении ММ важно знать, как происходят трансграничные заносы (завозы) холеры и как эта болезнь может проникнуть в зону ММ, поскольку существуют мероприятия по санитарной охране территорий Российской Федерации, стран СНГ, Таможенного союза, национальный и глобальный эпидемиологический надзор, регламентированные ММСП (2005 г.). В связи с этим необходимо рассмотреть связь указанной проблемы с такой составляющей эпидемиологического риска как *факторы риска*, к которым относятся больные и вибрионосители (источники инфекции), загрязненные холерным вибрионом объекты среды обитания (вода открытых водоемов, гидробионты, абиотические объекты в окружении больных/вибрионосителей и др.).

Завоз холеры может быть осуществлен больным легкой формой заболевания и вибрионосителем: здоровым, в инкубационном периоде и в периоде

реконвалесценции. Контактное (здоровое, бессимптомное) вибрионосительство по отношению к клиническим формам, требующим госпитализации, по данным J.Agaaz и соавт. [16] при холере эльтор может относиться как 25:1 и даже 100:1. По наблюдениям О.В.Барояна [1] носительство среди населения в эпидемических очагах достигало 8–10 %, среди медицинского персонала – 25–30 %.

Продолжительность здорового вибрионосительства в большинстве случаев составляет 5–7 дней, у 10 % здоровых носителей – 2–3 недели и более. Продолжительность инкубационного периода болезни и носительства – 5 дней. Реконвалесцентное носительство характеризуется тем, что спустя 6 дней после выздоровления вибрионы исчезают у 34 % лиц, спустя 10 дней – у 45 %, через 21 день их не удается найти у 92 %.

Фактором, казалось бы уменьшающим роль носительства в реализации заносов холеры, может служить меньшее количество холерных вибрионов в стуле носителей по сравнению с больными холерой. По данным J.Dizon и соавт. [17] в 1 мл испражнений больных определяется 10^6 – 10^9 вибрионов, у носителей – 10^2 – 10^5 вибрионов. Экспериментально установлено, что при нейтрализации кислого содержимого желудка заражающая доза составляет 10^4 – 10^6 холерных вибрионов, что содержится в 0,1–1,0 мл стула носителя.

Таким образом, частота формирования вибрионосительства в очагах холеры, их продолжительность, количество в стуле микробных клеток достаточны, чтобы вибрионосителей рассматривать важным фактором риска осуществления заноса холеры. В современный III период VII пандемии холеры, характеризующийся циркуляцией *V. cholerae* O1 биовара *el*tor, продуцирующего холерный токсин классического биовара, и логичным увеличением в связи с этим удельного веса больных холерой, заносы ее могут осуществляться больными под «прикрытием» самолечения антибактериальными препаратами. Примерами этого являются заносы холеры в 2005 и 2008 гг. из Индии в Белорецк Республики Башкортостан [7, 15]. Дальность заносов холеры зависит от вида транспортного средства, с помощью которого перемещаются инфицированные холерным вибрионом лица. При заносах холеры на территорию Российской Федерации и других стран СНГ удельный вес воздушного транспорта составил 78 %, автомобильного – 13,8 %, железнодорожного – 7,3 %, морского – 0,8 %.

Дальние заносы холеры (трансконтинентальные, внутриконтинентальные, между удаленными друг от друга странами, внутри крупных по географическим меркам стран) реально осуществимы высокоскоростным воздушным видом транспорта, объемы пассажирских перевозок которым в мире неуклонно растут. Так в 2011 г. количество авиапассажиров по данным Международной организации гражданской авиации превысило 2,7 млрд чел.

Количество инфицированных холерным вибрионом лиц на одном пассажирском воздушном судне, следующем из неблагополучной по холере страны, может достигать 9 % [4, 13]. Заносы холеры осуществляются также автомобильным, железнодорожным, водным видами транспорта. Имеются данные литературы о том, что инфицированность холерным вибрионом, например пассажиров поездов, следующих из неблагополучных по холере районов, может составлять 0,9 % [12].

Наряду с больными и вибрионосителями факторами риска и трансграничного заноса холеры может служить вода открытых водоемов и, в частности, рек, берущих свое начало за рубежом (реки Аракс, Кура, Дунай, Пяндж и др.). О том, насколько вода рек может быть контаминирована холерным вибрионом, свидетельствуют данные, полученные во время водной вспышки холеры в Петербурге в 1908–1909 гг. Бактериологическое исследование проб воды из Невы, проведенное с ноября 1909 по май 1910 года, позволило обнаружить холерный вибрион в 48 % проб, взятых на глубине 16 м и на расстоянии 120 м от берега. Во льду Невы холерные вибрионы сохранялись до 4,5 мес.

Заносы холеры могут осуществляться также морскими и речными судами при сбросе необеззараженных сточных (фановых) вод в акваториях морских и речных портов. При этом заражаются гидробионты, являющиеся объектами промысла (рыба, креветки, моллюски и др.) и факторами риска при употреблении их в пищу в сыром виде или при недостаточной температурной обработке. В различных пищевых продуктах холерные вибрионы при комнатной температуре могут выживать в течение 2–5 дней, рыбе и морепродуктам – 2–4 дня, в молоке и молочных продуктах до 2 дней (до прокисания), на фруктах – 1–3 дня [1]. Все это обуславливает реализацию заносов холеры пищевым и контактно-бытовым путями.

Таким образом, с учетом вышеизложенного, заносы холеры, в том числе в место проведения ММ, представляются случайными событиями, способными незаметно преодолевать пограничные санитарные барьеры и создавать ЧС. Реализация заносов (попадание занесенного возбудителя в открытые водоемы, используемые для питьевых, рекреационных и хозяйственно-бытовых целей, вылова и употребления в пищу рыбы, креветок и других гидробионтов, возникновение водных, пищевых, контактно-бытовых вспышек холеры) во многом определяется состоянием санитарно-коммунальной инфраструктуры, настороженностью и готовностью прежде всего органов и учреждений санитарно-эпидемиологического и лечебно-профилактического профиля, других ведомств к выявлению, локализации и ликвидации возникших эпидемических очагов. Своевременность, целенаправленность, эффективность этих мероприятий, соизмеримых с риском возникновения ЧС в соответствии с ММСП (2005 г.), являющихся атрибутами обеспечения санитарно-эпидемиологического

благополучия, являются составной частью оценки потенциальной эпидемической опасности ММ при их подготовке и проведении.

Что касается *контингентов риска* при холере, то они хорошо известны. Это местное население на эндемичных территориях, профессионально или во время отдыха на природе (на водоемах) включающееся в циркуляцию холерного вибриона. Местные контингенты риска могут стать участниками и гостями ММ и интродуцировать возбудителя холеры. Приезжие контингенты с туристическими и другими целями, контактирующие с факторами риска, способны по возвращении с эндемичных территорий к месту постоянного проживания занести холерный вибрион на территорию, благополучную по холере, включая и место проведения ММ.

Заносы холеры осуществляются по путям международных миграций. В число международных путешественников входят туристы, шоп-туристы, лица, осуществляющие трудовую миграцию, меняющие место жительства и работу, беженцы. Объемы миграционных потоков в связи с ММ значительно возрастают за счет их участников, гостей и обслуживающего персонала.

Итак, высокая потенциальная эпидемическая опасность Универсиады-2013 по холере определяется:

1) проекцией высокого эпидемиологического риска на время проведения Универсиады, обусловленного неуклонной тенденцией ухудшения эпидемической обстановки по холере в мире, ростом количества больных на эндемичных территориях, увеличением количества заносов, устойчивостью проявления холеры в странах с недостаточно развитой санитарно-коммунальной инфраструктурой и сохраняющейся угрозой новой пандемической волны (Гаити), циркуляцией *V. cholerae* O1 биовара *eltor*, продуцирующего холерный токсин классического биовара;

2) совпадением времени максимального риска заноса холеры (июль–август) и времени проведения Универсиады-2013 (июль).

Оценка ПЭО Универсиады-2013 по холере как высокой потребовала внесения существенных корректив в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения при подготовке и проведении этого ММ. В первую очередь повышенная настороженность и противоэпидемическая готовность коснулись таких аспектов как усиление эпидемиологического надзора за холерой (увеличение срока мониторинговых исследований и корректировка точек отбора проб из поверхностных водоемов, усиление надзора за санитарно-гигиеническим состоянием мест массового отдыха и объектов туристского интереса), усиление мероприятий по санитарной охране территории, направленных на предотвращение заноса и распространения холеры, что нашло отражение в специальном приказе Роспотребнадзора от 25.04.2013 г. № 236 «Об организации эпидемиологического надзора за холерой в период подготовки и проведения Всемирной летней Универсиады 2013 г.

в Казани».

Таким образом, на модели холеры показана функциональность разработанной нами схемы (методики) определения ПЭО ММ на основе оценки таких составляющих эпидемиологического риска как территория риска, время риска, факторы риска, контингенты риска. Исследованиями, закрепляющими выполненные разработки, являются их демонстрации на примерах других групп актуальных инфекционных болезней и, в частности, «комариных» лихорадок.

Лихорадка Денге. Территория риска. Эндемичные территории в зоне тропического и субтропического климата – более 100 стран Азии, Океании, Западной части Тихого океана, Австралии, Америки, включая Карибский бассейн. В меньшей степени охвачены болезнью Африка и Восточное Средиземноморье.

В 2010–2013 гг. наиболее неблагополучными странами, в которых регистрируются десятки тысяч больных и откуда наиболее вероятен занос лихорадки Денге на территорию России, являются страны Южной Америки – Перу, Бразилия, Колумбия, Аргентина, Доминиканская Республика, Парагвай, Венесуэла, Мексика, Никарагуа, а также Каймановы острова. В Азии к таким странам относятся Таиланд, Вьетнам, Шри-Ланка, Малайзия, а также Вьетнам, Индонезия (о. Бали), Пакистан. В Африке очаги болезни в 2010 г. регистрировались в Судане. В Европе местные случаи в 2010 г. отмечены во Франции (Ницца) и Хорватии, в 2012 г. на острове-курорте Мадейра (Португалия), откуда произошел вынос болезни в Великобританию, Францию, Германию, Швецию, материковую Португалию. Всего в Европе на ноябрь 2012 г. заболели лихорадкой Денге 1357 человек. Местная передача возбудителя обусловлена комарами, завозимыми с грузами при авиаперевозках [14]. В европейских странах Черноморского побережья, в связи с потеплением климата, появились условия для обитания и естественного распространения одного из основных переносчиков болезни – *St. albopictus*. Такая угроза является реальной для 14 европейских стран.

Время риска. В многолетнем аспекте характеризуется тем, что с момента возникновения и описания впервые зарегистрированной геморрагической формы лихорадки Денге в 1953–1954 гг. в Маниле (Филиппины), наметился достаточно крутой многолетний подъем заболеваемости лихорадкой Денге, продолжающийся до настоящего времени: от нескольких сотен больных в отдельных странах до нескольких сотен тысяч больных в десятках стран в год. Наиболее крупные подъемы заболеваемости и масштабы распространения в мире отмечены в 1980 и 2000 гг. Заносы лихорадки Денге в неэндемичные страны, в том числе и в Россию, исчисляются несколькими десятками и даже сотнями импортированных случаев в год.

В эндемичных странах вспышечная заболеваемость

приходится в основном на осенне-зимний период. На зимний период приходятся и наиболее частые заносы болезни человеком, что связано также с ростом в это время года посещаемости туристами стран с тропическим и субтропическим климатом. Вывоз вируса из европейских очагов наиболее вероятен в летнее, раннеосеннее время, т.е. в период наступления жаркой погоды и оптимальных условий для активности переносчика, размножения возбудителя в нем и в целом устойчивой его циркуляции в популяции человека.

В Россию лихорадку Денге завозят преимущественно туристы из Таиланда. Из этой страны в 2012 г. зарегистрировано 37 случаев завоза, а за январь–апрель 2013 г. – 120. Заболевания отмечались в городах Дальнего Востока, Приморского края, Сибири, а также Центральных районов России, в т.ч. в Санкт-Петербурге и Москве.

В место проведения Универсиады-2013 завоз лихорадки Денге реален с эндемичных территорий и из стран Европы прежде всего больным человеком, а также зараженными комарами. Передача болезни от человека к человеку не возможна из-за отсутствия местного эффективного переносчика на территории Республики Татарстан. Передача вируса от импортированного переносчика человеку теоретически возможна в случае накопления достаточного количества возбудителя в переносчике. Для этого необходима оптимальная температура воздуха (22 °C и выше), стабильно сохраняющаяся в суточном диапазоне и на протяжении 12 дней, необходимых для размножения возбудителя.

На основе комплексной оценки эпидемиологического риска относительно лихорадки Денге при наличии перманентного риска заноса на протяжении всего года, максимальный его уровень следует ожидать в зимнее, ранневесеннее время. В этот период отмечается наибольшая активность эпидемического процесса на эндемичных территориях, обусловленная высокой активностью комаров-переносчиков вируса после периода ливневых дождей. С этим периодом связана и наибольшая частота посещений туристами эндемичных территорий, а, следовательно, вероятность заражения и заноса болезни по возвращении к месту проживания. Максимальный уровень риска заноса лихорадки Денге выпадает и на ММ, проводимые в зимнее, ранневесеннее время. Это положение справедливо прежде всего по отношению к XXII Олимпийским играм и XI Паралимпийским зимним играм в Сочи, проведение которых намечено на 7–23 февраля 2014 г. Риск заноса лихорадки Денге в зону ММ существенно становится выше в случае их проведения в странах, эндемичных по лихорадке Денге.

Что касается оценки уровня риска заноса лихорадки Денге в летний период (июнь, июль, август) в место проведения XXVII Всемирной летней Универсиады 2013 г. в Казани, то, относительно зимнего периода, он минимальный и обусловлен воз-

возможностью заноса болезни с эндемичных территорий и из стран Европы.

В период проведения зимних Олимпийских игр в Сочи завоз лихорадки Денге возможен из стран Юго-Восточной Азии и Южной Америки. Завезенный зараженный переносчик в условиях низких температур будет неопасен. Факторы для проникновения возбудителя в местную популяцию переносчика отсутствуют.

Факторы риска. Заражение человека осуществляется вследствие контакта с комарами: в условиях населенных пунктов – *Stegomyia (Ae.) aegypti* и *St. (Ae.) albopictus*; в природных условиях – *Ae. niveus*, *St. albopictus*, *Ae. scutellaris* (классификация Р.М.Горностаева [3]). Среди основных переносчиков комар *St. aegypti* является синантропным, а *St. albopictus* – полусинантропным видом. Комары, напивавшиеся кровью больного, приобретают заразительность через 10–12 дней, в течение которых происходит размножение и накопление возбудителя. Данный процесс возможен при температуре воздуха не ниже 22 °С. Вирус сохраняется в комаре пожизненно. Занос лихорадки Денге больным человеком может реализоваться при наличии местных популяций комаров – специфических переносчиков этой болезни. На территории Российской Федерации в районе Сочи существует самостоятельная популяция комаров *St. aegypti*, которая может быть дополнена новой популяцией комаров *St. albopictus* в связи с возникновением условий для их обитания и распространения на Черноморском побережье. Первые комары *St. albopictus* здесь уже были найдены летом 2011 г. [2].

Контингентны риска – местное население, проживающее на эндемичных территориях, и международные путешественники, контактирующие с факторами риска.

Таким образом, лихорадка Денге в связи с устойчивым ростом заболеваемости и темпом поражения стран тропического и субтропического поясов в современных условиях характеризуется высоким потенциалом заноса болезни прежде всего человеком в зону ММ, преимущественно реализуемым в зимнее время. Возможность местной передачи возбудителя на внеэндемичной территории определяется наличием специфического переносчика и летним временем реализации заноса. Это положение справедливо для малярии, желтой лихорадки и лихорадки Западного Нила, заносы которого осуществляют перелетными водоплавающими птицами. Экспертная оценка изменения уровня эпидемиологического риска исходя из экологических факторов, а именно: варьирования сочетаний температуры и влажности, особенно в географических регионах тропического и субтропического поясов, влияющих на экологию переносчиков (фенологические сроки жизнедеятельности, численность), размножение в них возбудителей желтой лихорадки, лихорадки Западного Нила, малярии, теплокровных

животных, играющих резервуарную роль и роль носителей возбудителей лихорадок Ласса, Марбург, Эбола, чумы, приведена в табл. 2. Данные табл. 2 представлены с учетом прилагаемых к ней материалов о варьировании продолжительности в течение года «влажных» и «сухих» периодов, влияющих на экологию переносчиков, носителей, возбудителей актуальных инфекционных болезней, ассоциируемых с ЧС.

Что касается болезней, приведенных в табл. 2, резервуарную роль и роль носителей при которых играют теплокровные животные, то эти данные по категориям эпидемиологического риска приведены ниже.

Лихорадка Ласса. Территория риска. Эндемичные территории Западной (Сьерра Леоне, Нигерия, Либерия, Гвинея, Сенегал, Мали) и Центральной Африки (Центрально-Африканская республика, Буркина-Фасо, Демократическая Республика Конго). В Западной Африке, по данным ВОЗ (2010 г.), около 58 млн человек проживают в районах, где существует риск заражения лихорадкой Ласса.

Факторы риска: синантропные грызуны рода *Mastomys* (чаще многососковые африканские крысы *Mastomys natalensis*), больные лихорадкой Ласса, а также объекты окружающей среды, контаминированные их выделениями (предметы обихода, продукты питания, медицинские инструменты).

Время риска. Многолетний аспект. С 1969 по 2011 год зарегистрирован 31 заносной случай лихорадки Ласса в страны Европы (Великобритания, Германия, Швеция, Нидерланды), США, Канаду, Японию, Израиль, ЮАР. Ежегодно в эндемичных районах наблюдается от 300 до 500 тыс. случаев заболевания. При анализе сезонного распределения 23 заносных случаев, для которых известна дата заноса, установлено, что 4 случая наблюдались в январе, 6 – в феврале, 5 – в марте, 2 – в апреле, 3 – в июле, 2 – в сентябре, 1 – в декабре.

Контингентны риска: местное население, проживающее на эндемичных территориях, и международные путешественники, контактирующие с факторами риска (употребление пищевых продуктов и воды, контаминированных выделениями грызунов, укусы грызунов и т.д.). Высокому риску заражения подвергается медицинский персонал, осуществляющий оказание медицинской помощи и исследование клинического материала от больных лихорадкой Ласса. Период максимального эпидемиологического риска в Западной Африке (Гвинея, Мали, Нигерия) совпадает с периодом дождей (влажный сезон), когда происходит увеличение численности животных и их миграция в окрестности жилья человека.

Лихорадка Марбург. Территория риска: эндемичные территории Западной и Центральной Африки (Центрально-Африканская Республика, Габон, Судан, Заир, Кения, Уганда, Гвинея, Либерия).

Факторы риска: зеленые марышки, летучие мыши, крыланы, больные люди.

Таблица 2

Экспертная оценка эпидемиологического риска (времени риска в сезонном аспекте) в крупных географических регионах, исходных для заносов актуальных инфекционных болезней в зону ММ

Часть света	Географический регион	Время риска (месяцы)											
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
Лихорадка Денге													
Азия	юго-восточная	-	-	-	+	0	0	0	0	0	0	0	-
	восточная	-	-	+	0	0	0	0	0	+	+	+	-
	южная	-	-	0	0	+	0	0	0	+	-	-	-
Африка	западная	-	-	-	-	+	0	0	0	0	0	+	-
	центральная	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	восточная	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	южная	0	0	0	0	0	+	-	-	-	-	0	0
Америка	Карибский бассейн	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+
	центральная	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0
	южная	0	+	-	-	0	0	0	0	+	-	0	0
Океания		0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0	0
Желтая лихорадка													
Америка	центральная	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0
	южная	0	+	-	-	0	0	0	0	+	-	-	0
Африка	западная	-	-	-	-	+	0	0	0	0	0	+	-
	центральная	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	восточная	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	северная	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	+	-
Лихорадка Западного Нила													
Азия	юго-восточная	-	-	-	+	0	0	0	0	0	0	0	-
	центральная	-	-	-	-	+	0	0	0	0	+	-	-
	западная	-	-	-	-	+	0	0	0	0	+	-	-
	южная	-	-	0	0	0	0	0	0	+	-	-	-
Африка	северная	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	+	-
	центральная	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	южная	0	0	0	0	0	+	-	-	-	-	0	0
	западная	-	-	-	-	+	0	0	0	0	0	+	-
Америка	северная	-	-	-	-	+	0	0	0	+	+	-	-
	южная	0	+	-	-	0	0	0	0	+	-	-	0
	центральная	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
Малярия													
Азия	юго-восточная	-	-	-	+	0	0	0	0	0	0	0	-
	южная	-	-	0	0	+	0	0	0	+	-	-	-
	центральная	-	-	0	0	+	+	+	+	+	+	-	-
Африка	северная	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	+	-
	западная	-	-	-	-	+	0	0	0	0	0	+	-
	центральная	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	восточная	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Америка	южная	0	0	0	0	0	+	-	-	-	-	0	0
	Карибский бассейн	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	+
	центральная	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0
	южная	0	+	-	-	0	0	0	0	+	-	0	0
Ласса													
Африка	северная	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	восточная	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	западная	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
	центральная	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	южная	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Марбург													
Африка	центральная	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	южная	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Эбола													
Африка	западная (Кот д'Ивуар)	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
	центральная	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
	южная	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Чума													
Африка	северная	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	восточная	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-
	западная	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	центральная	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-
	южная	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+

Примечание. Риск завоза: «-» – минимальный; «+» – средний; «O» – максимальный.

Азия: юго-восточная – в странах с тропическим климатом сезон дождей с апреля (мая) по октябрь (ноябрь); в странах с тропическим морским муссонным климатом – влажные летние муссоны с марта (апреля, мая, июня) по сентябрь (октябрь).

Африка: центральная – в странах с экваториальным климатом – два влажных сезона с февраля по апрель (май) и с сентября (ноября) по ноябрь (январь); в странах с тропическим климатом влажный сезон – в северном полушарии с апреля по октябрь, в южном полушарии с ноября по март; восточная – в Танзании на севере два сезона дождей – с марта по май и с сентября по ноябрь, на юге – один – с ноября по апрель.

Америка: Южная Америка – самый влажный материк. Огромное количество осадков ежегодно выпадает на севере в долине реки Амазонки и ее притоков. Субэкваториальный пояс – это единственный пояс материка, который находится и в Северном и в Южном полушарии. Осадки выпадают сезонами, при удалении от экватора длительность сезона дождей сокращается, а засушливого периода возрастает. Дожливый сезон приходится на лето, на севере материка – в июне–августе, а к югу от экватора – в декабре–феврале.

Время риска в многолетнем аспекте характеризуется периодически возникающими вспышками. В октябре 2012 г. Министерство здравоохранения Уганды объявило о вспышке геморрагической лихорадки Марбург в юго-западной части Уганды. Заболевания зарегистрированы в 5 округах страны, всего по данным на 28 октября 2012 г. 18 больных, включая одного медицинского работника, в том числе 9 летальных исходов. Известно о двух случаях заноса лихорадки Марбург путешественниками из США и Нидерландов после посещения Уганды в январе и июне 2008 г. Рост эпидемиологического риска происходит в период усиления контактов человека с природно-очаговыми комплексами во время охоты, отлова, миграции крыланов в антропогенные ландшафты. Этот период приходится на сезон дождей, в течение которого происходит рост численности летучих мышей, крыланов. Засушливый период, наблюдаемый с апреля по октябрь к югу от экватора в Конго, Уганде, Кении, Андоре, ЮАР не благоприятен для жизнедеятельности указанных животных, численность которых снижается.

Контингент риска: местное население и международные путешественники, контактирующие с факторами риска (посещение пещер, заселенных летучими мышами); медицинский персонал при оказании медицинской помощи и исследовании клинического материала; лица, занимающиеся отловом, обследованием и уходом за больными животными.

Лихорадка Эбола. Территории риска: эндемичные (энзоотичные) территории в зоне влажных тропических лесов Центральной и Западной Африки (Демократическая республика Конго, Судан, Нигерия, Либерия, Габон, Сенегал, Кения, Камерун, Эфиопия, Центрально-Африканская республика). Вспышки геморрагической лихорадки Эбола вызывают серотипы – Заир, Судан, Кот-д'Ивуар, Бундибуджио, названные по месту их выделения в Африке.

Факторы риска: заражение человека происходит при непосредственном контакте с гориллами, шимпанзе, лесными антилопами и дикобразами, летучими мышами, крыланами. Летучие мыши, по-видимому, играют роль носителей возбудителя в природе. Заражение человека происходит в результате контакта с кровью и выделениями больных людей, при проведении медицинских манипуляций, с трупами при ритуальных действиях в процессе похорон и связанных с ними событиями, а также с объектами окружающей среды, контаминированными возбудителем. Возможен фекально-оральный механизм передачи.

Время риска: с 1976 г. по настоящее время известно о более чем 20 вспышках лихорадки Эбола, а также об отдельных случаях инфицирования человека вирусом Эбола. Общее число больных – 2433, в том числе со смертельным исходом – 1581. Наиболее масштабная вспышка с большим числом больных и умерших – 425 и 224 соответственно продолжалась с октября 2000 по февраль 2001 года в север-

ных районах Уганды. Вспышки лихорадки Эбола в эндемичных очагах возможны в течение всего года, однако наиболее часто они возникают в начале осени, когда заканчивается засушливый сезон и миллионы плодоядных кормятся в кронах тропических деревьев. К этому времени у крыланов появляется потомство. В поисках плодов приматы в кронах деревьев встречаются с крыланами (летучими собаками) и, видимо, соприкасаются с кровью и плацентой их самок. Изменение риска заражения лихорадкой Эбола человека в природе по месяцам приведено в табл. 2: в Западной Африке – с июня по октябрь; в Центральной и Южной Африке – с октября по март. В эти месяцы отмечается усиление контактов человека с природно-очаговыми комплексами (охота, отлов, миграции копытных и летучих мышей в антропогенные ландшафты). В Заире, Кот д'Ивуаре, Конго, Габоне, Кении – контакт с обезьянами, антилопами, крыланами, летучими мышами.

Контингент риска: местное население, осуществляющее промысел диких животных – носителей возбудителя, и участвующее в их разделке, употреблении в пищу, контактирующее с факторами риска (выполнение ритуала похорон, употребление в пищу больных животных), медицинский персонал, осуществляющий оказание медицинской помощи и исследование клинического материала от больных лихорадкой Эбола, лабораторные работники, имеющие контакт с инфицированным материалом, лица, занимающиеся отловом, обследованием обезьян, уходом за больными животными.

Случаев заноса лихорадки Эбола и его реализации в виде эпидемических осложнений за пределами эндемичных территорий Африки не описано, что, вероятно, связано с тяжелым клиническим течением и высокой летальностью болезни. Вместе с тем, несмотря на такие «устрашающие» параметры болезни и отсутствие фактов распространения ее за пределы Африканского континента, вынос лихорадки Эбола из эпидемических очагов Африки и занос на благополучные территории других континентов теоретически возможен. На это указывают приемлемые сроки инкубационного периода, равные 2–21 дню, и возможности современных высокоскоростных видов транспорта.

Что касается **чумы**, то варьирование эпидемиологического риска по месяцам года на Африканском континенте (табл. 2), где регистрируется наибольшее количество случаев этой болезни в мире, также связано с чередованием «влажного» и «сухого» периодов. Сезон дождей вызывает массовые миграции синантропных и полусинантропных видов грызунов – носителей чумы – в постройки человека и их окрестности (вследствие подтопления пойменных территорий и понижений рельефа). Во влажный сезон происходит усиление контактов населения с дикоживущими грызунами, возрастание уровня эпидемиологического риска вследствие заноса инфекции в населенные пункты. Все это способствует

росту потенциальной опасности выноса инфекции за пределы Африканского континента.

Таким образом, разработанная и проиллюстрированная на примерах ряда актуальных инфекционных болезней методика определения потенциальной эпидемической опасности массовых мероприятий на основе оценки эпидемиологического риска по четырём его составляющим (территория риска, время риска, факторы риска, контингенты риска), позволяет построить обоснованный эпидемиологический прогноз, создать методологический, технологический, материально-технический, организационный и нормативно-методический ресурс, межведомственный уровень взаимодействия при обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения, биологической безопасности в районе проведения ММ в расчете на современные угрозы и вызовы чрезвычайного характера, включая и биотеррористические акты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бароян О.В. Холера Эль-Тор. М.: Медицина; 1971. 256 с.
2. Ганушкина Л.А., Дремова В.П. Комары *Aedes aegypti* и *Aedes albopictus* – переносчики арбовирусных инфекций. Биология. Экология. Распространение. Отличительные признаки видов. Мед. параз. и паразит. бол. 2011; 4:24–8.
3. Горностаева Р.М. Новый список комаров (Diptera: Clitidae) России. Мед. паразитол. и паразит. бол. 2009; 1:60–2.
4. Ибрагимов Н.И., Мухамедов С.М., Инотамова И.А. О роли холерных вибрионов биовара Эльтор различных вариантов в эпидемиологии холеры в Узбекистане. Probl. osobo opasn. infek. 2001; 1(81):47–52.
5. Кологоров А.И., Кедрова О.В., Пахомов Д.А., Пискунова Н.В., Ковтунов А.И., Васенин А.С., Кабин В.В., Илюхин А.А., Грачева И.В., Раздорский А.С., Сафронов В.А. Закономерности распространения холеры в бассейне Волги в 1970–1973 гг. Probl. osobo opasn. infek. 2010; 2(104):22–8.
6. Марамович А.С., Погорелов В.И., Урбанович Л.Я., Шкаруба Т.Т. Холера эльтор в Латинской Америке. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2001; 5:82–90.
7. Минин Г.Д., Коробов Л.И., Кологоров А.И., Осина Н.А., Сакаев З.Ф., Галлямов Р.Г., Галлямова Л.К., Кузьминых Н.К., Ежова М.Ю., Ширлина С.А., Степаненко А.Г., Рожкова Е.В., Сулейманов Н.С., Сыса А.М., Киреев С.Г., Мальхина З.В., Топорков А.В. О завозном случае холеры в Белорецке Республики Башкортостан. Probl. osobo opasn. infek. 2005; 1(89):23–5.
8. Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Арешина О.А., Назаретян А.А., Кругликов В.Д., Иванова С.М., Козина Д.А. Характеристика эпидемиологической обстановки по холере в мире (2003–2012 гг.) и прогноз на 2013 г. Probl. osobo opasn. infek. 2013; 1:11–7.
9. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Шуковская Т.Н., Смирнова Н.И., Никифоров А.К., Еремин С.А., Топорков В.П. Специфическая профилактика холеры в современных условиях. Probl. osobo opasn. infek. 2011; 1(107):5–12.
10. Онищенко Г.Г., Москвитина Э.А., Кологоров А.И., Морозов В.В., Пигалова Н.В., Зиятдинов В.Б., Бугрова Е.П., Карнауков И.Г., Казакова Е.С., Ломов Ю.М., Мишанкин Б.Н., Мазрухо Б.Л., Кудрякова Т.А., Водопьянов С.О., Рыжко И.В., Королев Ю.С. Вспышка холеры в Казани в 2001 году. Probl. osobo opasn. infek. 2001; 2(82):15–26.
11. Покровский В.И., редактор. Холера в СССР в период VII пандемии. М.: Медицина; 2000. 472 с.
12. Покровский В.И., Онищенко Г.Г., редакторы. Актуальные проблемы холеры. М.; 2000. 384 с.
13. Семиотрочев В.Л., Хакимов М.М., Шоумаров С.Б. Закономерности эпидемических проявлений холеры в центрально-азиатских республиках СНГ при завозе ее из-за рубежа. Мед. журн. Узбекистана 1998; 1:74–5.
14. Сергиев В.П., Ганушкина Л.А., Филатов Н.Н. Новые и возвращающиеся переносчики вирусных лихорадок – угроза эпидемических осложнений на юге Европы и России. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2011; 4:97–100.
15. Топорков В.П., Кологоров А.И., Осина Н.А., Бугоркова Т.В., Щербакова С.А., Портенко С.А., Кучимова Н.А., Мавлютов О.М., Фарвазова Л.А., Галлямов Р.Г., Иванова И.А., Коробов Л.И., Сыса А.М., Короткова Ю.А. Ретроспективный анализ заносных случаев холеры в г. Белорецк Республики Башкортостан в 2008 году. Probl. osobo opasn. infek. 2009; 3(101):31–3.
16. Araoz J., Barua D., Burrows W., Carpenter C.C.J., Cash R.A., Cvjetanovic B., Feeley J.C., Gallut J.C., Mahalanabis D., Mondal A., Mosley W.H., Mukerjee S., Nalin D.R., Pierce N.F., Raska K., Sack R.B., Sakazaki R., Subrahmanyam D.V., Verwey W.F., Watanabe Y. Principles and practice of cholera control. WHO, Geneva; 1970. 140 p.
17. Dizon J.J., Fukumi H., Barua D., Vakera J., Jayme F., Gomez F., Yamamoto S-I., Wake A., Gomez C.Z., Takahira Y., Paraan A., Rolda L., Alvero M., Abou-Gareeb A.H., Kobari K., Azurin J.C. Studies on Cholera Carriers. Bull. World Health Organ. 1967; 37:737–43.

References

1. Baroyan O.V. [Cholera El Tor]. M.: Meditsina; 1971. 256 p.
2. Ganushkina L.A., Dremova V.P. [*Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* – vectors of Arboviral infections. Biology. Ecology. Distribution. Characteristic features of species]. Med. Parazitol. Parazitarn. Bol. 2011; 4:24–8.
3. Gornostaeva R.M. [Novel catalogue of mosquitoes (Diptera: Clitidae) of the Russian Federation]. Med. Parazitol. Parazitarn. Bol. 2009; 1:60–2.
4. Ibragimov N.I., Mukhamedov S.M., Inotamova I.A. [Concerning the role of cholera vibrios biovar El Tor of various types in cholera epidemiology in the territory of Uzbekistan]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2001; (81): 47–52.
5. Kologorov A.I., Kedrova O.V., Pakhomov D.A., Piskunova N.V., Kovtunov A.I., Vasenin A.S., Kabin V.V., Ilyukhin A.A., Gracheva I.V., Razdorsky A.S., Safronov V.A. [Regularities of cholera spread in the Volga Basin in 1970–1973]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2010; (104):22–8.
6. Maramovich A.S., Pogorelov V.I., Urbanovich L.Ya., Shkaruba T.T. [Cholera biovar El Tor in Latin America]. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 2001; 5:82–90.
7. Minin G.D., Korobov L.I., Kologorov A.I., Ossina N.A., Sakayev Z.F., Gallyamov R.G., Gallyamova L.K., Kuzmi-nykh N.K., Yezhova M.Yu., Shyrlina S.A., Stepanenko A.G., Suleymanova N.S., Syssa A.M., Kireyev S.G., Mal'ykhina Z.V., Toporkov A.V. [An instance of imported cholera in the town of Beloretsk, Bashkortostan Republic]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2005; (89):23–5.
8. Moskvitina E.A., Mazrukho A.B., Adamenko O.L., Arreshina O.A., Nazaretyan A.A., Kruglikov V.D., Ivanova S.M., Kozina D.A. [Characteristics of the Epidemiological Situation on Cholera the World Over]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2013; 1:11–7.
9. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., Shchukovskaya T.N., Smirnova N.I., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Toporkov V.P. [Cholera specific prophylaxis in modern conditions]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2011; (107): 5–12.
10. Onishchenko G.G., Moskvitina E.A., Kologorov A.I., Morozov V.V., Pugalova N.V., Ziatdinov V.B., Bugarova E.P., Karnaukhov I.G., Kazakova E.S., Lomov Yu.M., Mishan'kin B.N., Mazrukho B.L., Kudryakova T.A., Vodopyanov S.O., Ryzhko I.V., Korolev Yu.S. [Cholera outbreak in Kazan in 2001]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2001; (82):15–26.
11. Pokrovsky V.I., editor. [Cholera in USSR during the Period of the Seventh Pandemic]. M.: Meditsina; 2000. 472 p.
12. Pokrovsky V.I., Onishchenko G.G., editors. [Topical Problems Associated with Cholera]. M.: 2000. 384 p.
13. Semiotrochev V.L., Khakimov M.M., Shoumarov S.B. [Regularities of cholera manifestations in central-asian republics of SIC in case of import from abroad]. Med. Zh. Uzbekistana. 1998; 1:74–5.
14. Sergiev V.P., Ganushkina L.A., Filatov N.N. [Emerging and re-emerging vectors of viral fevers – risk of epidemic complications in the South of Europe and Russia]. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 2011; 4:97–100.
15. Toporkov V.P., Kologorov A.I., Ossina N.A., Bugorkova T.V., Scherbakova S.A., Portenko S.A., Kuchimova N.A., Mavlyutov O.M., Farvazova L.A., Gallyamov R.G., Ivanova I.A., Korobov L.I., Syssa A.M., Korotkova Yu.A. [Post-event analysis of imported cholera cases in Beloretsk, the Republic of Bashkortostan, in 2008]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2009; (101):31–3.
16. Araoz J., Barua D., Burrows W., Carpenter C.C.J., Cash R.A., Cvjetanovic B., Feeley J.C., Gallut J.C., Mahalanabis D., Mondal A., Mosley W.H., Mukerjee S., Nalin D.R., Pierce N.F., Raska K., Sack R.B., Sakazaki R., Subrahmanyam D.V., Verwey W.F., Watanabe Y. Principles and practice of cholera control. WHO, Geneva; 1970. 140 p.
17. Dizon J.J., Fukumi H., Barua D., Vakera J., Jayme F., Gomez F., Yamamoto S-I., Wake A., Gomez C.Z., Takahira Y., Paraan A., Rolda L., Alvero M., Abou-Gareeb A.H., Kobari K., Azurin J.C. Studies on Cholera Carriers. Bull. World Health Organ. 1967; 37:737–43.

Authors:

Udovichenko S.K., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Kuklev E.V., Kedrova O.V., Safronov V.A., Razdorsky A.S., Popov N.V., Knyazeva T.V., Toporkov V.P., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Удовichenko С.К., Топорков А.В., Карнауков И.Г., Куклев Е.В., Кедрова О.В., Сафронов В.А., Раздорский А.С., Попов Н.В., Князева Т.В., Топорков В.П., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 16.08.13.

А.Е.Шиянова¹, В.П.Топорков¹, В.Ю.Смоленский²

ТЕРМИНОЛОГИЧЕСКИЙ АСПЕКТ ОБЕСПЕЧЕНИЯ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ НАСЕЛЕНИЯ В РОССИИ И НА МЕЖДУНАРОДНОМ УРОВНЕ

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Рассмотрено становление понятия «санитарная охрана территории». Несмотря на принятое в настоящее время определение санитарии как дисциплины, изучающей вопросы общественной гигиены, санитарная охрана территории, имея прежде всего эпидемиологическую сущность и являясь составной частью эпидемиологии, сохранила исторически сложившийся термин «санитарный». Показано отсутствие влияния несовпадения в употреблении терминов в области санитарной охраны территории в различных форматах международных отношений (ВОЗ и СНГ) на общее понимание существа и решение проблемы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Цели и содержание двух понятий, используемых в ММСП (2005 г.), – глобальный эпидемиологический надзор плюс ответные меры – определяют их эквивалентность в отношении ситуаций, на которые распространяется данный документ, понятиям эпидемиологический надзор плюс санитарная охрана, используемым на пространстве СНГ.

Ключевые слова: санитарная охрана территории, эпидемиологический надзор.

A.E.Shiyanova¹, V.P.Toporkov¹, V.Yu.Smolensky²

Terminological Issues of Sanitary-Epidemiological Welfare Provision Both in Russia and on the Global Scale

¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation; ²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation

Discussed is the build-up of a term “sanitary protection of the territories”. Regardless of commonly accepted definition of sanitation as a discipline that studies issues of public hygiene, sanitary protection of the territories, being for the most part an epidemiological phenomenon and an element of epidemiology, has maintained historically developed attribute “sanitary”. Demonstrated is the fact that variations in interpretation of the terms in the sphere of sanitary protection of the territories in various contexts of international intercourse (WHO and SIC) do not affect general concept of the issue and choice of ways for handling a problem as regards provision of sanitary-epidemiological welfare of the population. Objectives and content of the two notions formalized in IHR (2005), – “global epidemiological surveillance” plus “response measures” – predetermine their equivalence (in reference to the situations covered in the document), to the definitions “epidemiological surveillance” plus “sanitary protection”, applied to in the territory of CIS counties.

Key words: sanitary protection of the territories, epidemiological surveillance.

При развитии международного сотрудничества в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения необходимо учитывать терминологический аспект этой проблемы, а точнее избирательность употребления ряда терминов в России и других государствах-участниках СНГ и отсутствие их в Международных медико-санитарных правилах (ММСП) 2005 г. – документе, объединяющем на глобальном уровне организационные и методические аспекты такого сотрудничества. Прежде всего это эквивалент термину «чрезвычайная ситуация в области общественного здравоохранения» – «чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения», подробно рассмотренный А.В.Топорковым и соавт. [8]. Исторически сложилась избирательность употребления и понятия «санитарная охрана территории», используемого в противоэпидемической практике на уровне СНГ.

Это понятие пришло в СССР на смену «санитарной охране границ» в 60-х годах XX в. [3], отразив

сложившуюся на тот период реальность заноса карантинных болезней вглубь страны, минуя пограничные барьеры, и получило законодательное закрепление. История осуществления мероприятий по санитарной охране границ в той мере, в какой они соответствовали развитию социума в целом, насчитывает несколько столетий. Исследуя историю чумы в России, М.И.Галанин (1897) делает вывод, что попытки удерживать ее распространение на Руси начались раньше, чем в Западной Европе, приводя в качестве примера действия жителей Новгорода при чуме в Пскове в 1352 г. и описанные в летописях 1510–1519 гг. первые карантинные меры, более значимые, чем применяемые в то время в Европе. Усиление противоэпидемических мер, в том числе санитарно-карантинных, в России происходит в XVI–XVII вв., а с середины XVIII в. начали функционировать первые постоянные пограничные карантинные пункты. С «Уставом пограничных и портовых карантинных пунктов» 1800 г., определившим их структуру, принципы организации и порядок деятельности, связывают формирование законода-

тельной основы мероприятий по санитарной охране границ в России. К середине XIX в. сформировалась самостоятельная санитарно-карантинная служба, включавшая 44 сухопутных и 22 приморских карантин и карантинных застав [5]. Во второй половине XIX в. развивается международное сотрудничество в области санитарной охраны границ. С 1866 г., когда был принят новый Устав о карантинах, российские национальные документы стали учитывать требования международных соглашений в этой области.

Появление самого термина «санитарная охрана границ» относится к концу XIX в., когда в России были разработаны первые Правила по санитарной охране морских и сухопутных границ, в соответствии с которыми с 1897 г. начали функционировать первые морские врачебно-наблюдательные станции и врачебно-наблюдательные пункты на сухопутной границе, сменившие ранее существовавшие карантинны. Они имели все необходимое для изоляции, диагностики и лечения больных, проведения санитарно-карантинного досмотра, дезинфекции.

В СССР документы по вопросам санитарной охраны границ 1926, 1931 гг. определяли применение медико-санитарных мер, в том числе противоэпидемических и запретительных, а также обязанность медицинского персонала по извещению органов власти о первых случаях карантинных болезней, то есть раннюю систему информации, что, по мнению А.А. Шапошникова [13], иллюстрирует основные принципы эпидемиологического надзора. В международном масштабе в целях ограничения трансграничного переноса инфекции в первые десятилетия XX в. сохранялось регулирование системы мероприятий, понимаемых как карантин, карантинные меры, карантинная практика. Названные английским эпидемиологом К.Сталлибрассом (1936 г.) составные части карантинной практики аналогичны мероприятиям, проводимым в СССР в рамках санитарной охраны границ.

На территории России с начала XIX в. борьба с заразными болезнями осуществлялась в рамках сформированного врачебно-санитарного дела, находившегося под контролем Медицинского департамента Министерства полиции. Этот период подробно рассмотрен в статье Г.Г.Онищенко и соавт. [7]. Во второй половине XIX в. начали свою работу первые структуры, независимые от департамента – временная санитарная комиссия, а затем постоянная санитарная организация. Функционируя на случай возникновения эпидемий или их угроз, они стали прообразом органов санитарно-эпидемиологической службы.

В начале XX в. расширение и углубление знаний в сфере противодействия инфекционным болезням привело к выделению научных дисциплин, изучающих отдельные стороны проблемы: микробиология, паразитология и др. Происходит становление эпидемиологии инфекционных болезней как самостоятельной профилактической дисциплины в результате дифференциации врачебного труда в сфере превентивной медицины. В целях «разгрузки санитарных врачей от эпидемической работы» в 1911–1913 гг. в

ряде губерний были созданы должности санитарно-эпидемических врачей; тенденция к разделению функций эпидемиолога и функций санитарного врача продолжилась в начале советского периода.

Составной частью принятого в 1960 г. на Международном эпидемиологическом симпозиуме определения эпидемиологии как отрасли науки стало применение полученных знаний для борьбы, предупреждения и искоренения заразных болезней [11]. В настоящее время эпидемиология включена в Номенклатуру специальностей научных работников, отрасль наук 14.02.02 Медицинские науки (приказ Минобрнауки России от 25.02.2009 г. № 59). Согласно формуле специальности (паспорта специальностей научных работников – утв. Минобрнауки России в 2010 г.), «эпидемиология изучает заболеваемость населения ..., разрабатывает комплекс средств и мероприятий, а также систему организации профилактической и противоэпидемической помощи населению». Одной из областей исследования названа «разработка и усовершенствование системы профилактических и противоэпидемических мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации».

Таким образом, санитарная охрана территории как комплекс мер по предотвращению заноса болезней и их распространения внутри страны является составной частью эпидемиологии. Несмотря на принятое в настоящее время определение санитарии как дисциплины, изучающей вопросы общественной гигиены, или как совокупность мероприятий по охране общественной гигиены, а термин «санитарный» означает «связанное с применением санитарии, с мероприятиями по санитарии», санитарная охрана территории, неся прежде всего эпидемиологическую сущность, сохранила исторически сложившийся термин «санитарный».

На формулировку определения данного понятия в нормативно-правовых документах, начиная с 1973 г., влияло функциональное содержание санитарной охраны территории. Принятие в 1991 г. Закона РСФСР «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» и разработка в последующем Санитарных правил и норм СанПиН 3.4.035.-95 «Санитарная охрана территории Российской Федерации» определили новый качественный виток в становлении современной формулировки. Впервые документ, регламентирующий санитарную охрану территории страны, затронул не только инфекционные болезни, но также и ввозимые потенциально опасные товары. Дальнейшее развитие данное направление получило в связи с внедрением на территории страны ММСП (2005 г.).

В ММСП (2005 г.) вместо требований к санитарной охране территории приводятся требования к основным возможностям в отношении определенных аэропортов, портов и наземных транспортных узлов и требования к основным возможностям в области эпидемиологического надзора и ответных мер (приложение 1 к ММСП). То есть приоритетное зна-

чение при выборе терминов, отражающих обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения на международном уровне, отдано двум терминам – эпидемиологический надзор + ответные меры. Их сочетание объясняется тем, что в понятие «эпидемиологический надзор» вкладывается лишь информационное обслуживание противоэпидемических мероприятий (ответных мер), которые, в свою очередь, именуются отдельным термином «эпидемиологический контроль» [6]. На пространстве же СНГ с понятием «эпидемиологический надзор», наряду с информационным обеспечением, ассоциируются и меры, позволяющие целенаправленно управлять инфекционными болезнями. Информационный аспект исчерпывается термином «эпидемиологический мониторинг», принятым еще в СССР [14]. В связи с этим эпидемиологический надзор в отечественной трактовке (наследие развития эпидемиологии в трудах академиков В.Д.Белякова [1] и Б.Л.Черкасского [12]) дифференцируют в зависимости от его осуществления за конкретными инфекционными болезнями или группами близких по эпидемиологической классификации нозологических форм: природно-очаговыми, зоонозными, управляемыми противозооотическими мерами, проводимыми в зонах наибольшего эпидемиологического риска; кишечными инфекциями, управляемыми санитарно-гигиеническими мерами; капельными инфекциями, управляемыми средствами специфической иммунопрофилактики и др.

Необходимо отметить неоднозначность трактовки в нашей стране эпидемиологического надзора, обособившегося как направление эпидемиологии в середине XX столетия. Как крайности В.Ягодинским и И.Рейнару (1987 г.) названы сведение содержания данного понятия только к оперативному слежению за заболеваемостью для обеспечения информацией, с одной стороны, и чрезвычайно широкое понимание эпиднадзора, включающее проведение противоэпидемических мероприятий и их оценку, с другой стороны. Концепция эпиднадзора, не исключающая из его сущности факт реагирования на изменение эпидемиологической обстановки, отвечает принятому в России толкованию слов «надзор» (наблюдать, присматривать, неся за это ответственность) и «контроль» (проверка деятельности, наблюдение с целью проверки). Такой подход к содержанию эпиднадзора, включающий проведение профилактических и противоэпидемических мероприятий, получал отражение в методических документах в отношении таких инфекций, как чума, малярия. В содержание эпидемиологического надзора за чумой в ее природных очагах вкладывают такие меры, как эпизоотологический мониторинг, медицинское наблюдение за населением, проведение санитарно-профилактических (включая противозооотические) и первичных противоэпидемических мероприятий [9]. В то же время по отношению к другим инфекциям (ВИЧ-инфекция, гепатит В, энтеровирусные инфекции и др.) соответствующими нормативными и методическими документами эпиднадзор определен как наблюдение,

мониторинг, анализ и обобщение полученной информации. Таким образом, вариант трактовки эпиднадзора, оставляющий за ним лишь мониторинговую и информационно-аналитическую функцию, является достаточно распространенным.

Мнение об отсутствии четкой грани между санитарной охраной территории и эпидемиологическим надзором прослеживается в публикациях. В.Ягодинский и И.Рейнару (1987 г.) охрану территории СССР от заноса особо опасных инфекций выделили как особую форму эпиднадзора. В.Н.Федоров и соавт. [10] указывали на то обстоятельство, что система мероприятий против заноса чумы является частью общих мер по санитарной охране границ, в то время как мероприятия по предупреждению возможности возникновения заболеваний людей в энзоотических районах страны осуществляются противочумными учреждениями и учреждениями местной сети здравоохранения. Правилами по санитарной охране границ СССР 1958 г. санитарно-карантинная служба трактовалась как комплекс всех санитарно-противоэпидемических учреждений, находящихся в пограничном районе (не только санитарно-карантинный пункт, но и противочумная станция (отделение, лаборатория)). И.Д.Ладный и соавт. [5] мероприятия по санитарной охране отождествляли с эпиднадзором на национальном уровне.

Обе эти сферы деятельности в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения направлены на своевременное выявление риска возникновения эпидемических осложнений с целью их предотвращения проведением соответствующих мероприятий. На международном уровне выявление угрозы возникновения болезней и эпидемий и осуществление надлежащих мер для минимизации их воздействия на здоровье людей и экономику во всем мире постулируется Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как задача, решить которую должна быть в состоянии каждая страна. Кроме того, эффективному противодействию распространения инфекционных болезней, по оценке ВОЗ, способствует принятие ответных мер на международном уровне. Важность усиления эпиднадзора на национальном уровне эпиднадзором на международном уровне, основанном на сотрудничестве между странами в целях оперативного обмена информацией, подчеркивалась ВОЗ на этапе формирования концепции эпиднадзора [6]. Согласно ММСИ 1969 г. (с изм. 1973 и 1981 гг.) незамедлительному информированию ВОЗ подлежали «болезни, на которые распространяются правила» (чума, холера, желтая лихорадка), а также болезни, подлежащие международному эпидемиологическому надзору, но не предполагающие проведения карантинных мер (сыпной и возвратный тифы, полиомиелит, грипп, малярия) [2, 5].

Необходимость пересмотра наднациональных отношений в целях предупреждения международного распространения инфекционных болезней и других угроз здоровью населения определила принятие нового международного договора – ММСИ (2005 г.) – регламентирующего адекватные требова-

ния к национальному и международному эпиднадзору, обеспечивающие раннее выявление и ликвидацию вспышки инфекционной болезни до формирования международной угрозы. Планирование обеспечения готовности к пандемии, например, пандемии гриппа, предусматривает усиленный эпиднадзор, в задачи которого могут входить такие моменты, как обнаружение случаев новой болезни, комплексная оценка с определением ее основных характеристик (клинические проявления, тяжесть течения), факторов риска и эпидемиологических особенностей [4].

Глобальный эпиднадзор, базирующийся на информации, полученной на основе национального эпиднадзора (от Национальных координаторов по ММСП), а также посредством сбора информации из других источников (GOARN и т.д.), наряду с ответными мерами, способствует быстрому сдерживанию распространения болезней в международном масштабе. Цели и содержание двух понятий, используемых в ММСП (2005 г.), – глобальный эпидемиологический надзор + ответные меры – определяют их эквивалентность в отношении ситуаций, на которые распространяется данный документ, понятиям эпидемиологический надзор + санитарная охрана, используемым на пространстве СНГ. Как можно видеть, некоторое несовпадение в употреблении терминов в различных форматах международных отношений (ВОЗ и СНГ) в целом не влияет на общее понимание существа и решение проблемы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Историко-эволюционный путь становления санитарной охраны территории и российский опыт борьбы с особо опасными инфекционными болезнями легли в основу принципиальных предложений России, учтенных при разработке этого документа, отражая универсальность принципов оперативного реагирования на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера в России и на международном уровне. Заложенные в ММСП (2005 г.) принципы предупреждения таких ситуаций не исключают применения специфических национальных терминов, отсутствующих в этом крупнейшем международном документе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляков В.Д. Эпидемиологический надзор – основа современной организации противоэпидемической работы. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1985; 5:53–8.
2. Брес П. Действия служб общественного здравоохранения в чрезвычайных ситуациях, вызванных эпидемиями: практическое руководство. ВОЗ. Женева; 1990. 293 с.
3. Васильев К.Г., Гольд Э.Ю., Марчук Л.М. От санитарной охраны границ к санитарной охране территории. М.: Медицина; 1974. 208 с.
4. Глобальный эпидемиологический надзор во время пандемии гриппа. Версия 1. Обновленный проект, апрель 2009 г. Сайт ВОЗ http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/global_pandemic_influenza_surveillance_apr09_ru.pdf (дата обращения 30.01.2013).
5. Ладный И.Д., Гольд Э.Ю., Марчук Л.М., Богатырев О.Ф. Руководство по предупреждению заноса и распространения особо опасных инфекций. М.: Медицина; 1979. 208 с.
6. Методы эпиднадзора за инфекционными болезнями: отчет о работе семинара, созванного Европейским региональным бюро ВОЗ (Гаага, 21–30 мая 1969 г.). Копенгаген; 1970. 99 с.
7. Онищенко Г.Г., Монисов А.А., Беляев Е.Н., Подунова

Л.Г., Ткачев П.Г., Кустова Е.А. История санитарно-эпидемиологической службы России. В кн.: История профилактики в России. Т. III. Рязань; 1999. С. 146–61.

8. Топорков А.В., Топорков В.П., Шиянова А.Е., Кутырев В.В. Чрезвычайная ситуация в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения как унифицированный объект надзора и оперативного реагирования в рамках современной стратегии борьбы с инфекционными болезнями. Пробл. особо опасных инф. 2009; 2(100):5–10.

9. Топорков В.П., Кокушкин А.М., Васенин А.С., Бережнов А.З., Кологоров А.И. Об оптимизации эпидемиологического надзора за чумой. В кн.: Природная очаговость, микробиология и профилактика зоонозов. Саратов; 1989. С. 9–16.

10. Федоров В.Н., Rogozin И.И., Фенюк Б.К. Профилактика чумы. М.: Медгиз; 1955. 230 с.

11. Черкасский Б.Л. Руководство по общей эпидемиологии. М.: Медицина; 2001. 560 с.

12. Черкасский Б.Л. Система эпидемиологического надзора как отражение структуры эпидемического процесса. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1986; 11:74–8.

13. Шапошников А.А. Научные основы эпидемиологии чрезвычайных ситуаций в области медицины. Медиа. 2012; 2(5):13–15.

14. Шаханкина И.Л., Чернова Т.П. Некоторые аспекты методологии эпидемиологического надзора. В кн.: Эпидемиологический надзор за инфекционными болезнями. М.; 1987. С. 27–33.

References

1. Belyakov V.D. [Epidemiological surveillance – the keystone of modern anti-epidemic activities management]. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1985; 5:53–8.
2. Bres P. [Public Health Action in Emergency Situations Caused by Epidemics: Practice Guidelines]. WHO. Geneva; 1990. 293 p.
3. Vasil'ev K.G., Gold E.Yu., Marchuk L.M. [From Sanitary Protection of the Borders to Sanitary Protection of the Territories]. M.: Meditsina; 1974. 208 p.
4. [Global Epidemiological Surveillance during the Period of Flu Pandemic. Version 1. Reviewed Draft, April 2009]. WHO website [cited: 30.01.2013]. Available from: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/global_pandemic_influenza_surveillance_apr09_ru.pdf.
5. Ladny I.D., Gold E.Yu., Marchuk L.M., Bogatyrev O.F. [Practical Guidelines for the Control Over Import and Dissemination of Particularly Dangerous Infections]. M.: Meditsina; 1979. 208 p.
6. Methods of epidemiological surveillance over infectious diseases: performance record of the commission convened by WHO Regional Office for Europe (The Hague; May, 21–30, 1969). Copenhagen; 1970. 99 p.
7. Onishchenko G.G., Monisov A.A., Belyaev E.N., Podunova L.G., Tkachev P.G., Kustova E.A. [History of the Russian Sanitary-Epidemiological Service]. In: [History of Disease Prophylaxis in Russia. Vol. 3]. Ryazan; 1999. P. 146–61.
8. Toporkov A.V., Toporkov V.P., Shiyanova A.E., Kutyrev V.V. [Emergency situation in the sphere of population sanitary and epidemiologic welfare as unified object of surveillance and active response in the scope of up-to-date strategy of infectious diseases control]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2009; (100):5–10.
9. Toporkov V.P., Kokushkin A.M., Vasenin A.S., Berezhnov A.Z., Kologorov A.I. [Regarding optimization of epidemiological surveillance over plague]. In: [Natural Focality, Microbiology, and Prophylaxis of Zoonoses]. Saratov; 1989. P. 9–16.
10. Fedorov V.N., Rogozin I.I., Fenyuk B.K. [Plague Prophylaxis]. M.: Medgiz; 1955. 230 p.
11. Cherkassky B.L. [Guidelines on General Epidemiology]. M.: Meditsina; 2001. 560 p.
12. Cherkassky B.L. [Epidemiological surveillance framework as a reflection of epidemiological process structure]. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1986; 11:74–8.
13. Shaposhnikov A.A. [Scientific foundations of epidemiology as regards emergency situations in the sphere of medicine]. Medial'. 2012; 2(5):13–5.
14. Shakhankina I.L., Chernova T.P. [Several aspects of methodological base for epidemiological surveillance]. In: [Epidemiological Surveillance over Infectious Diseases]. M.; 1987. P. 27–33.

Authors:

Shiyanova A.E., Toporkov V.P. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Smolensky V.Yu. Federal Service on Surveillance in the Sphere of Consumer Rights Protection and Human Welfare. Moscow, Russian Federation.

Об авторах:

Шиянова А.Е., Топорков В.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Смоленский В.Ю. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, Москва.

Поступила 05.02.13.

Л.М.Куклева, Н.Ю.Шавина, Н.А.Виноградова, Н.Ю.Носов, Г.А.Ерошенко, Н.П.Гусева, В.В.Кутырев

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* ИЗ ЗАБАЙКАЛЬСКОГО СТЕПНОГО ОЧАГА ЧУМЫ

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

В статье приведена комплексная фенотипическая и генетическая характеристика штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Забайкальском степном очаге чумы до и после смены основного носителя, произошедшей здесь в середине 60-х годов прошлого века. На основе ПЦР-анализа и мультилокусного секвенирования генов *glpD*, *melB*, *napA*, *rhaS* и *iclR*, кодирующих дифференциально значимые признаки – ферментацию глицерина, мелибиозы, рамнозы, продукцию изоцитратлиазы и денитрифицирующую активность, получены доказательства принадлежности изученных штаммов к античному биовару основного подвида возбудителя чумы. Для определения генетического родства этих штаммов использован мультилокусный VNTR-анализ по семи локусам варибельных тандемных повторов: ms01, ms04, ms06, ms07, ms46, ms62. На основании полученных результатов установлено, что штаммы возбудителя чумы, изолированные в Забайкальском степном очаге в разные периоды его существования, составляют единую ветвь на филогенетическом дереве эволюции *Y. pestis*.

Ключевые слова: возбудитель чумы, природные очаги, биовары, фенотипическая и генетическая характеристика штаммов, генотипирование.

L.M.Kukleva, N.Yu.Shavina, N.A.Vinogradova, N.Yu.Nosov, G.A.Eroshenko, N.P.Guseva, V.V.Kutyrev

Phenotypic and Molecular-Genetic Peculiarities of *Yersinia pestis* Strains from Trans-Baikal Steppe Plague Focus

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

The paper contains the data on the complex phenotypic and genotypic characteristics of *Yersinia pestis* strains isolated in Trans-Baikal steppe plague focus before and after the succession of the main carrier which took place in the 1960s. Based on the PCR-analysis and multilocus sequence typing of *glpD*, *melB*, *napA*, *rhaA*, and *iclR* genes, encoding differentially significant properties such as glycerin, melibiose, rhamnose fermentation, isocitrate lyase production, and denitrification activity, developed are the proofs of affiliation of the studied strains to the biovariant antiqua of the plague agent main subspecies. Multilocus VNTR-analysis by seven locuses of variable tandem repeats – ms01, ms04, ms06, ms07, ms46, ms62 – has been used to establish genetic relations between the strains. Thus on the basis of the results obtained, it is established that the strains of the plague agent, isolated in the Trans-Baikal steppe focus in various periods of its existence, form one common branch on the phylogenetic tree of *Y. pestis* evolution.

Key words: plague agent, natural foci, biovars, phenotypic and genotypic characteristics of strains, genotyping.

Несмотря на многообразие принципов дифференциации природных очагов чумы, все основные схемы типизации были основаны на эколого-ландшафтных характеристиках территории этих очагов. В настоящее время на территории стран СНГ, включая Россию, в соответствии с унифицированной классификацией очаговых территорий, основанной на особенностях проявлений чумы в различных ландшафтных зонах, закономерностях сезонной и многолетней активности очагов различной биоценотической структуры, родовом названии основного носителя, выделены 45 очагов чумы [11]. При этом считается, что существует тесная взаимосвязь между принадлежностью штаммов *Y. pestis* к определенной внутривидовой систематической группе (подвиды и биовары) и типом основного носителя в очаге. Так, зоной циркуляции штаммов основного подвида античного биовара являются горные очаги сурочьего типа, а средневекового биовара – очаги сусликового и песчаночьего типов в зонах степей, полупустынь и

пустынь. Штаммы неосновных подвигов персистируют на полевках (кавказский, гиссарский, и улегейский подвиды) и пищухах (алтайский подвид).

Следует отметить, что при разработке критериев типизации территорий природных очагов и при их паспортизации использовали данные об особенностях видового спектра носителей и переносчиков, однако практически не учитывали параметры изменчивости главного компонента паразитарной системы – возбудителя чумы.

Между тем к настоящему времени накоплен большой фактический материал о фенотипических и молекулярно-генетических свойствах *Y. pestis* из природных очагов разного типа. Установлены генетические основы различного проявления дифференциально значимых биохимических признаков возбудителя чумы [2, 4, 5]. Разработана система молекулярного типирования, основанная на методах полимеразной цепной реакции, мультилокусного секвенирования и мультилокусного VNTR-анализа, которая обеспечи-

вает определение подвиговой, биоварной и очаговой принадлежности штаммов возбудителя чумы [3]. На основе разработанного стандартного алгоритма молекулярного типирования определены стандартные генотипы штаммов *Y. pestis* разных биоваров основного подвида и неосновных подвигов [3].

Накопленные знания позволяют подойти к решению вопроса о типизации природных очагов с учетом фенотипических и генетических особенностей штаммов возбудителя чумы, циркулирующих на конкретной энзоотичной территории. Возникает возможность выявления взаимосвязи между внутривидовой принадлежностью штаммов возбудителя чумы с типом основного носителя в очаге. Удобной моделью для выявления наличия (или отсутствия) такой взаимосвязи является Забайкальский степной очаг чумы, расположенный в степной зоне на юго-востоке Читинской области и являющийся северной окраиной Центрально-Азиатской зоны природной очаговости чумы.

В истории изучения Забайкальского природного очага чумы выделяют три основных периода [1]. Для первого периода (1911–1938 гг.) характерны активные эпизоотии на тарбаганах (*Marmota sibirica*) и систематически возникающие случаи заболевания людей, связанные с охотой на этих грызунов. Второй этап (1939–1970 гг.) связан с интенсивным промыслом и масштабными истребительными мероприятиями против сурков, что привело к их уничтожению. С 1947 по 1966 год проявления чумы в очаге не регистрировали, и очаг считался «оздоровленным» [1]. Однако в 1966 г. на северо-западной окраине очага, где истребление зверьков и блох никогда не проводили, и где сохранились единичные жилые норы тарбаганов, выявлена эпизоотия чумы в популяциях даурского суслика (*Citellus dauricus*). В ходе ее был выделен 31 штамм возбудителя чумы (14 штаммов – от сусликов, 16 – от блох и 1 – от даурской пищухи). Впоследствии эпизоотии чумы регистрировали до 1970 г., и в качестве основного носителя чумы в Забайкалье выступал даурский суслик. Третий этап, начавшийся в 1971 г., характеризуется отсутствием эпизоотий и редкой регистрацией серопозитивных проб. Таким образом, в середине 60-х годов прошлого столетия на территории Забайкальского очага произошла смена носителя (сурка на суслика), вызванная хозяйственной деятельностью населения и мероприятиями по оздоровлению очага.

Целью настоящей работы был сравнительный анализ фенотипических и генетических свойств штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Забайкальском степном очаге чумы в разные периоды времени, для выявления у них отличий, вызванных сменой основного носителя и присущих ему переносчиков.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы. В работе изучены 11 штаммов *Yersinia pestis* основного подвида, изолиро-

ванных в разные годы в Забайкальском степном очаге чумы. Все штаммы получены из Государственной коллекции патогенных бактерий при РосНИПЧИ «Микроб». Среди изученных штаммов 4 изолята были выделены в 1923–1927 гг., из них 2 штамма *Y. pestis* – 17 (139) и 16 – от тарбагана и 2 – 95 (141) и 17/18 – от людей, больных легочной формой чумы. Остальные 7 штаммов были выделены в 1966–1970 гг. от даурских сусликов (*Y. pestis* 24, И-1251, И-1252, И-1270 и И-1996) и их блох (*Y. pestis* 2026 и 1843) после того, как в очаге поменялся основной носитель.

Культивирование штаммов, изучение их микробиологических (характер роста на жидких и плотных питательных средах, чувствительность к бактериофагам) и биохимических (ферментация глицерина, рамнозы, арабинозы и мелибиозы, денитрифицирующая активность) свойств, а также признаков, ассоциируемых с вирулентностью возбудителя чумы (пигментсорбция, зависимость от ионов Ca^{2+} при 37 °C), проводили общепринятыми методами в соответствии с рекомендациями, изложенными в практическом руководстве [6]. Питательные потребности изучали по методике, описанной ранее [6].

ПЦР проводили по стандартной методике [9]. Для амплификации фрагментов генов применяли ранее описанные праймеры [2, 4, 5, 10, 14]. Полученные в ПЦР продукты анализировали методом электрофореза в 1 % агарозном геле при напряжении 10–15 В/см. Секвенирование полученных ПЦР фрагментов генов осуществляли на генетическом анализаторе модели CEQ 8000 (Beckman Coulter). Для проведения сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей использовали алгоритм BLAST.

Результаты и обсуждение

Фенотипические свойства штаммов *Y. pestis* из Забайкальского степного очага. Были изучены фенотипические свойства 11 штаммов *Y. pestis*, выделенных в Забайкальском степном очаге чумы в разные периоды времени (1923–1927 и 1966–1970 гг.). Эти штаммы представляют собой удобную модель для выявления отличий, вызванных сменой основного носителя и присущих ему переносчиков.

В результате исследований было установлено, что по культурально-морфологическим признакам все изученные штаммы из Забайкальского степного очага, изолированные как в 1923–1927, так и в 1966–1970 гг., обладали типичной для возбудителя чумы морфологией клеток и характером роста на плотных и жидких питательных средах. Все они проявляли чувствительность к чумным диагностическим фагам Покровской и Л413 С. У всех штаммов выявлена способность к пигментсорбции и зависимость от ионов Ca^{2+} при 37 °C. Установлены одинаковые потребности забайкальских штаммов в метионине, фенилаланине и треонине. При изучении биохимических свойств у всех изолятов выявлено отсутствие способности к ферментации рамнозы и мелибиозы,

Генетическая характеристика штаммов из Забайкальского степного и других природных очагов чумы

Штаммы <i>Y. pestis</i>	Происхождение, очаг	Мутации в генах				
		<i>napA</i> G→T, 613*	<i>glpD</i> -93 п.н.	<i>rhaS</i> G→A, 671	<i>melB</i> +IS285, после 73	<i>iclR</i> +CC 269-270
16	Забайкальский степной	—	—	+	+	+
17 (139)	«	—	—	+	+	+
17/18	«	—	—	+	+	+
95 (141)	«	—	—	+	+	+
И-1251	«	—	—	+	+	+
И-1252	«	—	—	+	+	+
И-1270	«	—	—	+	+	+
24	«	—	—	+	+	+
1843	«	—	—	+	+	+
2026	«	—	—	+	+	+
И-1996	«	—	—	+	+	+
А-1486, античный биовар	Алайский высокогорный	—	—	+	+	+
М567, средневековый биовар	Северо-Западный Прикаспийский степной	+	—	+	+	+
EV НИИЭГ, вакцинный, восточный биовар	о. Мадагаскар	—	+	+	+	+
1146, кавказский подвид	Зангезуро-Карабахский высокогорный	—	—	—	—	—

*Указаны тип мутаций и ее расположение от начала гена.

но выявлена продукция изоцитратлиазы, что подтверждало их принадлежность к основному подвиду *Y. pestis*. Все изученные штаммы разлагали глицерин и, следовательно, не относились к восточному биовару. Одной из важнейших характеристик при решении вопроса о биоварной принадлежности этих штаммов служит их отношение к редукции нитратов. Проведенный анализ показал, что все изученные забайкальские штаммы, независимо от времени (1923–1927 или 1966–1970 гг.) и объекта (тарбаган, суслик или присущие им блохи) выделения, редуцировали нитраты и, следовательно, в соответствии с используемыми фенотипическими схемами классификации относились к античному биовару.

Генетические свойства штаммов Y. pestis из Забайкальского степного очага. Для выявления генетических особенностей штаммов *Y. pestis*, выделенных в Забайкальском очаге чумы, была изучена структура генов, дифференциальная экспрессия которых лежит в основе деления штаммов *Y. pestis* на подвиды и биовары. Для установления биоварной принадлежности определяли наличие мутаций, характерных для штаммов средневекового (замена единичного нуклеотида G→T в позиции 613 гена *napA* периплазматической нитратредуктазы) и восточного (делеция размером 93 п.н. в гене *glpD* глицерол-3-фосфатдегидрогеназы) биоваров возбудителя чумы. Кроме того, определяли присутствие мутаций, общих для всех биоваров основного подвида возбудителя чумы, что позволяет дифференцировать штаммы основного и неосновных подвидов: замена единичного нуклеотида G→A в позиции 671 регуляторного гена *rhaS*, вставка двух нуклеотидов +CC в позиции 269-270 от начала регуляторного гена *iclR*, внедре-

ние IS285 в ген *melB* галактозидпермеазы после 73 нуклеотида [2, 4, 5, 14]. В таблице представлены результаты изучения забайкальских штаммов, а также изолятов различных биоваров, использованных в качестве контрольных образцов.

Представленные в таблице данные свидетельствуют о том, что все изученные штаммы *Y. pestis* из Забайкальского степного очага, независимо от времени и источника их выделения, содержали мутации в генах *rhaS*, *melB*, *iclR*, обуславливающие отсутствие способности утилизировать, соответственно, рамнозу и мелибиозу, но синтезировать изоцитратлиазу, что характерно для всех штаммов основного подвида и отличает их от неосновных подвидов. В то же время отсутствие у этих изолятов мутаций в генах *napA* и *glpD*, что коррелирует с биохимической активностью в отношении редукции нитратов и ферментации глицерина, подтверждало их принадлежность к античному биовару.

Другие доказательства принадлежности всех изученных штаммов возбудителя чумы из Забайкальского степного очага к античному биовару были получены с использованием разработанного нами ранее способа генетической дифференциации штаммов античного и средневекового биоваров [10]. Как было показано, в штаммах средневекового биовара присутствует делеция *med36* размером 36 п.н., которая отсутствует в штаммах *Y. pestis* других подвидов и биоваров [10]. Указанная делеция была использована в качестве мишени для подтверждения принадлежности штаммов из Забайкальского степного очага чумы к античному биовару.

В ПЦР с праймерами, фланкирующими делецию *med36*, у всех изученных забайкальских изолятов

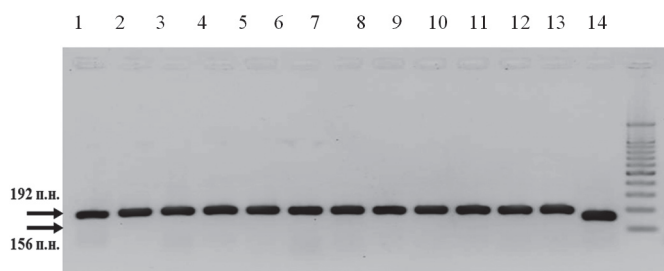


Рис. 1. Дифференциация в ПЦР с праймерами на делецию *med(36)* штаммов *Y. pestis* средневекового и античного биоваров методом гель-электрофореза

Штаммы: 1 – 24; 2 – 17 (139); 3 – И-1251; 4 – И-1252; 5 – 95 (141); 6 – 16; 7 – И-1270; 8 – 17/18; 9 – 1843; 10 – И-1996; 11 – 2026; 12 – 880 – античный биовар; 13 – М-567 – средневековый биовар; 14 – маркеры молекулярных масс (O'Range Ruler, 100 bp DNA Ladder, Fermentas). Стрелками указаны размеры, образуемых в ПЦР фрагментов

был выявлен специфический амплификат размером 192 п.н., характерный для штаммов античного биовара. У штамма средневекового биовара, использованного в качестве контрольного образца, в хромосоме обнаружена делеция величиной 36 п.н., о чем свидетельствовал размер амплификата, который составлял 156 п.н. (рис. 1).

MLVA-анализ. Полученные результаты на генетическом уровне подтверждают принадлежность штаммов *Y. pestis* из Забайкальского очага, выделенных до и после смены основного носителя, к античному биовару. Для генотипирования и определения филогенетического родства штаммов возбудителя чумы высокой дискриминирующей способностью обладает MLVA-анализ – метод мультилокусного анализа числа вариабельных тандемных повторов [12, 13].

Для определения генетического родства штаммов, циркулировавших в Забайкальском степном очаге в разные периоды времени, был проведен мультилокусный VNTR-анализ этих штаммов по семи локусам вариабельных тандемных повторов: *ms01*,

ms04, *ms06*, *ms07*, *ms46*, *ms62* и *ms70*. В ПЦР на эти VNTR-локусы использовали праймеры и условия постановки реакции, описанные в литературе [13]. Полученные в ПЦР продукты амплификации секвенировали для выявления количества VNTR-локусов. Анализ результатов секвенирования полученных ампликонов позволил сделать вывод о наличии идентичных MLVA7 генотипов у всех изученных штаммов из Забайкальского очага чумы, независимо от сроков их выделения и источников происхождения. В то же время выявлены существенные отличия полученных данных от MLVA7 генотипов штаммов из других природных очагов чумы, в том числе тех, в которых циркулируют штаммы античного биовара, например, Тувинский горный, Аксайский и Алайский высокогорные очаги.

На основании полученных данных MLVA7 анализа построена дендрограмма (рис. 2), свидетельствующая о том, что забайкальские штаммы составляют единую ветвь на филогенетическом древе эволюции *Y. pestis*.

Таким образом, с помощью традиционных микробиологических и генетических (ПЦР, мультилокусное секвенирование, мультилокусный VNTR-анализ) методов проведено изучение фенотипических и генетических свойств штаммов *Yersinia pestis* из Забайкальского степного очага чумы, выделенных до и после смены носителя и присущих ему переносчиков. Анализ полученных данных свидетельствует о стойкости сохранения комплекса фенотипических и генетических свойств штаммов *Y. pestis*, персистирующих в этом природном очаге. Полученные результаты на генетическом уровне подтверждают принадлежность штаммов *Y. pestis* из Забайкальского очага, выделенных до и после смены основного носителя, к античному биовару. Смена носителя в Забайкальском очаге не привела к изменению основных свойств циркулирующих здесь штаммов возбудителя чумы,

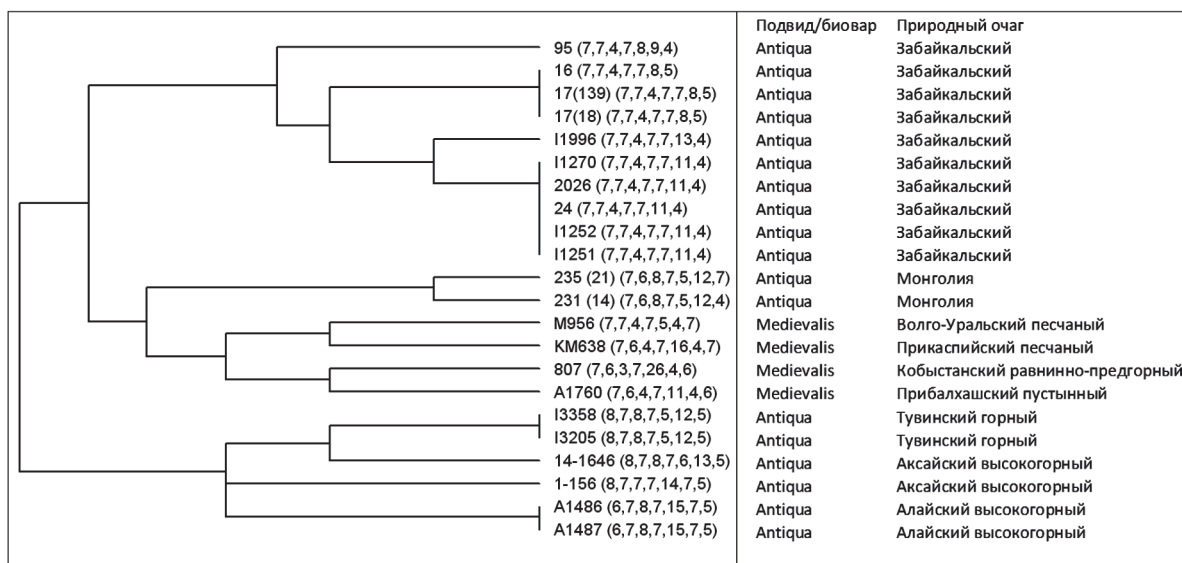


Рис. 2. Филогенетическое родство штаммов *Y. pestis* на основе вариабельности 7 VNTR-локусов: *ms01*, *ms04*, *ms06*, *ms07*, *ms46*, *ms62* и *ms70*

что позволяет сделать вывод об отсутствии тесной взаимосвязи между внутривидовой систематической принадлежностью (античный или средневековый биовары) штаммов *Y. pestis* и типом основного носителя (переносчика) в природном очаге чумы. Полученные данные могут быть использованы при проведении типизации энзоотических по чуме территорий, а также при генотипировании штаммов возбудителя чумы.

Работа выполнена по государственному контракту № 53-Д от 04.06.12 г. в рамках реализации федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2013 годы)».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Даниленко А.Ф., Немченко Л.С. Современное состояние Забайкальского природного очага чумы на этапе оздоровления. В кн.: Актуальные проблемы профилактики особо опасных и природно-очаговых инфекционных болезней. Иркутск; 1994. С. 39–40.
2. Ерошенко Г.А., Одинок Г.Н., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Кутырев В.В. Структурный анализ генов, участвующих в ферментации мелибиозы и продукции изоцитрат-лиазы, у штаммов *Yersinia pestis* основного и неосновных подвидов. Генетика. 2011; 47(10):328–34.
3. Ерошенко Г.А., Одинок Г.Н., Куклева Л.М., Павлова А.И., Краснов Я.М., Шавина Н.Ю., Гусева Н.П., Виноградова Н.А., Кутырев В.В. Стандартный алгоритм молекулярного типирования штаммов *Yersinia pestis*. Журн. эпидемиол., микробиол. и иммунобиол. 2012; 3:25–35.
4. Куклева Л.М., Ерошенко Г.А., Куклев В.Е., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Одинок Г.Н., Кутырев В.В. Сравнение полной нуклеотидной последовательности гена *rhaS* у штаммов возбудителя чумы основного и неосновных подвидов. Пробл. особо опасных инф. 2008; 3(97):38–42.
5. Одинок Г.Н., Ерошенко Г.А., Видяева Н.А., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Кутырев В.В. Структурно-функциональный анализ генов *nap* оперона у штаммов *Yersinia pestis* разных подвидов. Пробл. особо опасных инф. 2008; 4(98):40–2.
6. Одинок Г.Н., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Павлова А.И., Кутырев В.В. Генетические основы метионинзависимости штаммов *Yersinia pestis* основного и неосновных подвидов. Генетика. 2011; 47(3):332–8.
7. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: Медицина; 2009. 472 с.
8. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 192 с.
9. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности. МУ 1.3.2569-09. М.; 2009. 42 с.
10. Павлова А.И., Ерошенко Г.А., Одинок Г.Н., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Краснов Я.М., Кутырев В.В. Анализ генетической изменчивости штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара из природных очагов чумы Российской Федерации и Монголии. Пробл. особо опасных инф. 2012; (114):49–53.
11. Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Матросов А.Н., Немченко Л.С., Вержуцкий Д.Б., Малецкая О.В., Удовиков А.И., Кузнецов А.А., Князева Т.В., Шилов Л.Д., Горшенко В.В., Попов В.П., Топорков В.П., Топорков А.В., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2010 г. и прогноз на 2011 г. Пробл. особо опасных инф. 2011; 1(107):31–7.
12. Сучков И.Ю., Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Шилищину М.В., Мишанкин Б.Н. Мультилокусный VNTR-анализ в изучении популяционной структуры *Yersinia pestis* в природных очагах. Мол. генет. микробиол. и вирусол. 2004; 4:19–28.
13. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramisse F., Vergnaud G. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. BMC Microbiol. 2001; 1:2.
14. Motin V., Georgescu A., Elliott J., Hu P., Worsham P., Ott L., Slezak T., Sokhansanj B., Regala W., Brubaker R., Garcia E. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR-based IS100 genotyping and analysis of structural genes encoding glycerol-3-phosphate dehydrogenase (*glpD*). J. Bacteriol. 2002; 184(4):1019–27.

References

1. Danilenko A.F., Nemchenko L.S. [Current state of the Trans-Baikal natural plague focus at the stage of sanitation enhancement]. In: [Topical Issues of Prophylaxis of Particularly Dangerous and Natural-Focal Infectious Diseases]. Irkutsk; 1994. P. 39–40.
2. Eroshenko G.A., Odinokov G.N., Kukleva L.M., Shavina N.Yu., Kutyrev V.V. [Structural analysis of the genes participating in the process of melibiose fermentation and isocitrate lyase production in *Yersinia pestis* strains of the main and non-main subspecies]. Genetika. 2011; 47(10):328–34.
3. Eroshenko G.A., Odinokov G.N., Kukleva L.M., Pavlova A.I., Krasnov Ya.M., Shavina N.Yu., Guseva N.P., Vinogradova N.A., Kutyrev V.V. [Standardized algorithm of molecular typing of *Yersinia pestis* strains]. Zh. Epidemiol. Mikrobiol. Immunobiol. 2012; 3:25–35.
4. Koukleva L.M., Eroshenko G.A., Kouklev V.E., Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Odinokov G.N., Kutyrev V.V. [Comparison of complete nucleotide sequence of *rhaS* gene in the strains of plague etiological agent of main and minor subspecies]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2008; (97):38–42.
5. Odinokov G.N., Eroshenko G.A., Vidyayeva N.A., Krasnov Ja.M., Gouseva N.P., Kutyrev V.V. [Structural and functional analysis of *nap* operon genes in *Yersinia pestis* strains of different subspecies]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2008; (98):40–2.
6. Odinokov G.N., Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Koukleva L.M., Shavina N.Yu., Pavlova A.I., Kutyrev V.V. [Genetic background of methionine dependency in *Yersinia pestis* strains of the main and non-main subspecies]. Genetika. 2011; 47(3):332–8.
7. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infections. Practice Guidelines]. M.: Meditsina; 2009. 472 p.
8. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors [Natural Plague Foci in the Territory of the Caucasus, Caspian sea Region, Central Asia, and Siberia]. M.: Meditsina; 2004. 192 p.
9. [Activity management of the laboratories that employ methods of nucleic acid amplification for work with materials containing microorganisms of the I–IV groups of pathogenicity]. MR 1.3.2569-09. M.; 2009. 42 p.
10. Pavlova A.I., Eroshenko G.A., Odinokov G.N., Koukleva L.M., Shavina N.Yu., Krasnov Ya.M., Kutyrev V.V. [Analysis of genetic variability of *Yersinia pestis* strains (Medieval biovar) isolated in natural plague foci of the Russian Federation and Mongolia]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2012; (114):49–53.
11. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Matrosov A.N., Nemchenko L.S., Verzhutsky D.B., Maletskaya O.V., Udovikov A.I., Kuznetsov A.A., Knyazeva T.V., Shilova L.D., Gorshenko V.V., Popov V.P., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Kutyrev V.V. [Epizootic activity of plague natural foci in the Russian Federation in 2010 and prognosis for 2011]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2011; (107):31–7.
12. Suchkov I.Yu., Vodop'yanov A.S., Vodop'yanov S.O., Shishiyanu M.V., Mishan'kin B.N. [Multi-locus VNTR-analysis for investigations of *Yersinia pestis* population structure in natural foci]. Mol. Genet. Mikrobiol. Virusol. 2004; 4:19–28.
13. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramisse F., Vergnaud G. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. BMC Microbiol. 2001; 1:2.
14. Motin V., Georgescu A., Elliott J., Hu P., Worsham P., Ott L., Slezak T., Sokhansanj B., Regala W., Brubaker R., Garcia E. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR-based IS100 genotyping and analysis of structural genes encoding glycerol-3-phosphate dehydrogenase (*glpD*). J. Bacteriol. 2002; 184(4):1019–27.

Authors:

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

Об авторах:

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

Поступила 10.06.13.

Г.Н.Одинокоев, Г.А.Ерошенко, Я.М.Краснов, Л.М.Куклева, А.В.Черкасов, Н.Ю.Шавина, В.В.Кутирев

АНАЛИЗ ПОЛНОГЕНОМНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS* НА ОСНОВЕ СТУПЕНЧАТОГО 680-SNP АЛГОРИТМА

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

Создана оптимизированная схема SNP анализа полногеномных последовательностей штаммов возбудителя чумы, основанная на ступенчатом алгоритме кластеризации отдельных внутривидовых групп *Y. pestis*. В схему включены 680 единичных полиморфных нуклеотидов (SNPs), использование которых позволяет не только кластеризовать близкородственные штаммы, но и отражать филогенетические связи между группами штаммов, а также определять порядок их дивергенции от общего ствола эволюции возбудителя чумы.

На основе ступенчатого 680-SNP алгоритма проведен анализ полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* C-627 из Центрально-Кавказского высокогорного очага (Россия), штамма 1454 из Алтайского горного очага (Россия), штамма 231 (708) из Аксайского высокогорного очага (Киргизия) и вакцинного штамма EV НИИЭГ, используемого для вакцинации людей от чумы в Российской Федерации и ряде других стран. Определены геномные варианты этих штаммов: 1.ORI3 (EV НИИЭГ), 2.MED0 (C-627), 0.ANT3 (231(708)), 0.ANT4 (1454) и их положение в схеме мирового разнообразия *Y. pestis*. Доказано отсутствие в полногеномной последовательности вакцинного штамма EV НИИЭГ хромосомной области пигментации, что подтверждает безопасность его использования для специфической профилактики чумы.

Ключевые слова: возбудитель чумы, полногеномное секвенирование, SNP, очаги чумы России и сопредельных стран.

G.N.Odinokov, G.A.Eroshenko, Ya.M.Krasnov, L.M.Kukleva, A.V.Cherkasov, N.Yu.Shavina, V.V.Kutyrev

Analysis of the Genome Wide Sequence of *Yersinia pestis* strains Based on the Consecutive 680-SNP Algorithm

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

Designed is an optimized scheme for SNP analysis of the genome wide sequences of plague agent strains, based on the consecutive algorithm of clusterization of individual intraspecific *Y. pestis* groups. The scheme comprises 680 singular polymorphic nucleotides (SNPs), the usage of which provides not only for the clustering of closely related strains, but for the determination of phylogenetic bonds between groups of strains and order of their divergence from the common tree-trunk of the plague agent evolution.

Based on the consecutive 680-SNP algorithm, carried out is the analysis of genome wide sequences of C-627 *Y. pestis* strain isolated in Central-Caucasian high-mountain focus (Russia), strain 1454 isolated in Altay mountain focus (Russia), strain 231 (708) – Aksay high mountain focus (Kirgizia), and vaccine EV NIEG (Research Institute of Epidemiology and Hygiene) strain, applied for immunization in the Russian Federation and in a number of other countries. Identified are the genome variants of the strains: 1. ORI3 (EV NIEG), 2. MED0 (C-627), 0.ANT3 (231(708)), 0.ANT4 (1454), and their place in the scheme of *Y. pestis* global variation. Evidenced is the absence of the chromosomal region responsible for pigmentation in the genome wide sequence of the vaccine strain EV NIEG, which testifies to its safe use for specific plague prophylaxis.

Key words: plague agent, genome wide sequencing, SNP, plague foci in the territory of Russia and bordering countries.

Штаммы *Yersinia pestis* в соответствии с отечественной классификацией, принятой в 1985 г., объединяют в пять подвидов (subspecies – ssp.): основной (ssp. *pestis*), кавказский (ssp. *caucasica*), алтайский (ssp. *altaica*), гиссарский (ssp. *hissarica*) и улегейский (ssp. *ulegeica*) [5]. Согласно распространенной зарубежной классификации, предложенной R.Devignat в 1951 г., штаммы *Y. pestis* ssp. *pestis* на основании различий по ряду биохимических признаков (редукции нитратов, утилизации глицерина) и по историко-географическому принципу разделяют на три классических биовара (biovar – bv.) – античный (bv. *antiqua*), средневековый (bv. *medievalis*) и восточный (bv. *orientalis*). Кроме того, зарубежные исследователи предлагают выделить в отдельные подвиды – ssp. *qinghaiensis*, ssp. *xilingolensis* и биовары – bv. *microtus*, bv. *intermedium* – штаммы из очагов Центральной и Восточной Азии, в подвид Ангола (ssp. *angola*) –

полевочьи штаммы с территории Африки, а некоторые отечественные исследователи предлагают выделить в таласский подвид (ssp. *talassica*) штаммы из одноименного очага в Киргизии [9, 10, 12].

На основе анализа полногеномных последовательностей по локусам единичных полиморфных нуклеотидов (SNP) G.Morelli *et al.* в 2010 г. составили схему глобального генетического разнообразия штаммов *Y. pestis*, изолированных на территориях различных континентов [11]. На этой схеме определено положение не только подвидов и биоваров, но и различных геномных вариантов внутри биоваров *Y. pestis*. Так, штаммы античного биовара включают три эволюционные линии: древнюю 0.ANT из Китая, африканскую 1.ANT и азиатскую 2.ANT. При этом африканская античная линия 1.ANT эволюционно связана с линией 1.ORI восточного биовара и штаммами *intermedium* 1.IN, а азиатская антич-

ная линия – со средневековым биоваром 2.MED. Штаммы восточного биовара линии 1.ORI включают 3 ветви: 1.ORI1 (Северная и Южная Америки), 1.ORI2 (Китай) и 1.ORI3 (о. Мадагаскар, Турция). К линии 2.MED средневекового биовара, состоящей из 2.MED1, 2.MED2 и 2.MED3, отнесены штаммы, циркулирующие на территории Восточной и Юго-Западной Азии. Штаммы *intermedium* (Китай) линии 1.IN также включают 3 эволюционные ветви 1.IN1, 1.IN2 и 1.IN3, которые распространены в некоторых регионах Азиатского континента.

Таким образом, в настоящее время исследовано генетическое разнообразие штаммов *Y. pestis* из различных регионов мира – Азии, Европы, Африки, Северной и Южной Америки. Однако в этой филогенетической схеме не представлены полученные на основе полногеномного SNP анализа геномные варианты штаммов из природных очагов России и большинства стран ближнего зарубежья. Не определено филогенетическое родство этих штаммов со штаммами *Y. pestis* из других регионов мира, что в целом делает неполной схему мирового генетического разнообразия возбудителя чумы. Внедрение в РосНИПЧИ «Микроб» в практику научных исследований технологии полногеномного секвенирования и наличие обширной коллекции штаммов *Y. pestis* из очагов Российской Федерации и сопредельных стран делает решение этой проблемы задачей сегодняшнего дня.

В этой статье нами представлен оптимизированный алгоритм полногеномного анализа штаммов *Y. pestis* по 680 единичным полиморфным нуклеотидам (680-SNP), который обеспечивает определение принадлежности исследуемого штамма к одной из филогенетических линий возбудителя чумы. С помощью разработанного алгоритма определены геномные варианты и установлено филогенетическое положение штаммов *Y. pestis* C-627 из Центрально-Кавказского высокогорного очага (Россия), штамма 1454 из Алтайского горного очага (Россия), штамма 231 (708) из Аксайского высокогорного очага (Киргизия) и вакцинного штамма EV НИИЭГ, используемого для вакцинации людей от чумы в Российской Федерации и ряде других стран.

Материалы и методы

Для полногеномного секвенирования использованы штаммы *Y. pestis* из Государственной коллекции патогенных бактерий при РосНИПЧИ «Микроб», где они хранились в лиофильно высушенном состоянии. Выделение ДНК штаммов *Y. pestis* проводили по стандартной методике в соответствии с МУ 1.3.2569-09 «Организация работ лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». Секвенирование геномов штаммов осуществляли на генетическом анализаторе модели Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM™). Сборку контигов (фрагментов геномной

последовательности) и определение их взаимного расположения проводили в Newbler Assembler 2.4.1 (454 Life Science). Анализ полногеномных последовательностей осуществляли с помощью алгоритма BLAST (NCBI GenBank). Построение дендрограмм, на основании 680-SNP алгоритма, проводили с применением программного обеспечения Bionumerics v.7.0 (Applied Math NV, Бельгия).

Результаты и обсуждение

С помощью алгоритма BLAST нами проведен полногеномный анализ полиморфных единичных нуклеотидов (SNP) у 22 штаммов *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, последовательности геномов которых представлены в международных базах данных NCBI GenBank, EMBL и PATRIC (табл. 1). Всего выявлено более 2500 SNPs, часть из которых была описана нами ранее [2, 3, 4, 6, 7], часть – представлена G. Morelli и соавт. [11], а часть впервые обнаружена в рамках этой работы. Для оптимизации алгоритма и упрощения схемы проведения анализа из них было отобрано 680 SNPs, комплексное использование которых позволяет не только кластеризовать близкородственные штаммы (за счет уникальных для внутривидовых групп SNPs), но и отражать филогенетические связи между группами и порядок дивергенции штаммов по наличию SNPs, общих для эволюционно близких групп.

Примеры отбора некоторых из 680 SNPs приведены в табл. 2. Так, локусы *YPO3038* (в позиции 3392521), *YPO0059* (71105), *YPO0019* (27020) и *YPO0059* (70649) обеспечивают кластеризацию штаммов кавказского подвида (0.CA), Ангола (0.ANG) и *microtus* (0.MIC). Локус *YPO0332* (341720) маркирует штаммы основного подвида возбудителя чумы, а дальнейшее их разделение по линиям 0.ANT, 1.ANT, 1.IN, 1.ORI (1-3), 2.ANT и 2.MED проводят по вариабельным нуклеотидам участков генов: *YPO0993* (1102174), *YPO0002* (1166), *YPO1285* (1443460), *YPO0711* (773110), *YPO0063* (74539), *YPO0032* (42303), *YPO0880* (965291), *YPO0282* (282762), *YPO0549* (593308) и *YPO3038* (3392953). Аналогично отбирались остальные из 680 SNPs.

Из 680 выбранных SNPs 574 имели внутригенную локализацию, из них 419 SNPs представляли несинонимичные и 142 синонимичные замены, а 13 – нонсенс-мутации. 106 SNPs имели межгенную локализацию, при этом 70 % (476) проходили по типу транзаций, а 30 % (204) – трансверсий. В отобранные 680 полиморфных нуклеотидов были включены 90 выявленных нами ранее вариабельных SNP участков, локализованных в генах жизнеобеспечения – ферментации сахаров и глицерина, редукции нитратов, в генах биосинтеза аминокислот, витаминов и флагеллярных белков, а также в генах, ассоциируемых с проявлением вирулентных свойств возбудителем чумы [2, 3, 4, 6, 7].

Предлагаемый нами метод 680-SNP филогенетического анализа предусматривает ступенчатый

Таблица 1

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

Штамм	Подвид, ssp.	Биовар, группа	Место выделения
<i>Yersinia pestis</i>			
CO92	<i>pestis</i>	orientalis	США
A1122	«	«	«
CA88-4125	«	«	«
F1991016	«	«	Китай
IP674	«	«	Турция
MG05-1020	«	«	о. Мадагаскар
IP275	«	«	«
EV НИИЭГ	«	«	«
KIM10	«	medievalis	Курдистан
K1973002	«	«	Китай
C-627	«	«	Центрально-Кавказский высокогорный очаг (№ 01)
B42003004	«	antiqua	Китай
231(708)	«	«	Аксайский высокогорный очаг (№ 33)
1454	«	«	Алтайский горный очаг (№ 36)
Nepal516	«	«	Непал
Harbin35	«	«	Китай
Antiqua	«	«	Конго
UG05-0454	«	«	Уганда
D106004	«	группа intermedium	Китай
Z176003	«	«	«
D182038	«	«	«
E1979001	«	«	«
91001	неосновной	группа microtus	«
Angola	неосновной	—	Ангола
Pestoides F	<i>caucasica</i>	—	Закавказье
<i>Y. pseudotuberculosis</i>			
IP32953	—	—	—

алгоритм кластеризации штаммов отдельных внутривидовых групп *Y. pestis* (рис. 1). За исходные нуклеотидные последовательности каждого из 680 SNPs принимают соответствующие аллели генома *Y. pseudotuberculosis* IP32953 серотипа O:1b. В число 680 полиморфных нуклеотидов включены SNPs,

позволяющие дифференцировать каждую филогенетическую ветвь, а также SNPs, объединяющие близкородственные группы (рис. 1). В том числе 10 SNPs разделяют штаммы чумного и псевдотуберкулезного микробов, а 99 SNPs отделяют штаммы *Y. pestis* основного подвида от штаммов неосновных подвигов. Штаммы *Y. pestis* ssp. *caucasica* (обозначенные нами как линия 0.CA), отличаются в предложенной схеме по 80 маркерным SNPs, отсутствующим у штаммов из других филогенетических линий. Штамм неосновного подвида из Африки – Angola (обозначенный нами как линия 0.ANG) маркирован 59 SNPs, а штаммы *microtus* (линия 0.MIC) – 53 SNPs.

Кроме того, в схему включены SNPs, объединяющие филогенетически близкие группы и отражающие порядок их дивергенции от общего ствола эволюции (рис. 1). Так, для штамма *Y. pseudotuberculosis* IP32953 и ветви 0.CA (ssp. *caucasica*) показано наличие 14 общих SNPs, из которых 5 также встречались у линии 0.ANG (штамм Angola). Для линий 2.ANT (bv. *antiqua*) и 2.MED (bv. *medievalis*) отобрано 23 общих SNPs. Штаммы 1.ANT (bv. *antiqua*), 1.IN (ssp. *pestis* intermedium) и 1.ORI (bv. *orientalis*) объединены 15 общими SNPs. Штаммы линии 1.IN (ssp. *pestis* intermedium) и 1.ORI (bv. *orientalis*) имеют 19 общих SNPs.

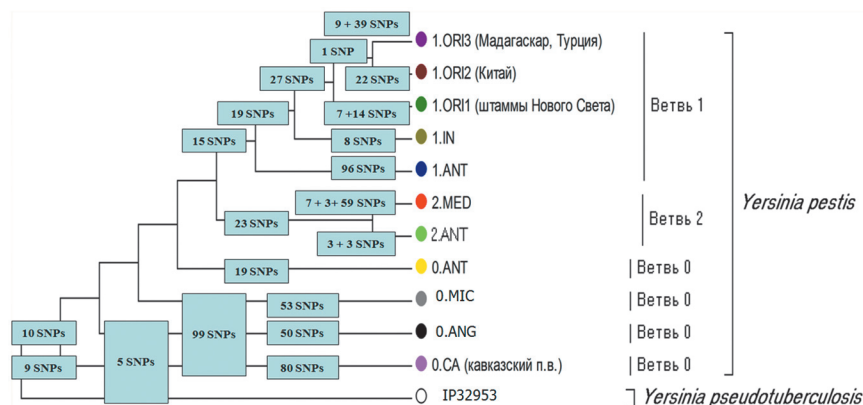
В схеме 680-SNP филогенетического анализа древняя античная ветвь штаммов *Y. pestis* основного подвида 0.ANT маркирована нами 19 уникальными SNPs, а две другие линии античного биовара – афри-

Таблица 2

Примеры использования некоторых из 680 SNPs, включенных в схему полногеномного анализа штаммов *Y. pestis*

Локус	SNP, позиция в геноме относительно штамма CO92*	Маркируемая линия / ветвь
<i>YPO3038 (napA)</i>	A/G (3392521)	0.CA, 0.ANG, 0.MIC
<i>YPO0059</i>	C/A (71105)	0.MIC
<i>YPO0019</i>	C/T (27020)	0.ANG
<i>YPO0059</i>	C/T (70649)	0.CA
<i>YPO0332 (rhaS)</i>	G/A (341720)	ssp. <i>pestis</i>
<i>YPO0993</i>	A/G (1102174)	0.ANT
<i>YPO0002</i>	G/A (1166)	1.ANT
<i>YPO1285</i>	C/T (1443460)	1.IN
<i>YPO0711</i>	G/A (773110)	1.ORI
<i>YPO0063</i>	A/G (74539)	1.ORI1
<i>YPO0032</i>	C/T (42303)	1.ORI2
<i>YPO0880</i>	G/A (965291)	1.ORI3
<i>YPO0282</i>	C/T (282762)	2.ANT, 2.MED
<i>YPO0549</i>	G/T (593308)	2.ANT
<i>YPO3038 (napA)</i>	G/T (3392953)	2.MED
<i>YPO0169</i>	T/C (189227)	1.ANT, 1.IN, 1.ORI
<i>YPO2148</i>	A/C (2416786)	<i>Yersinia pestis</i>

* Подчеркнут нуклеотид, присутствующий в аллельном варианте локуса соответствующей эволюционной линии возбудителя чумы.

Рис. 1. Схема ступенчатого алгоритма 680-SNP типирования штаммов *Y. pestis*:

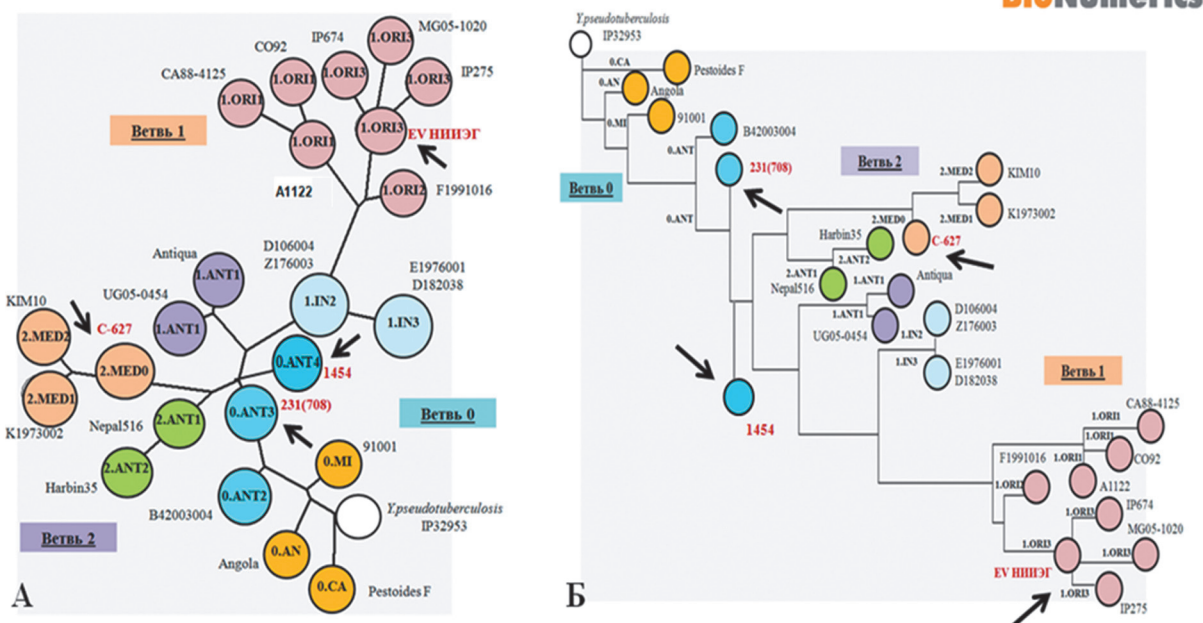
0.CA – ssp. *Caucasica*; 0.ANG – штамм Angola; 0.MIC – штаммы *microtus*; 0.ANT, 1.ANT, 2.ANT – bv. *Antiqua*; 2.MED – bv. *medievalis*; 1.IN – штаммы *intermedium*; 1.ORI1, 2, 3 – bv. *orientalis*

канская и азиатская (1.ANT и 2.ANT) маркированы 96 и 29 SNPs соответственно. Для отделения штаммов средневекового биовара (линия 2.MED) выбрано 69 уникальных SNPs, штаммов *intermedium* (линия 1.IN) – 8 SNPs, а штаммов восточного биовара (линия 1.ORI) – 27 уникальных SNPs. Все штаммы линии 1.ORI подразделяются на изоляты Нового Света 1.ORI1 (по 21 SNPs), азиатскую ветвь 1.ORI2 (по 22 SNPs) и штаммы 1.ORI3 с территории Мадагаскара и Турции (по 48 SNPs).

На следующем этапе исследования предложенный нами ступенчатый алгоритм 680-SNP типирования был использован для анализа полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* EV НИИЭГ, C-627, 231(708) и 1454, секвенирование которых было проведено в ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Как и следовало ожидать, в геноме этих штаммов присутствуют 10 SNPs, характерные для всех штаммов *Y. pestis*, но не для псевдотуберкулезного микроба, и отсутствуют вариабельные единичные нуклеотиды,

типичные для штаммов всех неосновных подвидов, что подтверждает их принадлежность к основному подвиду (subsp. *pestis*).

В геноме вакцинного штамма EV НИИЭГ обнаружено 27 SNPs, которые в соответствии с 680-SNP алгоритмом маркируют филогенетическую линию 1.ORI (subsp. *pestis* bv. *orientalis*) и, следовательно, относят его к этой линии. Наличие других 48 SNPs определяет принадлежность штамма EV НИИЭГ к ветви 1.ORI3 (штаммы с территории о. Мадагаскар). В то же время в геноме вакцинного штамма EV НИИЭГ отсутствуют 7 SNPs, являющиеся генетическими метками штаммов восточного биовара Нового Света (ветвь 1.ORI1) и 22 SNPs, характерные для штаммов азиатской ветви этого биовара (1.ORI2). Кроме того, для штамма EV НИИЭГ обнаружены 29 уникальных SNP локусов, отличающих его от других штаммов геномного варианта 1.ORI3 (с территории о. Мадагаскар), которые в совокупности с SNP, ниже-

Рис. 2. Филогенетические деревья штаммов *Y. pestis*, построенные на основе полногеномного 680-SNP анализа с использованием программы BioNumerics v7.0 (Applied Math NV, Бельгия) и методов:

А – Maximum parsimony, Б – Neighbour-Joining. Линии: 0.CA – ssp. *caucasica*; 0.ANG – штамм Angola; 0.MIC – штаммы *microtus*; 0.ANT2, 3, 1.ANT1, 2.ANT1, 2 – bv. *antiqua*; 2.MED0, 1, 2 – bv. *medievalis*; 1.IN2, 3 – штаммы *intermedium*; 1.ORI1, 2, 3 – bv. *orientalis*. Положение штаммов EV НИИЭГ, C-627 и 231(708), 1454 отмечено стрелками

как его характерные генетические маркеры.

Наиболее важным результатом полногеномного секвенирования вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ является получение окончательного доказательства отсутствия в его геноме всей хромосомной области пигментации – *pgm* области, включающей остров высокой патогенности НР1 с генами сидерофорзависимой системы потребления железа. Наличие *pgm* области в хромосоме обязательно для проявления вирулентности штаммами *Y. pestis*. Ввиду наличия такой протяженной делеции размером около 102 т.п.н. реверсия вакцинного штамма EV НИИЭГ к вирулентности невозможна, что еще раз подтверждает безопасность его использования, которая на практике подтверждена многолетним опытом применения вакцины для профилактики чумы у людей.

В Российской Федерации существует 11 природных очагов чумы, большинство из которых занимают очаги сусликового и песчаночного типов, в которых циркулируют штаммы *Y. pestis* средневекового биовара [8]. Поэтому особый интерес представлял анализ полногеномной последовательности штамма С-627 из Центрально-Кавказского высокогорного очага (№01), относящегося к средневековому биовару. Кроме того, штамм С-627 интересен тем, что он выделен в Кубано-Малкинском районе Центрально-Кавказского высокогорного очага, где циркулируют изоляты с уникальными особенностями, не встречающимися у других представителей *Y. pestis*. Они ауксотрофны по аминокислоте пролину и содержат дополнительную плазмиду размером около 3 мДа с неизвестными функциями. Такие пролинзависимые штаммы, как С-627, в схеме мирового генетического разнообразия возбудителя чумы не представлены и было интересно определить их локализацию на филогенетическом древе *Y. pestis*.

Как показал проведенный нами 680-SNP анализ полногеномной последовательности штамма С-627, в его геноме присутствуют 23 SNPs, определяющие его принадлежность к филогенетической линии 2.ANT (bv. antiqua)/2.MED (bv. medievalis), и 7 SNPs, относящих этот штамм к линии 2.MED. Также выявлено 54 SNPs, отделяющие штамм С-627 от других изолятов средневекового биовара ветви 2.MED, 3 из которых были общими со штаммами азиатской линии античного биовара 2.ANT. Уникальный набор мутаций, сочетающий SNPs, характерные для средневекового (2.MED) и античного (2.ANT) биоваров, а также наличие 54 SNPs, не встречающихся у штаммов 2.MED, позволяет нам выделить штамм С-627 в отдельную древнюю ветвь 2.MED0, которая расположена в основании этой ветви и ранее не была представлена на схеме мирового разнообразия *Y. pestis*.

По аналогичному алгоритму проведен анализ античного штамма 231(708) из Аксайского высокогорного очага чумы (№ 33) в Киргизии (группа Тянь-Шаньских высокогорных очагов). Штамм 231(708) широко используется в практике лабораторных исследований в качестве высоковирулентного штамма *Y. pestis*. Следует отметить, что в схеме мировой

эволюции штаммов возбудителя чумы отсутствуют штаммы из Тянь-Шаньской высокогорной группы очагов, и их эволюционное положение в системе глобального разнообразия возбудителя чумы не установлено. При анализе полногеномной последовательности штамма 231(708) на основе 680-SNP алгоритма нами выявлено наличие у него 10 SNPs, маркерных для филогенетической линии 0, включающей все неосновные подвиды и древнюю группу штаммов античного биовара, а также 99 SNP локусов, характерных для основного подвида возбудителя чумы. В то же время в геноме штамма 231(708) отсутствовали SNPs, характерные для двух других линий античного биовара – азиатской 1.ANT (96 SNPs) и африканской 2.ANT (29 SNPs) и эволюционно связанных с ними восточным 1.ORI (27 SNPs) и средневековым 2.MED (69 SNPs) биоварами. Все это указывает на эволюционную древность штамма 231(708) из Аксайского высокогорного очага, и устанавливает его принадлежность к ветви античного биовара 0.ANT. Штамм 231(708) отнесен нами к ветви 0.ANT3 по 19 уникальным SNP-локусам, отсутствующим у другой древней ветви штаммов античного биовара 0.ANT2, выделенных в Китае. В дальнейшем представляет значительный интерес исследование полногеномной последовательности на основе 680-SNP алгоритма штаммов из других высокогорных очагов Тянь-Шаня для выявления генетического разнообразия *Y. pestis* в этом участке Центрально-Азиатской зоны очаговости чумы.

В 2012 г. в Алтайском горном очаге (№ 36) был впервые изолирован штамм основного подвида *Y. pestis* 1454, в то время как ранее на этой территории выделялись только штаммы алтайского подвида. По комплексу фенотипических и генетических признаков штамм 1454 был отнесен к тувинскому варианту основного подвида, который циркулирует в Тувинском горном очаге чумы [1]. Штаммы тувинского варианта содержат дополнительную плазмиду 22 мДа. Поскольку такие штаммы не представлены в мировой схеме эволюции возбудителя чумы, нами был проведен анализ его полногеномной последовательности на основе 680-SNP алгоритма. В геноме штамма 1454 выявлено 10 SNPs, характерных для эволюционной линии 0, включающей 0.ANT, 0.CA, 0.ANG, 0.MIC и 99 SNPs, маркерных для основного подвида возбудителя чумы. Штамм 1454 отнесен нами к 0.ANT, поскольку в его геноме не обнаружены SNPs, характерные для других линий античного биовара – азиатской 1.ANT (96 SNPs) и африканской 2.ANT (29 SNPs). Он выделен нами в новую ветвь 0.ANT4, поскольку у него отсутствуют маркерные SNPs ветвей 0.ANT2 (штамм B42003004) и 0.ANT3 (штамм 231(708)). В геноме штамма 1454 обнаружено 30 уникальных SNPs (22 внутригенной и 8 межгенной локализации), которые не встречаются ни у одной из ветвей *Y. pestis*, и, вероятно, являются характерными генетическими метками тувинского варианта.

Мы провели филогенетический анализ *Y. pestis* EV НИИЭГ, С-627, 231(708), 1454 и других штам-

мов, использованных в этой работе (табл. 1), на основе 680 SNPs, и построение дендрограмм с применением программного обеспечения Bionumerics v.7.0 (Applied Math NV, Бельгия) (рис. 2). Из этих дендрограмм следует, что три исследованных нами штамма *Y. pestis* C-627 средневекового биовара из Центрально-Кавказского высокогорного очага, 231(708) из Аксайского высокогорного очага и 1454 из Алтайского горного очага относятся к древним линиям эволюции возбудителя чумы. При этом две из них 2.MED0 и 0.ANT4, представленные штаммами C-627 и 1454, ранее не были включены в схему мирового генетического разнообразия. Дальнейший полногеномный 680-SNP анализ штаммов *Y. pestis* из природных очагов России и стран ближнего зарубежья, безусловно, расширит схему мирового генетического разнообразия возбудителя чумы.

Таким образом, нами разработан оптимизированный алгоритм полногеномного 680-SNP анализа, использование которого позволяет провести молекулярную идентификацию исследуемого штамма *Y. pestis* и определить его принадлежность к одной из филогенетических линий возбудителя чумы. С его помощью получены молекулярные портреты штаммов *Y. pestis* из двух природных очагов России и одного очага в Киргизии, а также вакцинного штамма EV НИИЭГ. Определены их геномные варианты: 1.ORI3 (для штамма EV НИИЭГ), 2.MED0 (C-627), 0.ANT3 (231/708/), 0.ANT4 (1454), и положение в схеме мирового разнообразия *Y. pestis*. В перспективе будут определены геномные варианты штаммов *Y. pestis* из всех очагов России и ближнего зарубежья.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балахонов С.В., Афанасьев М.В., Шестопалов М.Ю., Остях А.С., Витязева С.А., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Изженко Н.И., Рождественский Е.Н., Висков Е.Н., Фомина Л.А. Первый случай выделения *Yersinia pestis* subsp. *pestis* в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение I. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолята. Пробл. особо опасных инф. 2013; 1:60–5.
2. Ерошенко Г.А., Одинок Г.Н., Куклева Л.М., Кутырев В.В. Генетический анализ биохимических различий штаммов *Yersinia pestis*. Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол. 2012; 3:90–5.
3. Ерошенко Г.А., Одинок Г.Н., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Кутырев В.В. Вариативные локусы генов *parA*, *aspA*, *rhaS*, *zwf* и *icaB* как эффективные ДНК-мишени для генотипирования штаммов *Yersinia pestis*. Пробл. особо опасных инф. 2010; 2(104):57–9.
4. Куклева Л.М., Ерошенко Г.А., Куклев В.Е., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Одинок Г.Н., Кутырев В.В. Сравнение полной нуклеотидной последовательности гена *rhaS* у штаммов возбудителя чумы основного и неосновных подвидов. Пробл. особо опасных инф. 2008; 3(97):38–42.
5. Кутырев В.В., Проценко О.А. Классификация и молекулярно-генетические исследования *Yersinia pestis*. Пробл. особо опасных инф. 1998; (78):11–2.
6. Одинок Г.Н., Ерошенко Г.А., Видяева Н.А., Краснов Я.М., Гусева Н.П., Кутырев В.В. Структурно-функциональный анализ генов *par* оперона у *Yersinia pestis* разных подвидов. Пробл. особо опасных инф. 2008; 4(98):40–2.
7. Одинок Г.Н., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Краснов Я.М., Кутырев В.В. Определение генетических основ аутоотрофности штаммов *Yersinia pestis* кавказского подвида. Генетика. 2012; 48(4):376–82.
8. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 192 с.
9. Eppinger M., Worsham P.L., Nikolich M.P., Riley D.R., Sebastian Y., Mou S., Achtman M., Lindler L.E., Ravel J. Genome sequence of the deep-rooted *Yersinia pestis* strain Angola reveals new insights into the evolution and pangenome of the plague bacterium. J. Bacteriol. 2010; 192(6):1685–99.
10. Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. PLoS ONE. 2009; 4(6):e6000.
11. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. Phylogenetic diversity and historical patterns of pandemic spread of *Yersinia pestis*. Nat Genet. 2010; 42(12):1140–3.
12. Zhou D., Tong Z., Song Y., Han Y., Pei D., Pang X., Zhai J., Li M., Cui B., Qi Z., Jin L., Dai R., Du Z., Wang J., Guo Z., Wang J., Huang P., Yang R. Genetics of metabolic variations between *Yersinia pestis* biovars and proposal of a new biovar, microtus. J. Bacteriol. 2004; 186:5147–62.

References

1. Balakhonov S.V., Afanas'ev M.V., Shestopalov M.Yu., Ostyak A.S., Vityazeva S.A., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Izhenko N.I., Rozhdestvensky E.N., Viskov E.N., Fomina L.A. [The first case of *Yersinia pestis* subsp. *pestis* isolation in the territory of Altai mountain natural plague focus. Communication 1. Microbiological characteristics, molecular-genetic and mass-spectrometric identification of the isolate]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2013; 1:60–5.
2. Eroshenko G.A., Odiokov G.N., Kuleva L.M., Kutyrev V.V. [Genetic analysis of biochemical differences between *Yersinia pestis* strains]. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 2012; 3:90–5.
3. Eroshenko G.A., Odiokov G.N., Koukleva L.M., Pavlova A.I., Shavina N.Yu., Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Kutyrev V.V. [Variable loci of the *parA*, *rhaS*, *zwf* and *icaB* genes as effective DNA-targets for *Yersinia pestis* strains genotyping]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2010; (104):57–9.
4. Koukleva L.M., Eroshenko G.A., Kouklev V.E., Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Odiokov G.N., Kutyrev V.V. [Comparison of complete nucleotide sequence of *rhaS* gene in the strains of plague etiological agent of main and minor subspecies]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2008; (97):38–42.
5. Kutyrev V.V., Protsenko O.A. [Classification and molecular-genetic studies of *Yersinia pestis*]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 1998; (78):11–2.
6. Odiokov G.N., Eroshenko G.A., Vityazeva N.A., Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Kutyrev V.V. [Structural and functional analysis of *par* operon genes in *Yersinia pestis* strains of different subspecies]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2008; (98):40–2.
7. Odiokov G.N., Eroshenko G.A., Koukleva L.M., Shavina N.Yu., Krasnov Ya.M., Kutyrev V.V. [Determination of genetic bases of auxotrophy in *Yersinia pestis* spp. Caucasic strains]. Genetika. 2012; 48(4):376–82.
8. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors [Natural Plague Foci in the territory of Caucasus, Caspian Sea Region, Central Asia, and Siberia]. M.: Meditsina; 2004. 192 p.
9. Eppinger M., Worsham P.L., Nikolich M.P., Riley D.R., Sebastian Y., Mou S., Achtman M., Lindler L.E., Ravel J. Genome sequence of the deep-rooted *Yersinia pestis* strain Angola reveals new insights into the evolution and pangenome of the plague bacterium. J. Bacteriol. 2010; 192(6):1685–99.
10. Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. PLoS ONE. 2009; 4(6):e6000.
11. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. Phylogenetic diversity and historical patterns of pandemic spread of *Yersinia pestis*. Nat Genet. 2010; 42(12):1140–3.
12. Zhou D., Tong Z., Song Y., Han Y., Pei D., Pang X., Zhai J., Li M., Cui B., Qi Z., Jin L., Dai R., Du Z., Wang J., Guo Z., Wang J., Huang P., Yang R. Genetics of metabolic variations between *Yersinia pestis* biovars and proposal of a new biovar, microtus. J. Bacteriol. 2004; 186:5147–62.

Authors:

Odiokov G.N., Eroshenko G.A., Krasnov Ya.M., Kuleva L.M., Cherkasov A.V., Shavina N.Yu., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Одинок Г.Н., Ерошенко Г.А., Краснов Я.М., Куклева Л.М., Черкасов А.В., Шавина Н.Ю., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 07.06.13.

Vladimir L. Motin

SYSTEMS BIOLOGY OF *YERSINIA PESTIS*

*University of Texas Medical Branch, Departments of Pathology and Microbiology & Immunology,
Galveston, Texas, USA*

Omics technologies developed in recent years significantly changed our approach in study molecular biology of bacterial pathogens. The research now can be conducted at a whole-genome level enabling us to simultaneously measure variable components, such as proteins, nucleic acids, metabolites, cell lipid composition, *etc.* This complex work requires a constant interaction of multi-disciplinary experts to integrate biology, instrumentation and computational science. A multi-omics research (transcriptomics, proteomics, metabolomics) was applied to *Y. pestis*-centric system biology study. Integrated omics datasets allowed to refine genome annotations, discover novel putative virulence factors, build regulatory networks, and create an interactive computational metabolic model.

Key words: *Yersinia*, systems biology, plague, omics research, modeling

В.Л.Мотин

Системная биология *Yersinia pestis*

Медицинский факультет Университета штата Техас, Галвестон, США

Разработанные в последние годы методы -омик (протеомика, геномика, транскриптомика и др.) существенно изменили подход к изучению молекулярной биологии бактериальных патогенов. В настоящее время исследования могут проводиться на уровне полного генома, что дает возможность одновременно оценивать различные компоненты (белки, нуклеиновые кислоты, метаболиты, липиды и т.д.). Эта работа требует постоянного взаимодействия специалистов по многим дисциплинам для интеграции биологии, инструментального анализа и компьютерных наук. Исследования на основе мультиомик были осуществлены при анализе системной биологии *Y. pestis*. Полученные обобщенные наборы данных позволили внести уточнения в аннотации геномов, выявить новые потенциальные факторы вирулентности, построить регуляторные сети и создать интерактивную компьютерную модель метаболизма.

Ключевые слова: *Yersinia*, системная биология, чума, исследования на основе -омик, моделирование

The systems biology strategy employs integrative experimental and computational approaches to analyze data obtained in different “omics” experiments. Ideally, biological samples should be produced for the simultaneous assay by transcriptomic, proteomic, metabolomic and lipidomic methods, eventually resulting in the development of a predictive computational model. As a part of the project named Systems Biology of Enteropathogens funded by the U.S. National Institutes of Health, we applied a system biology approach to study *Yersinia* spp., particularly the *Y. pestis* microbe, the causative agent of plague. The project was limited to studying the microorganism *in vitro*, rather than evaluating a host-pathogen interaction. The samples produced at V.L. Motin’s laboratory at the University of Texas Medical Branch (UTMB) were processed to the transcriptome at the J. Craig Venter Institute (JCVI), and to the proteome, metabolome and lipidome assays at the Pacific Northwest National Laboratory (PNNL). The “omics” data were used by the computational experts at the University of California, San Diego (UCSD) to build predictive models of biological and regulatory networks in *Yersinia*, particularly those related to pathogenicity. In parallel, a similar approach was applied to *Salmonella*, another member of the family *Enterobacteriaceae*, in collaboration with the Oregon Health and Sciences University (OHSU) that allowed us to coordinate both studies of these medically important pathogens. The experimental protocols, rough data and

results obtained in these studies are publicly available at the Center for Systems Biology of Enteropathogens web site: <http://www.sysbep.org/>.

Here I present some findings obtained during the course of the *Yersinia* part of the project. The following *Yersinia* strains were used: fully virulent *Y. pestis* CO92, biovar Orientalis, isolated from the human case of primary pneumonic plague in the U.S. [1]; strain *Y. pestis* Pestoides F with limited virulence, belonging to the subspecies *caucasica*, which likely originated from a Transcaucasian highland plague focus [2, 3]; and pathogenic *Y. pseudotuberculosis* PB1, serovar O1b [4].

Omics for Genome Annotation Refinement

A tremendous growth in the number of completely sequenced genomes resulted in an almost exclusive automated annotation of the generated sequences. Therefore, a correct and complete accounting for the open reading frames (ORFs) of the reference organisms in GenBank should help us to reduce errors of further computational annotations. In this respect a so-called proteogenomic approach based on analysis of the transcriptome and proteome of the organism serves a purpose of correct identification of ORFs. We applied this approach to refine annotation of the two above-mentioned *Y. pestis* strains CO92 and Pestoides F, as well as *Y. pseudotuberculosis* PB1. To perform a transcriptome analysis,

a universal *Yersinia* microarray chip was designed that consisted of 70-mer oligonucleotides corresponding to the putative ORFs of seven different *Yersinia* genomes. Proteome data were obtained by reverse-phase nano-capillary LC-MS/MS analyses. Bacteria were grown in a chemically- defined medium modified by R. Brubaker [5] at 26 and 37 °C, and samples for isolation of RNA and a global protein digest were taken at different time points. Analysis of transcripts and peptides produced by bacteria during applied experimental conditions allowed us to find 96 previously undocumented annotation errors across these three *Yersinia* strains. Summary of genome annotation refinements included such features as discovery of novel ORFs, extended start sites, identification of frameshifts, and translated “pseudogenes.” Among the genes that were missed or misinterpreted during previous annotations in the GenBank conducted by different research groups were essential ribosomal protein, several virulence-associated factors, a transcriptional regulator, and many hypothetical proteins. Details of this study can be found in our recent publication [6].

Multi-Omics Strategy to Unraveling *Yersinia* Pathogenesis

Y. pestis, the agent of plague, an acute and highly lethal infection, is a recently evolved clone of *Y. pseudotuberculosis*, the enteropathogen causing a limited infection in mammals and birds [7]. Both organisms share ~97% homology at the nucleotide level, as determined by whole-genome sequence analysis [8]. By making a comprehensive omics-driven comparative analysis of *Y. pestis* and *Y. pseudotuberculosis*, it might be possible to gain an understanding as to how an acute and highly lethal bacterial pathogen, such as *Y. pestis*, has evolved from its less virulent progenitor. Furthermore, a cross-comparison of epidemic and non-epidemic biovars of *Y. pestis* should provide insight into the mechanism underlying a virulence-restricted phenotype of strains, such as Pestoides F. One of the omics approaches for this type of comparative studies can be the use of defined *in vitro* conditions mimicking infection, such as transition from the ambient to the mammalian body temperature, acidified pH, oxidative stress, *etc.* that allow us to address global changes in organisms at different time points. We were the first to describe whole-genome temporal transcriptional changes in *Y. pestis* during a temperature shift from 26 to 37 °C. We found that 235 and 274 of the chromosomal genes were up- and down-regulated, respectively, and many plasmid genes were thermoregulated as well [9]. However, other omics approaches, for example proteomic and metabolomic analyses, were not simultaneously performed with the grown bacteria obtained for the transcriptomic experiments. Therefore, we conducted a temporal multi-omic cross-comparison of CO92, Pestoides F and PB1 strains by using a universal *Yersinia* microarray chip for gene expression and mass spectrometric methods for evaluation of protein and metabolite levels. This analysis revealed high gene and pro-

tein expression levels of conserved major virulence factors between two *Yersinia* species, as well as conserved post-transcriptional control of metabolism. Importantly, statistical inference modeling methods applied to the multi-omics integration of the network predicted novel virulence factors, including many genes annotated as having an unknown function. The role of these putative virulence factors in *Yersinia* pathogenesis is awaiting experimental confirmation. The results of the study were recently published [10].

Genome-Scale Metabolic Network Reconstruction

A first attempt to construct a metabolic network and corresponding mathematical model for *Y. pestis* was made based on annotation of the microtus biovar strain 91001 that is avirulent to humans. However, the construction of this model was not supported by the actual experiments on detection of metabolite spectra [11]. As a part of our systems biology project, we built a broader metabolic model for the virulent *Y. pestis* CO92. Importantly, during construction of the metabolic network, we used metabolite identification and uptake/secretion measurements in samples of supernatants of *Y. pestis* grown at 26 °C on different carbon sources. Time points were taken every two hours for the ten hours of the growth period. The models contained 815 genes, 678 proteins, 963 unique metabolites, and 1678 reactions. This model serves as a base for our current efforts to integrate other “omics” data sets that we produced for this pathogen to fill gaps for model stimulations to occur. Another important result of this study was a prediction of essential genes of *Y. pestis* that might be valuable targets for development of antimicrobials. The list of the essential genes as well as experimental details can be found in our recent publication [12].

Conclusions and Future Directions

My personal lesson that I learned participating in this large systems biology project is that these days the success of the research depends a great deal on proper interaction provided by multi-disciplinary experts and sophisticated technological and computational approaches. The research at the whole-genome level became tremendously complicated, and a massive amount of data produced during the “omics” experiments should be analyzed and re-analyzed again and again. Next-generation sequencing technology will be very instrumental not only for the massive genomic sequencing, but for the expression studies (RNA-seq technology) as well, likely replacing microarrays for most applications. In addition, RNA-seq is very helpful in identifying small (non-coding) RNAs (sRNAs) that are critical regulators of the cellular network. The use of RNomics has allowed several research groups to identify more than a hundred abundant sRNAs in *Yersinia* spp. that play important roles in physiology and pathogenicity. And last, but not least, we always should remember that above all an interaction

of a pathogen and a mammal (as well as an arthropod vector and/or microbiota) is a key point of the microbial pathogenesis research. Thus, systems biology projects should address both sides of “omics” – the microbe and its host.

Acknowledgements

I would like to acknowledge the contributions of key members of the Center for Systems Biology of Enteropathogens: Drs. C. Ansong, T.O. Metz, K. McAteer, J.E. McDermott, and J.N. Adkins (PNNL); Drs. M.B. Jones and S.N. Peterson (JCVI); Drs. D.E. Hyde, B. Schmidt, P. Charusanti, and B.O. Palson (UCSD); Dr. F. Hefron (OHSU). This program was supported by NIH/NIAID award #Y1-AI-8401.

References

1. Doll J.M., Zeitz P.S., Ettestad P., Bucholtz A.L., Davis T., Gage K. Cat-transmitted fatal pneumonic plague in a person who traveled from Colorado to Arizona. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1994; 51:109–14.
2. Motin V.L., Georgescu A.M., Elliott J.M., Hu P., Worsham P.L., Ott L.L., Slezak T.R., Sokhansanj B.A., Regala W.M., Brubaker R.R., Garcia E. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR-based IS100 genotyping and analysis of structural genes encoding glycerol-3-phosphate dehydrogenase (*glpD*). *J. Bacteriol.* 2002; 184:1019–27.
3. Onishenko G.G., Kutyrev V.V., editors. Natural plague foci in the Caucasus, Caspian Sea Region, Middle Asia and Siberia. Moscow: Medicine; 2004. 192 p.
4. Burrows T.W., Bacon G.W. V and W antigens in strains of *Pasteurella pseudotuberculosis*. *Brit. J. Exp. Pathol.* 1960; 41:38–44.
5. Fowler J.M., Brubaker R.R. Physiological basis of the low calcium response in *Yersinia pestis*. *Infect. Immun.* 1994; 62: 5234–41.
6. Schrimpe-Rutledge A.C., Jones M.B., Chauhan S., Purvine S.O., Sanford J.A., Monroe M.E., Brewer H.M., Payne S.H., Ansong C., Frank B.C., Smith R.D., Peterson S.N., Motin V.L., Adkins J.N.

Comparative omics-driven genome annotation refinement: application across *Yersinia*. *PLoS One*. 2012; 7(3):e33903.

7. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiry A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1999; 96:14043–8.

8. Chain P.S., Carniel E., Larimer F.W., Lamerdin J., Stoutland P.O., Regala W.M., Georgescu A.M., Vergez L.M., Land M.L., Motin V.L., Brubaker R.R., Fowler J., Hinnebusch J., Marceau M., Medigue C., Simonet M., Chenal-Francisque V., Souza B., Dacheux D., Elliott J.M., Derbise A., Hauser L.J., Garcia E. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004; 101:13826–31.

9. Motin V.L., Georgescu A.M., Fitch J.P., Gu P.P., Nelson D.O., Mabery S.L., Garnham J.B., Sokhansanj B.A., Ott L.L., Coleman M.A., Elliott J.M., Kegelmeyer L.M., Wyrobek A.J., Slezak T.R., Brubaker R.R., Garcia E. Temporal global changes in gene expression during temperature transition in *Yersinia pestis*. *J. Bacteriol.* 2004; 186:6298–6305.

10. Ansong C., Schrimpe-Rutledge A.C., Mitchell H.D., Chauhan S., Jones M.B., Kim Y.M., McAteer K., Deatherage Kaiser B.L., Dubois J.L., Brewer H.M., Frank B.C., McDermott J.E., Metz T.O., Peterson S.N., Smith R.D., Motin V.L., Adkins J.N. A multi-omic systems approach to elucidating *Yersinia* virulence mechanisms. *Mol. Biosyst.* 2013; 9:44–54.

11. Navid A., Almaas E. Genome-scale reconstruction of the metabolic network in *Yersinia pestis*, strain 91001. *Mol. Biosyst.* 2009; 5:368–75.

12. Charusanti P., Chauhan S., McAteer K., Lerman J.A., Hyde D.R., Motin V.L., Ansong C., Adkins J.N., Palsson B.O. An experimentally-supported genome-scale metabolic network reconstruction for *Yersinia pestis* CO92. *BMC Syst. Biol.* 2011; 5:163.

Authors:

Motin Vladimir L. University of Texas Medical Branch, Departments of Pathology and Microbiology & Immunology. Galveston, Texas, USA. E-mail: vlmotin@utmb.edu

Об авторах:

Мотин В.Л. Медицинский факультет Университета штата Техас. Галвестон, США. E-mail: vlmotin@utmb.edu

Поступила 21.08.13.

A.Rakin, D.Garzetti

DIFFERENT SIDEROPHORES CONTRIBUTE TO THE HIGH-PATHOGENICITY PHENOTYPE IN *YERSINIA*

Max von Pettenkofer-Institute, LMU, Munich; Germany

For successful proliferation in the hostile mammalian environments, the highly pathogenic *Yersiniae* (*Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica*) have to sequester ferric iron from the host iron storage molecules. Siderophores, low molecular weight molecules, that demonstrate high affinity for the iron, are responsible for Fe^{3+} capture and transport in bacteria. At least one endogenous siderophore system, yersiniabactin, is known to be involved in iron acquisition in highly virulent *Yersiniae*. Its inactivation in *Y. pestis* and *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica* results in significant attenuation of virulence. However, the yersiniabactin is not present in all highly virulent *Yersiniae*. Indeed, the large group of *Y. pseudotuberculosis* serotypes O2, O3, O4, O5 as well as serotype O1 Far East Scarlet like fever (FESLF) strains carry an alternative, iron acquisition system, pseudochelin, encoded by the *Yersinia* non-ribosomal peptide *ynp* locus. Thus, the yersiniabactin activity is not the only one associated with the high-pathogenicity phenotype of the human pathogenic *Yersiniae*.

Key words: pathogenic *Yersiniae*, high-pathogenicity phenotype, siderophores

А.Ракин, Д.Газетти

Различные сидерофоры обуславливают фенотип высокой патогенности иерсиний

Институт Макса фон Петтенкофера, Мюнхен, Германия

Высоковирулентным *Yersiniae* (*Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica*) для успешного размножения в неблагоприятных условиях хозяйского организма необходимо трехвалентное железо, которое связано железосодержащими молекулами хозяина. Низкомолекулярные молекулы, сидерофоры, обладающие высоким сродством к железу, отвечают за эффективный захват и транспорт Fe^{3+} в бактериальную клетку. По крайней мере одна сидерофорная система, а именно, система синтеза и транспорта йерсиниобактина, отвечает за активный транспорт железа у йерсиний. Инактивация этой системы приводит к значительному снижению вирулентности у *Y. pestis* и *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica*. Однако, йерсиниобактин присутствует далеко не у всех представителей рода йерсиний. Так, *Y. pseudotuberculosis* серотипов O2, O3, O4, O5, а также штаммы O1, вызывающие Дальневосточную скарлатиноподобную лихорадку, содержат альтернативную систему транспорта железа, псевдохелин, которая кодируется локусом *ynp* (нерибосомный синтез пептидов). Следовательно, как минимум две системы снабжения железом ассоциированы с фенотипом высокой патогенности у йерсиний, а именно, системы йерсиниобактина и псевдохелина.

Ключевые слова: патогенные иерсинии, фенотип высокой патогенности, сидерофоры.

The highly-pathogenic *Yersiniae* are defined as bacteria, which are able to kill mice in low infectious doses. *Yersinia pestis*, *Y. pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica* belong to this highly virulent group. Presence of the so-called High-Pathogenicity Island (HPI), encoding a siderophore yersiniabactin iron acquisition system (Ybt), is a main prerequisite for the high-pathogenicity phenotype in *Yersinia*. Loss or inactivation of this system results in significant virulence attenuation of *Y. pestis* and *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica* [3, 5, 7, 11, 14, 15]. Thus, the yersiniabactin-mediated ferric iron uptake system is accepted as one of the main virulence-associated determinants in human pathogenic *Yersiniae*. However, although all highly pathogenic *Y. pseudotuberculosis* serotypes were initially suspected to possess the *ybt* cluster this is not the case. It has been shown that only strains of serotype O1 possess the complete yersiniabactin gene cluster [15] while other highly virulent strains of serotypes O2, O4, O5 lack *ybt*. The situation becomes even more intriguing with strains of serotype O3, which partly contain the *ybt* genes and partly are devoid of *ybt*. Moreover, the *ybt* cluster is not

functional in the O3ybt group, due to a partial truncation of the *ybt* genes including the *fyuA* gene encoding the yersiniabactin receptor [9, 15]. Accordingly, the O3ybt strains are unable to produce the yersiniabactin, while the other O3 strains demonstrate siderophore activity on the chrome azurol S siderophore detection CAS agar [15, 19]. The O3ybt strains show also reduced virulence in animals compared to their siderophore positive counterpart O3 group [9]. Moreover, the strains of other highly virulent, human pathogenic *Y. pseudotuberculosis* serotypes, O2, O4, and O5, also produce siderophores in the absence of the yersiniabactin genes. Previously we have applied suppression subtractive hybridization to two serotype O3 strains of both groups (O3ybt and O3), the siderophore-negative Yp346 with a truncated *ybt* and the prototype highly virulent siderophore-positive, but *ybt*-negative YPIII strain, widely used in *Yersinia* pathogenicity research [17]. Several gene sequences with high similarities to iron siderophore biosynthetic genes were uncovered in the YPIII genome (e.g. YPO0776, according to *Y. pestis* CO92 annotation). These data strongly support the presence of an alternative iron siderophore system

in O3, a system that is able to substitute the Ybt and to support the high-virulent phenotype of *Y. pseudotuberculosis*. Indeed, sequence of the YPIII strain (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/510?project_id=59151) demonstrated the presence of siderophore iron acquisition systems in the O3 group and the complete absence of the *ybt* cluster. The functionality of at least some of these systems is supported by the ability of O3 strains to synthesize and produce a siderophore. In contrast, one of the potential alternative siderophore clusters, initially designated as HPI-2 (High-Pathogenicity Island-2, due to its similarity with the *ybt* cluster located on a mobile HPI structure) is evidently non-functional in *Y. pestis*, due to insertion of the IS100 element, a frameshift disrupting the biosynthetic ORF and / or its disruption into two separated parts [8]. However, the HPI-2 cluster, designated *ynp* (*Yersinia* non-ribosomal peptide locus) is evidently intact in *Y. pseudotuberculosis* but entirely absent in *Y. pestis* Pestoides F strain. In *Y. pseudotuberculosis* serotype O1 IP32953 strain, the *ynp* locus (YPTB3290-3298) contains putative siderophore assembly genes (YPTB3296-3297) coding for the mixed nonribosomal peptide synthetase (NRPS) / polyketide synthase (PKS) pathway and transport genes (YPTB3290-3291) and TonB-dependent outer membrane receptor (YPTB3298) (Fig. 1). The *ynp* locus does not contain a phosphopantetheinyl (P-pant) transferase, which is necessary for the assembly of the NRPS-PKS complex. Therefore, one of the two P-pants encoded within the *Yersinia* genomes is necessary for the siderophore biosynthesis (Bobrov *et al.*, 2002).

Here we aimed to look for distribution of the *Yersinia* pseudochelin Ynp system in *Y. pseudotuberculosis* with special impact on serotype O3 strains and address its possible implication in siderophore synthesis and iron uptake.

Materials and methods

Bacterial strains were obtained from the collection of the Max von Pettenkofer-Institute, LMU, Munich, Germany.

Siderophore production was demonstrated in a colorimetric chrome azurol S assay using a solidified liquid CAS agar developed by Schwyn and Neilands (1987).

Conditions of iron deprivation were achieved in NBD medium (Nutrient Broth, 5 g of NaCl with addition of 0,1 mM 2-2'-dipyridyl).

Primer walking was used to close the deletion gap in the *ybt* cluster sequence in siderophore-negative but *irp2*-positive *Y. enterocolitica* O3 genomes (O3ybt group).

A genome wide hybridization microarray [12] was applied to compare gene contents of the selected *Yersinia* genomes.

High-quality *Y. pseudotuberculosis* genome sequences were obtained from the publicly accessible databases <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> and draft genome sequences of *Y. pseudotuberculosis* serotype O4 and O5 strains were obtained in cooperation with BGI-Hongkong Co. (Hong Kong) and annotated with the RAST server [2]. Circular representation of the genome comparisons was performed with BRIG [1].

Results

We have compared the strains of serotype O3 available in our collection (Table 1) for the presence of the yersiniabactin biosynthetic *irp2* gene and the ability to produce a siderophore on the CAS agar, to grow in iron-deficient NBD medium and to support growth of *E. coli* H1884 *entD,F* (siderophore enterochelin -negative mutant unable to grow in iron depleted NBD medium). Only strains of the siderophore-positive O3 group, but not of the O3ybt group, were able to grow in iron depleted

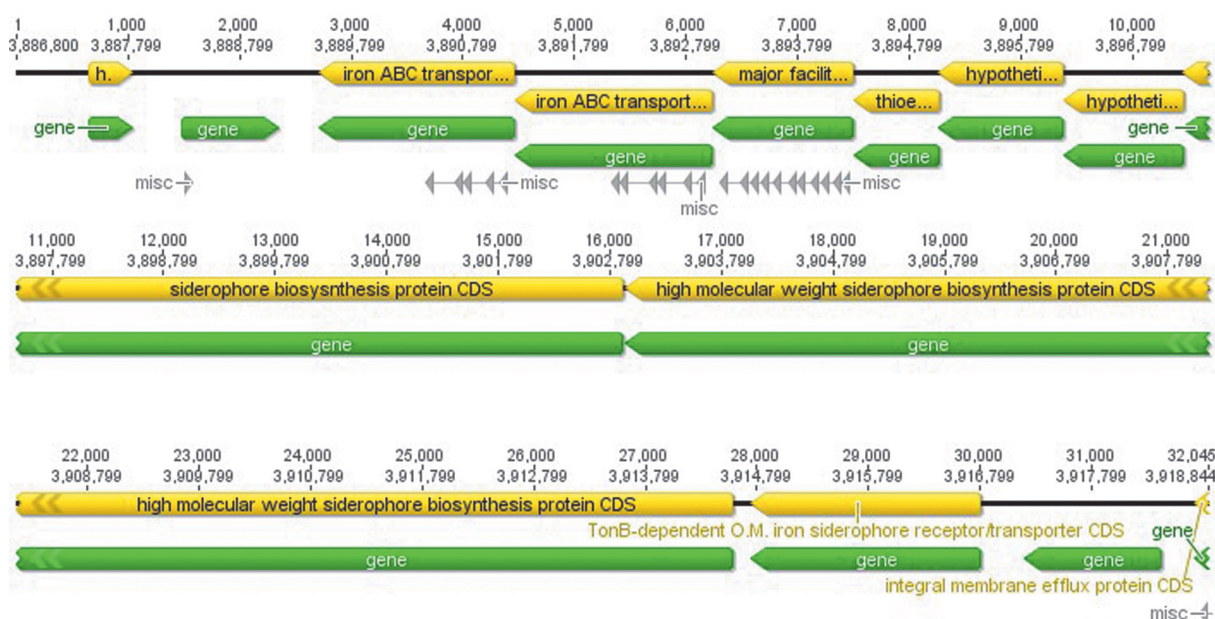


Fig. 1. The pseudochelin iron uptake operon (*Yersinia* non-ribosomal peptide locus *ynp*, YPTB3296-3297) in *Y. pseudotuberculosis* IP32953 strain (NCBI Reference Sequence: NC_006155.1). The picture is generated using Geneious program 6.1.5

Table 1

Comparison of *Y. pseudotuberculosis* O3 strains according to their CAS activity, presence of the *ybt* genes and ability to grow and support growth in iron-depleted media

Strain, isolation place	CAS activity	Presence of the <i>irp2</i> gene	Growth in NBD, support of H1884 <i>entD,F</i> growth
1216/93, Norway	No	No	
14240, Turmenistan	No	No	
200/90, Germany	No	No	No
298/89, Australia	No	No	
1134/90, Japan	No	No	
2887, Argentina	No	No	
Turku, Finland	No	No	
Act-2, Russia	No	No	
307, New Zealand	No	No	No
346, Denmark	No	No	No
201/90, Germany	Yes	No	
201, Denmark	Yes	No	
1401, Sweden	Yes	No	
YPIII, U.S.A.	Yes	No	
146, Germany	Yes	No	Yes
445/73, Russia	Yes	No	Yes
483/71, Russia	Yes	No	Yes
714, Japan	Yes	No	

medium as well as to support the growth of the H1884 *entD,F* mutant.

Using the whole genome hybridization microarray [12] we tested the presence of the siderophore-associated sequences (*ybt* and *ynp*) in the O3 strains. It turns out that, while the strains of the O3ybt group contain the *int*, *ybtS-ybtP*, *ybtA* and *irp2-irp1* genes (YPO1911 – YPO1916, according to *Y. pestis* CO92 annotation [13], they completely lack the *ynp* genes (clustered in two groups, YPO0770 – YPO0778 and YPO1011 – YPO1012 in *Y. pestis* CO92, or YPTB3290-YPTB3298, according to IP32953 annotation). Alternatively, the O3 group siderophore-positive strains possess the complete *ynp* gene clusters but none of the *ybt* associated genes.

Using primer walking we have defined the deletion end point in the *ybt* cluster in O3ybt strains (Fig. 2). The deletion includes *ybtU-fyuA* sequences and terminates 30 bp downstream the *irp1* stop codon.

Several completed and draft *Yersinia* genomes are now available in the public databases (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>).

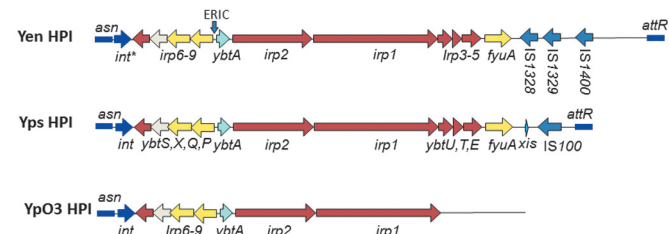


Fig. 2. Structure of the yersiniabactin mobile gene cluster (HPI) in different *Yersinia*. Note different designations of the *ybt* genes in *Y. pestis* / *Y. pseudotuberculosis*. Yps HPI stands for *Y. pestis* HPI and YpO3 HPI – for *Y. pseudotuberculosis* O3ybt HPI and Yen HPI – for *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica* HPI

[nlm.nih.gov/genome](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome)). For genome comparison we have included two draft genome sequences obtained from *Y. pseudotuberculosis* serotype O4 and O5 strains in cooperation with BGI, China. This allows analysis and comparison of the corresponding human-pathogenic *Y. pseudotuberculosis* for the presence of the siderophore iron uptake systems on the whole genome scale (Figure 3).

The partial deletion of the yersiniabactin *ybt* gene locus is evident in serotype O3ybt strains B6796_O3, B6862_O3, B6863O3 and B6864_O3 while the complete *ybt* cluster is missing in strain YPIII serotype O3; strains 66, O4 and 68, O5 and, to our surprise, also in the serotype O1 Far East Scarlet like fever (FESLF) strain IP31758 [6, 10]. Further sequencing of additional eight FESLF strains supports the absence of the *ybt* genes in this group of serotype O1 strains (data not shown). In contrast, the *ynp* cluster was absent in all O3ybt isolates but present in the strains of the other serotypes under comparison. Moreover, another potentially active siderophore iron acquisition system, aerobactin (*iuc*), is absent in the O3ybt strains. Thus, none of the three siderophores possibly supporting iron acquisition, the yersiniabactin, the pseudochelin (*ynp*) and the aerobactin (*iuc*) is present or functional in the O3ybt group. Interestingly, both iron uptake systems, *ynp* and *iuc*, are located in the integration hot spot that might represent another Plasticity Zone (PZ2) in *Y. pseudotuberculosis* genome. In contrast, sporadic *Y. pseudotuberculosis* O1 strains carry all three siderophore ferric iron acquisition systems. However, the functionality of these systems has to be demonstrated [8].

P-pant transferases are necessary for assembly of the NRP/PKS complex and synthesis of the pseudochelin. Indeed, all analyzed *Y. pseudotuberculosis* strains analyzed have both unaltered genes encoding P-pant transferases, *ybtD*, which initiates the YBT system and *acpP*, required for the fatty acid synthesis. Thus, the two O3 groups do not differ by their ability to support the synthesis of the Ynp siderophore due to the absence of the supporting P-pants.

Discussion

The so-called High-Pathogenicity Island supplies bacteria with the ability to synthesize the yersiniabactin (Ybt), a siderophore sequestering bound ferric iron from the host iron sources. The HPI represents an archetypical genetic mobile structure, a genomic island that transposes to any available free *asn*-tRNA genes in the host genome using a site-specific recombination. The HPI originally described in *Yersinia* is widely disseminated in *Enterobacteriaceae* (20) due to its mobile nature. However, the Ybt system is not present in all highly pathogenic *Yersinia* (as it was initially suspected) and it is restricted to *Y. pestis* and *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica*, both of which demonstrate their absolute dependence on Ybt for *in vivo* survival and virulence [3, 5, 7, 11, 14].

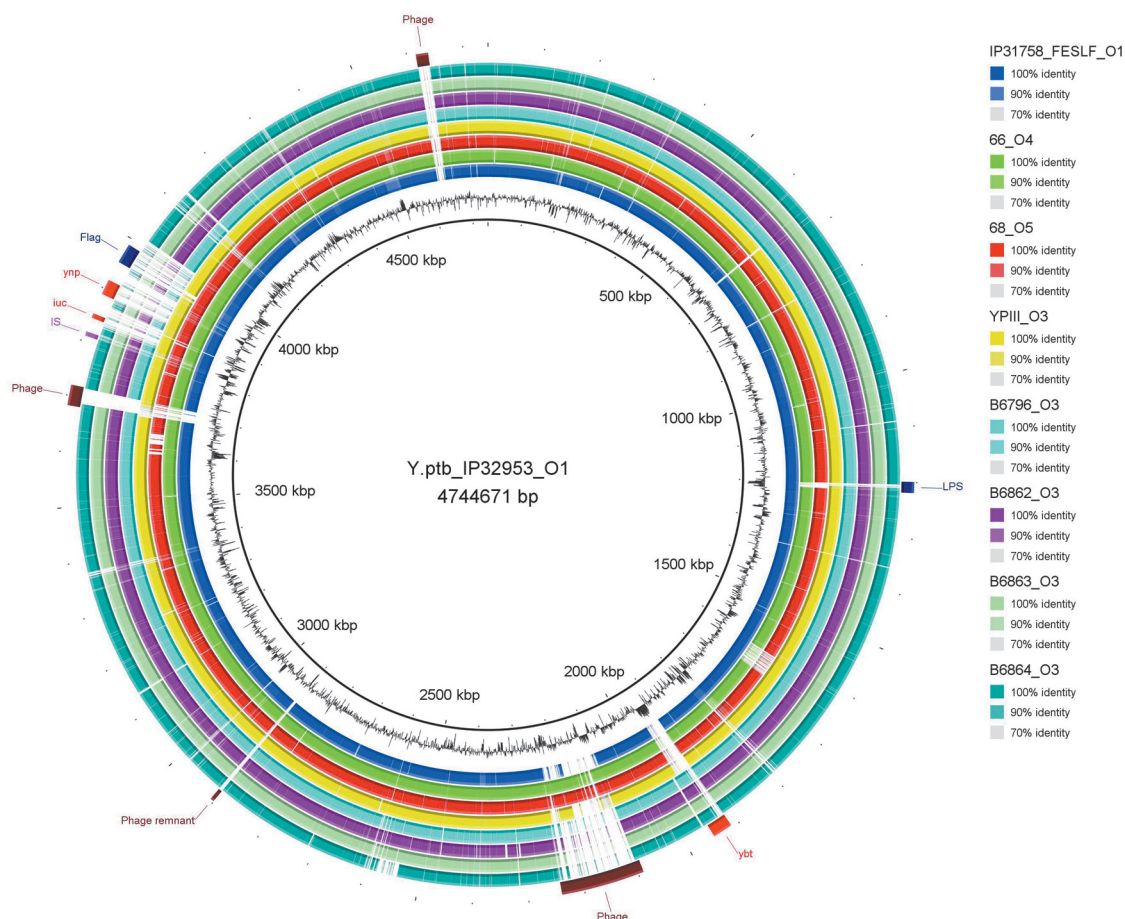


Fig. 3. Whole genome alignment of *Y. pseudotuberculosis* strains. Significant differentiating gene regions are represented. The white color indicates regions present in strain IP32953 but absent from the other strains

In contrast, most representatives of another group of highly virulent *Yersinia*, *Y. pseudotuberculosis*, do not possess the Ybt iron supply system. Only sporadic *Y. pseudotuberculosis* O1 strains demonstrate the presence of the *ybt* gene cluster while strains of the other highly virulent serotypes, O2, O4, O5, as well as epidemic FESLF O1 strains, lack the *ybt* genes. They also carry the pseudochelin Fe^{3+} acquisition system (Ynp) as an alternative to the yersiniabactin [18]. Moreover, serotype O3 strains likely exhibit competition between the Ybt and the Ynp ferric iron systems; they possess either of the systems, but not both of them. The similarity of the Ybt and Ynp systems and their potential biochemical and genetic cross talk might explain such competition of the two iron scavenging systems. Simultaneous presence and expression of these two related non-ribosomal peptide synthesized siderophore systems in sporadic O1 strains awaits its explanation.

Taken together, the alternative non-ribosomal peptide synthesized siderophore iron supply system Ynp (designated as “pseudochelin” due to its preferential distribution in *Y. pseudotuberculosis* [18]), is also responsible for the ferric iron siderophore mediated acquisition and, thus, for the highly-virulent phenotype of the vast majority of *Y. pseudotuberculosis* strains and serotypes. Indeed, inactivation of the siderophore biosynthetic

gene YPBT3297 by homologous recombination with a chloramphenicol resistance cassette containing DNA fragment in YPIII, serotype O3 resulted in its inability to produce the siderophore (data not shown).

The ferric iron supply is not directly bound to pathogenicity of bacteria but it is a prerequisite for their successful multiplication in host and virulence potential. The Fur-dependent regulation of both iron supply and virulence supports a cross link between these traits. Bacteria, including pathogenic ones, possess different siderophore iron systems. Some of them have been acquired through a horizontal gene transfer and might be exposed in the available global gene pool and, thus, become available for import by other microorganisms to exploit alternative pathways.

Summary

1. The yersiniabactin ferric iron acquisition system, traditionally supposed to be responsible for the high-pathogenicity phenotype of *Yersinia*, is restricted to *Y. pestis* and *Y. enterocolitica* subsp. *enterocolitica* strains.

2. Human highly pathogenic *Y. pseudotuberculosis* O2, O4, O5, O3_{ynp} and epidemic FESLF O1 demonstrate alternative siderophore activity in the absence of

the yersiniabactin system.

3. The alternative iron acquisition system designated as pseudochelin (originally annotated as *Yersinia* non-ribosomal peptide locus, *ynp*) is responsible for the production of the siderophore in *Y. pseudotuberculosis* O2, O4, O5, O3_{ynp} and FESLF O1 non-Ybt group.

4. Strains of two groups of *Y. pseudotuberculosis* O3, namely O3_{ybt} and O3, demonstrate differences in their siderophore activity. Strains of the O3_{ybt} group do not exhibit any siderophore activity and are of reduced virulence due to the absence of functional iron acquisition systems (the pseudochelin, *ynp*; the aerobactin, *iuc* and truncation of the yersiniabactin locus, *ybt*). In turn, the O3_{ynp} strains are siderophore pseudochelin positive but lack the yersiniabactin locus, *ybt*.

5. The present designation of the *ybt* genomic island as the High-pathogenicity Island [4] as the only one associated with the high-pathogenicity phenotype in *Yersinia* is misleading and must be withdrawn.

References

1. Alikhan N.F., Petty N.K., Ben Zakour N.L., Beatson S.A. BLAST Ring Image Generator (BRIG): simple prokaryote genome comparisons. *BMC Genomics*. 2011; 12:402.
2. Aziz R.K., Bartels D., Best A.A., DeJongh M., Disz T., Edwards R.A., Formsma K., Gerdes S., Glass E.M., Kubal M., Meyer F., Olsen G.J., Olson R., Osterman A.L., Overbeek R.A., McNeil L.K., Paarmann D., Paczian T., Parrello B., Pusch G.D., Reich C., Stevens R., Vassieva O., Vonstein V., Wilke A., Zagnitko O. The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. *BMC Genomics*. 2008; 9:75.
3. Bearden S.W., Fetherston J.D., Perry R.D. Genetic organization of the yersiniabactin biosynthetic region and construction of avirulent mutants in *Yersinia pestis*. *Infect Immun*. 1997; 65:1659–68.
4. Carniel E. The *Yersinia* high-pathogenicity island: an iron-uptake island. *Microbes Infect*. 2001; 3:561–9.
5. de Almeida A.M., Guiry A., Guilvout I., Itean I., Baranton G., Carniel E. Chromosomal *irp2* gene in *Yersinia*: distribution, expression, deletion and impact on virulence. *Microb Pathog*. 1993; 14:9–21.
6. Eppinger M., Rosovitz M.J., Fricke W.F., Rasko D.A., Kokorina G., Fayolle C., Lindler L.E., Carniel E., Ravel J. The complete genome sequence of *Yersinia pseudotuberculosis* IP31758, the causative agent of Far East scarlet-like fever. *PLoS Genet*. 2007; 3(8):e142.
7. Fetherston J.D., Kirillina O., Bobrov A.G., Paulley J.T., Perry R.D. The yersiniabactin transport system is critical for the pathogenesis of bubonic and pneumonic plague. *Infect Immun*. 2010; 78:2045–52.
8. Forman S., Paulley J.T., Fetherston J.D., Cheng Y.Q., Perry R.D. *Yersinia* ironomics: comparison of iron transporters among *Yersinia pestis* biotypes and its nearest neighbor, *Yersinia pseudotuberculosis*. *Biometals*. 2010; 2:275–94.

berculosis. *Biometals*. 2010; 2:275–94.

9. Fukushima H. Molecular epidemiology of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003; 529:357–8.

10. Gurleva G.G., Domaradskii I.V., Smolikova L.M., Khaliapina E.E., Grigor'ian E.G. [Biological properties of the causative agent of pseudotuberculosis isolated from scarlatina-like fever patients]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1973; 50:125–9.

11. Heesemann J., Hantke K., Vocke T., Saken E., Rakin A., Stojiljkovic I., Berner R. Virulence of *Yersinia enterocolitica* is closely associated with siderophore production, expression of an iron-repressible outer membrane polypeptide of 65,000 Da and pesticin sensitivity. *Mol. Microbiol.* 1993; 8:397–408.

12. Hinchliffe S.J., Isherwood K.E., Stabler R.A., Prentice M.B., Rakin A., Nichols R.A., Oyston P.C., Hinds J., Titball R.W., Wren B.W. Application of DNA Microarrays to Study the Evolutionary Genomics of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *Genome Res*. 2003; 13(9):2018–29.

13. Parkhill J., Wren B.W., Thomson N.R., Titball R.W., Holden M.T., Prentice M.B., Sebaihia M., James K.D., Churcher C., Mungall K.L., Baker S., Basham D., Bentley S.D., Brooks K., Cerdeño-Tarraga A.M., Chillingworth T., Cronin A., Davies R.M., Davis P., Dougan G., Feltwell T., Hamlin N., Holroyd S., Jagels K., Karlyshev A.V., Leather S., Moule S., Oyston P.C., Quail M., Rutherford K., Simmonds M., Skelton J., Stevens K., Whitehead S., Barrell B.G. Genome sequence of *Yersinia pestis*, the causative agent of plague. *Nature*. 2001; 413:523–7.

14. Perry R.D., Fetherston J.D. Yersiniabactin iron uptake: mechanisms and role in *Yersinia pestis* pathogenesis. *Microbes Infect*. 2011; 13:808–17.

15. Rakin A., Urbitsch P., Heesemann J. Evidence for two evolutionary lineages of highly pathogenic *Yersinia* species. *J. Bacteriol*. 1995; 177:2292–8.

16. Rakin A., Schubert S., Pelludat C., Brem D., Heesemann J. The High-Pathogenicity Island of *Yersinia*. In: Pathogenicity islands and other mobile virulence elements. Kaper J. B., Hacker, editors. Washington D.C.: ASM-Press; 1999. P. 77–90.

17. Rakin A., Golubov A., Iwobi A., Heesemann J. Tracing acquisitions and losses in *Yersinia* genomes. In: The Genus *Yersinia*. Entering the Functional Genomic Era. Skurnik M., Bengoechea J.A., Granfors K., editors. NY: Kluwer Academic/Plenum Publishes; 2003. P. 19–23.

18. Rakin A., Schneider L., Podladchikova O. Hunger for iron: the alternative siderophore iron scavenging systems in highly virulent *Yersinia*. *Front Cell Infect. Microbiol.* 2012; 2:151.

19. Schwyn B., Neiland J.B. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem*. 1987; 160:47–56.

20. Schubert S., Rakin A., Heesemann J. The *Yersinia* high-pathogenicity island (HPI): evolutionary and functional aspects. *Int. J. Med. Microbiol.* 2004; 294:83–94.

Authors:

Rakin A., Garzetti D. Max von Pettenkofer-Institute, LMU, Pettenkofer str. 9a, 80336 Munich, Germany. E-mail: rakin@mvp.uni-muenchen.de

Об авторах:

Ракин А., Газетти Д. Институт Макса фон Петтенкофера. Мюнхен, Германия. E-mail: rakin@mvp.uni-muenchen.de

Поступила 05.08.13.

С.А.Бугоркова, З.Л.Девдариани, Т.Н.Щуковская, В.В.Кутырев

**ИСТОРИЧЕСКИЕ И СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О ПРОБЛЕМЕ
СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ЧУМЫ***ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов,
Российская Федерация*

Целью данного обзора был анализ, проведенный в историческом аспекте, изменений представлений о проблеме специфической профилактики чумы и оценка вклада современных достижений научных исследований в области изучения возбудителя чумы и особенностей его взаимодействия с организмом хозяина в решение ключевой задачи разработки эффективных и безопасных вакцин для борьбы с этой грозной болезнью. Рассмотрены исторические вопросы становления представлений о специфической профилактике чумы, связанные с выдающимися научными открытиями французского ученого-микробиолога А.Иерсина. Приведены сведения по современному состоянию иммунопрофилактики чумы в мире и России. Через призму проводимых научных исследований с применением достижений передовых технологий медицинской науки (молекулярной биологии, биотехнологии, биоинформатики, молекулярной иммунологии) представлены перспективы поиска и разработки эффективных и безопасных противочумных вакцин нового поколения.

Ключевые слова: чума, иммунопрофилактика, вакцины.

S.A.Bugorkova, Z.L.Devdariani, T.N.Shchukovskaya, V.V.Kutyrev

Historical and Modern Views on the Problem of Specific Plague Prophylaxis*Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation*

Objective of this review is to analyze diachronically paradigm shift as regards problems of specific plague prophylaxis and appreciate contribution of the present-day scientific discoveries in the sphere of plague agent investigations and peculiarities of its interaction with host organism to the solution of topical issues of vaccine development that will be safe and tangibly effective against this particularly dangerous disease. Outlined is the historical background of the conceptual evolution concerning specific plague prophylaxis and events that are landmarked with eminent scientific discoveries by A.Yersin, French researcher and microbiologist. Given are the data on the current state of plague immune-prophylaxis both in Russia and around the world. Through the prism of the latest researches that assume application of advanced technological resource of medical sciences (molecular biology, biotechnology, bioinformatics, molecular immunology) put forward is the prospective of search and construction of safe and effective anti-plague next generation vaccines.

Key words: plague, immune-prophylaxis, vaccines.

Этап становления представлений о специфической профилактике чумы, связанный с открытием А.Иерсина. С «черной смертью» пытались бороться многие врачи, расплачиваясь порой своей жизнью. Еще задолго до открытия возбудителя чумы предполагалось «живое язвенное начало» болезни, а следовательно, шел поиск возможных средств лечения и профилактики этого недуга. В 1771 г. русский врач Д.С.Самойлович в течение суток носил белье больного, умершего от чумы, предварительно окурив его ядовитыми порошками. Эксперимент увенчался успехом, исследователь не заболел, а наука задолго до открытия возбудителя чумы получила подтверждение, что причиной болезни является живой микроорганизм [2].

Открытие в Гонконге в 1894 г. возбудителя этой грозной инфекции французским ученым-микробиологом А.Иерсином [52] перевернуло новую страницу в истории чумы. Знание о причине болезни позволило ученым вплотную заняться вопросами изучения чумного микроба и заложить основы

для разработки средств специфической профилактики чумы. А.Иерсином впервые была изготовлена противочумная сыворотка, которая вплоть до открытия в XX в. антибактериальных препаратов была главным лечебным и профилактическим средством в терапии бубонной формы чумы. Введение этого препарата облегчало течение бубонной чумы и снижало вероятность смертельных осложнений инфекции. Научные изыскания по получению лечебно-профилактических противочумных сывороток резко сократились в 1960-х годах, когда была установлена ведущая роль клеточных факторов в становлении иммунитета против чумы.

Экспериментальными исследованиями А.Иерсина, А.Кальметта и Н.Борреля по изучению протективных свойств убитой нагреванием культуры чумного микроба, а позднее, русским врачом В.М.Хавкиным были заложены основы методического подхода к разработке убитых вакцин против чумы. В.М.Хавкин в 1897 г. испытал свою вакцину на людях и доказал ее профилактический эффект. С помощью полученно-

го им препарата были спасены тысячи человеческих жизней в период эпидемии чумы в Индии. Однако дальнейший опыт многолетнего массового применения убитых корпускулярных вакцин в Манчжурии, на островах Ява и Мадагаскар свидетельствовал об их слабой иммунологической и эпидемической эффективности в защите от бубонной и особенно от легочной форм чумы [7].

А.Иерсин, основываясь на экспериментальных данных о потере вирулентности при многократных пересевах на искусственных питательных средах штаммов возбудителя чумы, первый из ученых-микробиологов высказал предположение о возможности вакцинации человека против чумы живыми, ослабленными в своей вирулентности, культурами *Yersinia pestis*. Это смелое экспериментально обоснованное предположение послужило толчком к формированию представлений о живых противочумных вакцинах и нашло свое подтверждение в дальнейших работах А.Кальметта (1899 г.), В.Колле и Р.Отто (1903–1904 гг.), Р.Стронга (1906–1907 гг.) и других исследователей [10]. Научный поиск в этом направлении нуждался в получении новых сведений как о механизмах пато- и иммуногенеза легочной формы чумы, так и свойствах возбудителя.

В 1926 г. на о. Мадагаскар Г.Жирар и Ж.Робик из трупа человека с инициалами Е.В., умершего от бубонной чумы, выделили штамм чумного микроба *Y. pestis* EV. В течение 5 лет они проводили ежемесячные пересевы культуры на агаре и выдерживали ее при температуре 18–20 °С, в результате чего получили аттенуированный штамм, авирулентный для морских свинок и кроликов, который обеспечивал защиту животных от заражения чумой [7, 26].

Массовое применение чумных живых вакцин в 20–30-е годы прошлого столетия в мировых эпидемических по чуме очагах дало убедительные доказательства их безопасности и эффективности в сравнении с убитыми вакцинами. Из множества предложенных различными исследователями живых чумных вакцинных штаммов наибольшим преимуществом, по данным экспериментальных и полевых испытаний, обладал аттенуированный штамм *Y. pestis* EV, переданный французским ученым Г.Жираром в 1936 г. Саратовскому противочумному институту «Микроб» из Пастеровского института г. Тананариве (о. Мадагаскар). Для испытания его безвредности и иммуногенности в 1938 г. Наркомздравом СССР была назначена комиссия в составе ведущих отечественных специалистов-чумологов – Н.Н.Жукова-Вережникова, М.П.Покровской, Е.И.Коробковой и других. После тщательных экспериментальных исследований на лабораторных животных и изучении на людях – сотрудниках института «Микроб», добровольно согласившихся на прививку штаммом *Y. pestis* EV, – была установлена его иммуногенность и безопасность [7].

К 1941 г. специалистами Кировского НИИ эпидемиологии и гигиены (М.М.Файбич, Р.В.Корнее-

вым, Н.Ф.Копыловым) из штамма *Y. pestis* EV была выделена высокоиммуногенная линия НИИЭГ, которую использовали для разработки технологии и производства сухой живой вакцины [6]. С 1942 г. в Советском Союзе были организованы массовые прививки чумной живой сухой вакциной *Y. pestis* EV НИИЭГ. Производили препарат в Саратовском противочумном институте «Микроб», а затем в Среднеазиатском (Алма-Ата) и Ставропольском противочумных институтах.

За прошедшие десятилетия живой чумной вакциной были привиты миллионы людей без каких-либо серьезных осложнений. Опасения, в основном американских ученых, о возможной реверсии вирулентности живых вакцин и данные об их высокой реактогенности способствовали продолжению исследований в области разработки более безопасных убитых вакцин. Так, в США в 1946 г. была представлена и лицензирована чумная вакцина USP, состоящая из убитых формальдегидом клеток вирулентного штамма *Y. pestis* 195P.

Однако специально проведенные в РосНИПЧИ «Микроб» генетические исследования доказали невозможность реверсии в макроорганизме вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ к вирулентности [8]. По неопубликованным данным, в РосНИПЧИ «Микроб» проведено полногеномное секвенирование штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ, которое подтвердило наличие у него протяженной делеции, захватившей всю *pgm* область с островом высокой патогенности HPI, наличие которой обязательно для проявления вирулентности возбудителем чумы.

Вакцинопрофилактика чумы на современном этапе. Среди мероприятий по профилактике чумы одним из важных противоэпидемических средств является вакцинация. В настоящий момент в мире существует несколько коммерческих (лицензированных) вакцин против чумы: чумная живая сухая вакцина (Россия, Казахстан), чумная живая таблетированная (Россия), чумная живая из аттенуированного штамма Харбин (Индонезия), жидкая инактивированная I.P. (Индия).

Для специфической профилактики чумы в России применяется живая сухая чумная вакцина (ЖЧВ) на основе вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ, которая превосходит по своей профилактической эффективности убитую вакцину USP, производившуюся в США до 1998 г.

С целью создания препарата для одновременной специфической и экстренной профилактики в условиях возникновения эпидемических осложнений при развитии чрезвычайных ситуаций техногенного или биотеррористического характера была разработана вакцина чумная живая полиантибиотикорезистентная на основе сконструированного вакцинного штамма *Y. pestis* EV P2, имеющего лекарственную устойчивость [5].

На сегодняшний день производство и применение ЖЧВ в качестве средства для специфической

профилактики чумы в мире ограничено, препарат зарегистрирован в России, в некоторых странах СНГ (Республика Казахстан), Китае, ряде стран Юго-Восточной Азии (Индонезия).

Наряду с явными достоинствами живых вакцин (высокая иммуногенность, возможность применения препарата различными способами), им присущ существенный недостаток – высокая реактогенность. Усиливают негативные тенденции в отношении живых вакцин исследования по повышению вирулентности штаммов *Y. pestis* KIM D27, *Y. pestis* EV 76 при одновременном введении с солями железа аутобредным мышам [33] или трансгенным мышам с наследуемым гемохроматозом [38].

Опыт разработки и применения химических противочумных вакцин свидетельствует об их безопасности и относительно высокой протективной активности вполне достаточной для ревакцинации людей, изначально иммунизированных живой чумной вакциной. В этом направлении проводились исследования в РосНИПЧИ «Микроб» и был разработан эффективный ревакцинирующий препарат – химическая чумная вакцина [3, 4]. В НИИ микробиологии МО РФ (Киров) создан и запатентован вакцинный препарат против чумы, состоящий из капсульного антигена чумного микроба F1- и В-антигена, изолированного из клеточной биомассы *Y. pseudotuberculosis* и представляющего собой крупномолекулярный антигенный комплекс, включающий полисахаридный, белковый и липидный компоненты [1].

Перспективы развития вакцинопрофилактики чумы. Прошло более 100 лет со дня открытия А.Иерсином возбудителя чумы. Все это время проводились интенсивные исследования патогена, особенностей пато- и иммуногенеза инфекции, продолжался поиск перспективных протективных антигенов с целью разработки эффективных средств для специфической профилактики «черной смерти».

Сложность создания высокоэффективных вакцин против чумы обусловлена высокой вирулентностью возбудителя, связанной с синергическим взаимоопотенцирующим действием целого комплекса разнонаправленных факторов, которые блокируют ключевые барьерные механизмы системы врожденного иммунитета и препятствуют формированию макроорганизмом полноценного адаптивного иммунитета.

На сегодняшний день можно считать, что практически все важнейшие компоненты макроорганизма, участвующие в сложной системе регуляции иммунного ответа открыты [9], но их суммарные количественно-временные эффекты в условиях противочумной вакцинации нуждаются в дальнейшем анализе.

Для инициации и развития инфекционного процесса *Y. pestis* обладает рядом факторов патогенности, продукция которых кодируется определенными генами, расположенными на хромосоме и плазмиде возбудителя. В число генов основных факторов

вирулентности входят: *caf* капсульного антигена F1 (плазмида pFra), *pla* активатора плазминогена (плазмида pPst), гены YOP вирулона системы секреции третьего типа (плазмида pCad), а также *ybt* (система потребления железа) *pgm* хромосомной области пигментации и *psa* оперон хромосомы (пили адгезии – рН6-антиген). Капсульный антиген F1 участвует в защите от действия иммунной системы и в адгезии к эукариотическим клеткам. Активатор плазминогена Pla (протеаза) обеспечивает диссеминацию возбудителя в тканях хозяина и отвечает за развитие бубонной и легочной форм болезни. С ней связывают способность возбудителя чумы лизировать фибриновые сгустки, препятствующие распространению патогена [42]. Белки Ybt необходимы для поглощения ионов железа в условиях его дефицита в макроорганизме, а антиген рН6 (Psa) участвует в адгезии клеток *Y. pestis* к эукариотическим клеткам. Наличие комплекса YOP-вирулона (pCad) обязательно для подавления иммунной системы хозяина.

Возбудитель чумы при температуре теплокровного организма 37 °С синтезирует тетраацилированный липид А (эндотоксический компонент липополисахарида – ЛПС), который не распознается патерн-распознающим рецептором (PRR) 4 типа (TLR4) и одновременно выступает в качестве антагониста для гексаацилированной формы ЛПС, синтезируемой микробом при температуре 28 °С [22, 34]. Этот феномен связан с потерей *Y. pestis* LpxL, одной из «последних» ацилтрансфераз в цепочке биосинтеза липида А [11, 34].

Тетраацилированная форма ЛПС снижает экспрессию костимулирующих молекул CD40, CD86, молекул главного комплекса гистосовместимости II класса на поверхности моноцитов и дендритных клеток человека [46] и ингибирует сигнальные пути активации транскрипционного фактора NF-κB [25], а также регулируемую посредством TLR4 продукцию IL-12 (p40), необходимого для реагирования дендритных клеток на индуцированные чумным микробом хемокины и их последующую миграцию, имеющую важное значение в инициации формирования антибактериального адаптивного иммунитета [18, 29, 41].

В макрофагах возбудитель чумы запускает экспрессию ряда эффекторных белков, которые подавляют иммунный ответ [13, 35]. Экспрессия белков приводит к образованию на поверхности микробной клетки иглоподобных комплексов, которые при взаимодействии с клетками мишенями впрыскивают внутрь клетки хозяина шесть различных эффекторных белков (YopE, YopJ/YopP, YopM, YopN, YopT, и YpkA/YopO) для подавления иммунной системы макроорганизма. Часть белков – внутриклеточные эффекторы (YopE, YopN, YopO, YopP/YopJ, YopM, YopT), остальные (YopB, YopD, LcrV) формируют аппарат транлокации на поверхности бактерии для доставки эффекторов внутрь эукариотических клеток [47]. Так, YopE обладает цитотоксичностью, YopN

деформирует клеточные структуры хозяина, мишенью YrkA является внутренняя поверхность цитоплазматической мембраны эукариотической клетки, YopM, предположительно, способен влиять на воспалительный процесс, уменьшая количество тромбина и препятствуя агрегации тромбоцитов [27, 39], что способствует диссеминации возбудителя чумы в тканях макроорганизма.

Заслуживает внимания факт возможности проникновения возбудителя чумы в эпителиальные клетки. Так, было показано, что присутствие в клетках *Y. pestis* плазмиды pPst, детерминирующей образование Pla, обеспечивает бактериям высокую инвазивность в отношении клеток HeLa [17, 20]. Эффекторный белок YopP/YopJ при контакте с эндотелиальными клетками, особенно бронхиальной системы, за счет снижения экспрессии молекул адгезии, таких как ICAM-1 и E-селектина на них, препятствуют притоку в очаг воспаления полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПМЯЛ), а YopP, LcrV доказано ингибируют хемотаксис нейтрофилов как в естественных условиях, так и в пробирке. Возможно, что при попадании возбудителя чумы в организм чувствительного хозяина через слизистую оболочку дыхательной или пищеварительной систем, именно эта способность позволяет ему проникать в клетки мукозального эпителия респираторного или желудочно-кишечного трактов, размножаться в них и вызывать генерализацию инфекции. Снижение вирулентности у pPst вариантов чумного микроба при экспериментальном заражении биомоделей подтверждает этот факт [31].

В своей стратегии уклонения от иммунной системы макроорганизма возбудитель чумы использует разные механизмы защиты – от захвата интактными фагоцитами; от бактерицидного действия сыворотки крови хозяина; запускает процессы, способствующие генерализации инфекции и развитию инфекционно-токсического шока; активирует адгезивную способность; использует внутриклеточное паразитирование [42, 48, 50].

Инфекционный процесс при чуме – это результат сложного взаимодействия патогена и иммунной системы хозяина. Чтобы противодействовать возбудителю чумы макроорганизму необходимо развертывание полноценного специфического гуморального и клеточного иммунного ответа, так как механизмы классического гуморального ответа могут противостоять внеклеточно представленному возбудителю, а для нейтрализации микроба внутри клетки необходима активация клеточного звена иммунной системы.

С учетом вышеизложенного, актуальными являются исследования молекулярных механизмов взаимодействия возбудителя чумы с системами врожденного и адаптивного иммунитета организма хозяина, выявление причин малой продолжительности иммунитета к чумной инфекции, уточнение скорости элиминации Т-клеток памяти, роли экзо- и эндогенных факторов в регуляции антиинфекционной резистентности макроорганизма, интенсивное

использование биоинформационного и протеомного анализов для поиска потенциальных иммуногенов возбудителя чумы.

Прогрессивное развитие рекомбинантной технологии во многом определило стратегию разработки вакцин в современный период.

Технология получения рекомбинантных субъединичных вакцин решает целый ряд вопросов, связанных с риском применения живых препаратов (реактогенность, нежелательные побочные эффекты). В течение последних 20 лет в США и Великобритании активно разрабатываются рекомбинантные субъединичные F1-V-антиген вакцины против чумы, эффективность которых в безадыювантной форме неоднозначна для разных биомоделей, включая приматов. Этот препарат оказался малоэффективным при заражении бескапсульными (F1⁻) штаммами *Y. pestis* или продуцирующими иные модификации V-антигена (варианты LcrV). Рассматривается возможность создания нового поколения рекомбинантных субъединичных вакцин с включением рекомбинантного белка внешней мембраны A (OmpA), фактора адгезии Ail (Ail/OmpX), активатора плазминогена (Pla) [24].

Продолжаются лабораторные испытания инкапсулированных форм субъединичных вакцин с применением для этого липосом, наночастиц и других биodeградируемых материалов [28, 48], адъювантов нового поколения [30]. Начата II фаза клинических испытаний rFIVвакцины, производимой DynPort Vaccine Company.

Клеточная защита от бактерий чаще опирается на развитие Т-клеточного ответа 1-го типа, характеризующегося расширением патоген-специфических Т-клеток, которые выделяют ИФН- γ и TNF- α и CD8 + цитотоксических Т-лимфоцитов.

Для защиты от легочной чумы ключевыми показателями активности иммунной системы являются уровень ИФН- γ , TNF- α , синтазы 2 оксида азота. Живой вакцинный штамм *Y. pestis* (KIM₅pCD₁⁺, pMT⁺, pPCP⁺, pgm⁻) по установленному уровню CD4 и CD8 Т-клеток у иммунизированных мышей защищал от легочной чумы [36, 37], что подтверждало особую роль клеточного звена в защите от этой инфекции.

В экспериментах на мышах показано, что бактериальные патогены или изолированные PAMP (pathogen-associated molecular pattern), например ЛПС или CpG ДНК, связываясь с TLR, активируют дендритные клетки к синтезу цитокинов преимущественно семейства IL-12 и других, стимулирующих дифференцировку Т-хелперов 1-го типа. Однако при активации TLR4 дендритные клетки, помимо IL-12, синтезируют также цитокины, стимулирующие дифференцировку Т-хелперов 2-го типа [21], причем в ряде экспериментов установлено, что этот эффект зависит от дозы лиганда. Дендритные клетки легких в ответ на высокие дозы ЛПС синтезируют IL-12 и стимулируют Т-хелперы 1-го типа, тогда как в ответ на низкие дозы ЛПС происходит стимуляция Т-хелперов 2-го типа, что ведет к развитию аллерги-

ческого воспаления [23].

Таким образом, ключевым моментом разработки эффективных вакцин против чумы следует считать поиск антигенов у чумного микроба направленно стимулирующих Т-клеточную систему.

У переболевших чумой людей отмечается выработка антител. Благодаря возможностям протеомных технологий идет активное выделение новых иммуногенов и протективных антигенов, участвующих в выработке специфических антител у переболевших [40, 49]. На настоящий момент изучено более 140 белков чумного микроба, ассоциированных с вирулентностью патогена, и показано, что кроме F1, YopD, YopE, LcrV и рН6 антигена, которые были описаны ранее в качестве иммуногенов, иммуногенными свойствами обладают еще 10 белков: YPO2090, YPO2091, YPO2102, YPO2112, YPO2118, YPO2131, YPO2190, YPMT1.12c, YPMT1.24c и YPMT1.75c [32].

Используя протеомный подход на основе анализа субклеточных фракций белков *Mycobacteria tuberculosis* против спленоцитов инфицированных мышей и характеризуя эти фракции по продукции ИФН-γ, было выделено 17 новых антигенов, стимулирующих доминирующий Т-клеточный ответ [19]. B.Li, R.Yang [32] приводят неопубликованные данные исследования спленоцитов мышей, иммунизированных *Y. pestis* EV76, идентифицировано 34 белка чумного микроба, которые стимулируют выраженную продукцию ФН-γ.

Дальнейшие перспективы в разработке вакцин против чумы связаны с новыми результатами фундаментальных исследований в области молекулярной биологии, микробиологии, иммунологии, геномных и постгеномных технологий.

В настоящее время, базируясь на рекомендациях ВОЗ, следует ожидать получение нового поколения вакцин на основе генно-инженерных технологий:

- рекомбинантных векторных живых чумных вакцин на основе непатогенных микроорганизмов, таких как *Salmonella spp.*, *Lactococcus spp.* [16, 44, 45];

- рекомбинантных штаммов *Y. pseudotuberculosis*, продуцирующих капсульный антиген чумного микроба [14];

- рекомбинантных штаммов чумного микроба, продуцирующих гекса-ацилированную форму ЛПС [45];

- рекомбинантных вакцин на базе вирусных векторов с использованием не реплицирующих аденовирусов, вирусов стоматита или оспы енота, в которых клонируют гены одного или двух протективных антигенов *Y. pestis*, таких как F1 (Caf1) или V-антиген (LcrV). В отличие от субъединичных вакцин, они не только индуцируют продукцию специфических антител, но также стимулируют Т-клеточный иммунитет [15];

- ДНК вакцин, способных обеспечить одновременную защиту от чумы и сибирской язвы [12].

Новый взгляд на адъюванты как на препараты,

не только повышающие эффективность вакцинации, но и как средства, способные специфически активировать определенные рецепторы на различных клетках системы врожденного иммунитета организма хозяина, расширяет перспективы разработки субъединичных вакцин. Включение в рецептуру разрабатываемых препаратов адъювантов нового поколения для повышения их эффективности [48] позволит управлять силой и типом развивающегося иммунного ответа.

Таким образом, все вышеизложенное свидетельствует о том, что современный период развития иммунопрофилактики чумы обладает значительным потенциалом, а имеющиеся достижения в области разработки противочумных вакцин, базирующиеся на передовых технологиях медицинской науки (молекулярной биологии, биотехнологии, биоинформатики, молекулярной иммунологии), являются залогом решения важной задачи – получения эффективной и безопасной вакцины против чумы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бывалов А.А., Евстигнеев В.И., Дармов И.В., Пименов Е.М. Антигенный состав чумной химической вакцины. Патент РФ 2190424, опубл. 10.10.2002.
2. Ганин В. Война с «черной смертью»: от обороны к наступлению. Наука и жизнь. 2006; 7:17–24.
3. Дальвадяц С.М., Дубровин М.Ю., Бывалов А.А., Додонов Н.П., Чичерин Ю.В., Евстигнеев В.И., Пименов Е.В., Еремин С.А., Дятлов И.А., Кутырев В.В. Исследования по иммунизации против чумы. Сообщение 3. Ревакцинирующие свойства живой чумной вакцины и препаратов чумных химических вакцин для павианов гамадрилов. Пробл. особо опасных инф. 2005; 1(89):62–7.
4. Дальвадяц С.М., Дятлов И.А., Еремин С.А., Щуковская Т.Н., Саяпина Л.В., Сергеева Г.М., Кутырев В.В. Исследования по иммунизации против чумы. Сообщение 4. Опыт ревакцинации волонтеров «химической» и живой чумной вакцинами. Пробл. особо опасных инф. 2006; 1(91):57–61.
5. Дармов И.В., Погорельский И.П., Ежов А.В., Мохов Д.А., Хонин А.З. Изучение иммунобиологических свойств вакцины чумной живой сухой на основе штамма EV P2 *Y. pestis*. В кн.: Научные труды, посвященные 75-летию НИИ микробиологии МО РФ. Киров; 2003. С. 77.
6. Евстигнеев В.И., Абдуллин Т.Г. Вклад НИИ микробиологии МО РФ в становлении системы биологической защиты войск и населения России. В кн.: Диагностика, лечение и профилактика опасных инфекционных заболеваний. Биотехнология. Ветеринария. Киров, 1998. С. 3–10.
7. Коробкова Е.И. Живая противочумная вакцина. М.: Медгиз; 1956. 206 с.
8. Кутырев В.В., Ерошенко Г.А., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Виноградова Н.А. Сравнительная генетическая характеристика вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV и его предполагаемых «вирулентных производных». Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2009; 3:50–6.
9. Лебедев К.А., Полякина И.Д. Иммунология образ-распознающих рецепторов (Интегральная иммунология). М.: «ЛИБРОКОМ»; 2009. 256 с.
10. Супотницкий М.В., Супотницкая Н.С. Очерки истории чумы. М.: Вузовская книга; 2006. Кн. 1. 468 с.
11. Airhart C.L., Rohde H.N., Hovde C.J., Bohach G.A., Deobald C.F., Lee S.S., Minnich S.A. Lipid A mimetics are potent adjuvants for an intranasal pneumonic plague vaccine. Vaccine. 2008; 26:5554–61.
12. Albrecht M.T., Eyles J.E., Baillie L.W., Keane-Myers A.M. Immunogenicity and efficacy of an anthrax/plague DNA fusion vaccine in a mouse model. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2012; 65(3):505–9.
13. Amedei A., Niccolai E., Marino L., D'Elia M. Role of immune response in *Yersinia pestis* infection. J. Infect. Dev. Ctries. 2011; 5(9):628–39.
14. Blisnick T., Ave P., Huerre M., Carniel E., Demeure C.E. Oral vaccination against bubonic plague using a live avirulent *Yersinia pseudotuberculosis* strain. Infect. Immun. 2008; 76(8):3808–16.
15. Boyer J.L., Sofer-Podesta C., Ang J., Hackett N.R.,

- Chiuchiolo M.J., Senina S., Perlin D., Crystal R.G. Protective immunity against a lethal respiratory *Yersinia pestis* challenge induced by V antigen or the F1 capsular antigen incorporated into adenovirus capsid. *Hum Gene Ther.* 2010; 21(7):891–901.
16. Branger C.G., Sun W., Torres-Escobar A., Perry R., Roland K.L., Fetherston J., Curtiss R., III. Evaluation of Psn, HmuR and a modified LcrV protein delivered to mice by live attenuated *Salmonella* as a vaccine against bubonic and pneumonic *Yersinia pestis* challenge. *Vaccine.* 2010; 29:274–82.
17. Caulfield A.J., Latham W.W. Substrates of the plasminogen activator protease of *Yersinia pestis*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 954:253–60.
18. Cooper A.M., Khader S. IL-12p40: an inherently agonistic cytokine. *Trends Immunol.* 2007; 28:33–8.
19. Covert B.A., Spencer J.S., Orme I.M., Belisle J.T. The application of proteomics in defining the T-cell antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. *Proteomic.* 2001; 1(4):574–86.
20. Cowan C., Jones H.A., Kaya Y.H., Perry R.D., Straley S.C. Invasion of epithelial cells by *Yersinia pestis*: evidence for a *Y. pestis*-specific invasin. *Infect Immun.* 2000; 68(8):4523–30.
21. Dabbagh K., Dahl M.E., Stepick-Biek P., Lewis D.B. Toll-like receptor 4 is required for optimal development of Th2 immune responses: role of dendritic cells. *J. Immunol.* 2002; 168:4524–7.
22. Dziarski R. Innate immunity. Shaechter's Mechanisms of Microbial Disease. 4th ed. Engelberg R., DiRita V., editors. Lippincott: Williams & Wilkins; 2006. P. 66–89.
23. Eisenbarth S.C., Piggott D.A., Huleatt J.W., Visintin I., Herrick C.A., Bottomly K. Lipopolysaccharide-enhanced Toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. *J. Exp. Med.* 2002; 196:1645–51.
24. Erova T.E., Rosenzweig J.A., Sha J., Suarez G., Sierra J.C., Kirtley M.L., van Lier C.S., Telepnev M.V., Motin V.L., Chopra A.K. Evaluation of protective potential of *Yersinia pestis* outer membrane protein antigens as possible candidates for a new-generation recombinant plague vaccine. *Clin. Vaccine Immunol.* 2013; 20(2):227–38.
25. Gelman A.E., Zhang J., Choi Y., Turka L.A. Toll-like receptor ligands directly promote activated CD4 T cell survival. *J. Immunol.* 2004; 172:6065–73.
26. Girard G., Robic J. Vaccination pesteuse par germs vivants (virus vaccine EV) Trois années de l'application a Madagascar. *Bull. Acad. Med.* 1938; 120:54–60.
27. Hines J., Skizypek E., Kajava A.V. Structure-function analysis of *Yersinia pestis* YopM's interaction with α -thrombin to rule on its significance in systemic plague and to model YopM's mechanism of binding host proteins. *Microb. Pathog.* 2001; 30(4):193–209.
28. Jones A., Bosio C., Duffy A., Goodyear A., Schrieffer M., Dow S. Protection against pneumonic plague following oral immunization with a non-replicating vaccine. *Vaccine.* 2010; 28:5924–9.
29. Khader S., Partida-Sanchez S., Bell G., Jelley-Gibbs D., Swain S., Pearl J., Ghilardi N., Desauvage F., Lund F., Cooper A. Interleukin 12p40 is required for dendritic cell migration and T cell priming after *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J. Exp. Med.* 2006; 203:1805–15.
30. Kumar D., Kirimanjeswara G., Metzger D.W. Intranasal administration of an inactivated *Yersinia pestis* vaccine with interleukin-12 generates protective immunity against pneumonic plague. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 18(11):1925–35.
31. Lahtemaki K., Kukkonen M., Korhonen T.K. Pia surface protease/adhesin of *Yersinia pestis* mediates bacterial invasion into human endothelial cells. *FEMS Lett.* 2001; 504(7):69–72.
32. Li B., Yang R. Interaction between *Yersinia pestis* and the host immune system. *Infect. Immun.* 2008; 76(5):1804–11.
33. Mellado-Sanchez G., Ramirez K., Drachenberg C.B., Diaz-McNair J., Rodriguez A.L., Galen J.E., Nataro J.P., Pasetti M.F. Characterization of systemic and pneumonic murine models of plague infection using a conditionally virulent strain. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 2013; 36:113–28.
34. Montminy S.W., Khan N., McGrath S., Walkowicz M.J., Sharp F., Conlon J.E., Fukase K., Kusumoto S., Sweet C., Miyake K., Akira S., Cotter R.J., Goguen J.D., Lien E. Virulence factors of *Yersinia pestis* are overcome by a strong lipopolysaccharide response. *Nat. Immunol.* 2006; 7(10):1066–73.
35. Navarro L., Alto N.M., Dixon J.E. Functions of the *Yersinia* effector proteins in inhibiting host immune responses. *Curr. Opin. Microbiol.* 2005; 8(1):21–7.
36. Parent M.A., Berggren K.N., Kummer L.W., Wilhelm L.B., Szaba F.M., Mullarky I.K., Smiley S.T. Cell-mediated protection against pulmonary *Yersinia pestis* infection. *Infect. Immun.* 2005; 73:7304–10.
37. Parent M.A., Wilhelm L.B., Kummer L.W., Szaba F.M., Mullarky I.K., Smiley S.T. Gamma interferon, tumor necrosis factor alpha, and nitric oxide synthase 2, key elements of cellular immunity, perform critical protective functions during humoral defense against lethal pulmonary *Yersinia pestis* infection. *Infect. Immun.* 2006; 74:3381–6.
38. Quenee L.E., Hermanas T.M., Ciletti N., Louvel H., Miller N.C., Elli D., Blaylock B., Mitchell A., Schroeder J., Krausz T., Kanabrocki J., Schneewind O. Hereditary hemochromatosis re-
- stores the virulence of plague vaccine strains. *J. Infect. Dis.* 2012; 7:1050–58.
39. Reisner B.S., Straley S.C. *Yersinia pestis* YopM: thrombin binding and overexpression. *Infect. Immun.* 1992; 60:5242–52.
40. Robinson W.H. Antigen arrays for antibody profiling. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2006; 10(1):67–72.
41. Robinson R.T., Khader S.A., Locksley R.M., Lien E., Smiley S.T., Cooper A.M. *Yersinia pestis* evades TLR4-dependent induction of IL-12(p40)2 by dendritic cells and subsequent cell migration. *J. Immunol.* 2008; 181:5560–7.
42. Sebbane F., Jarrett C.O., Gardner D., Long D., Hinnebusch B.J. Role of the *Yersinia pestis* plasminogen activator in the incidence of distinct septicemic and bubonic forms of flea-borne plague. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2006; 103:5526–30.
43. Spinner J.L., Cundiff J.A., Kobayashi S.D. *Yersinia pestis* type III secretion system-dependent inhibition of human polymorphonuclear leukocyte function. *Infect Immun.* 2008; 76(8): 3754–60.
44. Sun W., Roland K.L., Kuang X., Branger C.G., Curtiss R. III. *Yersinia pestis* with regulated delayed attenuation as a vaccine candidate to induce protective immunity against plague. *Infect. Immun.* 2010; 78:1304–13.
45. Sun W., Roland K.L., Curtiss R. 3rd. Developing live vaccines against *Yersinia pestis*. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2011; 5:614–27.
46. Telepnev M.V., Klimpel G.R., Haithcoat J., Knirel Y.A., Anisimov A.P., Motin V.L. Tetraacylated lipopolysaccharide of *Yersinia pestis* can inhibit multiple Toll-like receptor-mediated signaling pathways in human dendritic cells. *J. Infect. Dis.* 2009; 200:1694–702.
47. Viboud G.I., Bliska J.B. *Yersinia* outer proteins: role in modulation of host cell signaling responses and pathogenesis. *Annu Rev. Microbiol.* 2005; 59:69–89.
48. Wang Z., Zhou L., Qi Z., Zhang Q., Dai R., Yang Y., Cui B., Wang H., Yang R., Wang X. Long-term observation of subunit vaccine F1-rV270 against *Yersinia pestis* in mice. *Clin. Vaccine Immunol.* 2010; 17(1):199–201.
49. Zauberman A., Cohen S., Mamroud E., Flashner Y., Tidhar A., Ber R., Ethanany E., Shafferman A., Velan B. Interaction of *Yersinia pestis* with macrophages: limitations in YopJ-dependent apoptosis. *Infect. Immun.* 2006; 74(6):3239–50.
50. Zauberman A., Tidhar A., Levy Y., Bar-Haim E., Halperin G., Flashner Y., Cohen S., Shafferman A., Mamroud E. *Yersinia pestis* Endowed with increased cytotoxicity is avirulent in a bubonic plague model and induces rapid protection against pneumonic plague. *PLoS ONE.* 2009; 4(6):e5938.
51. Zhou D., Han Y., Yang R. Molecular and physiological insights into plague transmission, virulence and etiology. *Microbes Infect.* 2006; 8:273–84.
52. Yersin A. La peste bubonique a Hong Kong. *Ann. Inst. Pasteur (Paris).* 1894; 8:662–7.

References

- Byvalov A.A., Evstigneev V.I., Darmov I.V., Pimenov E.M. [Antigen composition of plague chemical vaccine]. RF Patent 2190424.
- Ganin V. [The war on "black death": change from defense to offense]. *Nauka i zhizn'*. 2006; 7:17–24.
- Dalvadyants S.M., Dubrovina M.Yu., Byvalov A.A., Dodonov N.P., Chicherin Yu.Y., Evstigneev V.I., Pimenov E.V., Yerminev S.A., Dyatlov I.A., Kutyrev V.V. [A study of immunization against plague. Communication 3. Revaccination properties of the plague vaccine and the preparations of plague chemical vaccines for Hamadryas baboons]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2005; 89:62–7.
- Dalvadyants S.M., Dyatlov I.A., Yerminev S.A., Schukovskaya T.N., Sayapina L.V., Sergeyeva G.M., Kutyrev V.V. [Plague immunization studies. Communication 4. An experience of volunteer revaccination with the "chemical" and live plague vaccines]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2006; 91:57–61.
- Darmov I.V., Pogorelsky I.P., Ezhov A.V., Mokhov D.A., Khonin A.Z. [Studies of immunobiological properties of an EV P2 *Y. pestis*-based dry live plague vaccine]. In: [Scientific Works Devoted to the 75th Anniversary of the Research Institute of Microbiology of the RF Ministry of Defense]. Kirov; 2003. P. 77.
- Evstigneev V.I., Abdullin T.G. [Contribution of the Research Institute of Microbiology (the RF Ministry of Defense) to the development of the system providing for biological protection of RF military forces and population]. In: [Diagnostics, Treatment, and Prophylaxis of Infectious Diseases. Biotechnology. Veterinary]. Kirov, 1988. P. 3–10.
- Korobkova E.I. [Live Anti-Plague Vaccine]. M.: Medgiz; 1956. 206 p.
- Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Kukleva L.M., Shavina N.Yu., Vinogradova N.A. [Comparative genetic characteristics of the vaccine strain *Yersinia pestis* EV and its proposed "virulent derivatives"]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2009; 3:50–6.
- Lebedev K.A., Ponyakina I.D. [Immunology of Pattern Recognition Receptor (Integral Immunology)]. M.: "LIBROKOM"; 2009. 256 p.
- Supotnitsky M.V., Supotnitskaya N.S. [Notes on the History of Plague]. M.: Vuzovskaya kniga; 2006. Vol. 1. 468 p.
- Airhart C.L., Rohde H.N., Hovde C.J., Bohach G.A., Deobald C.F., Lee S.S., Minnich S.A. Lipid A mimetics are potent adjuvants for an intranasal pneumonic plague vaccine. *Vaccine.* 2008; 26:5554–61.
- Albrecht M.T., Eyles J.E., Baillie L.W., Keane-Myers A.M. Immunogenicity and efficacy of an anthrax/plague DNA fusion vaccine in a mouse model. *FEMS Immunology & Medical Microbiology.* 2012;

65(3):505–9.

13. Amedei A., Nicolai E., Marino L., D'Elia M. Role of immune response in *Yersinia pestis* infection. J. Infect. Dev. Ctries. 2011; 5(9):628–39.
14. Blisnick T., Ave P., Huerre M., Carniel E., Demeure C.E. Oral vaccination against bubonic plague using a live avirulent *Yersinia pseudotuberculosis* strain. Infect. Immun. 2008; 76(8):3808–16.
15. Boyer J.L., Sofer-Podesta C., Ang J., Hackett N.R., Chiuchio M.J., Senina S., Perlin D., Crystal R.G. Protective immunity against a lethal respiratory *Yersinia pestis* challenge induced by V antigen or the F1 capsular antigen incorporated into adenovirus capsid. Hum Gene Ther. 2010; 21(7):891–901.
16. Branger C.G., Sun W., Torres-Escobar A., Perry R., Roland K.L., Fetherston J., Curtiss R., III. Evaluation of Psn, HmuR and a modified LcrV protein delivered to mice by live attenuated *Salmonella* as a vaccine against bubonic and pneumonic *Yersinia pestis* challenge. Vaccine. 2010; 29:274–82.
17. Caulfield A.J., Latham W.W. Substrates of the plasminogen activator protease of *Yersinia pestis*. Adv. Exp. Med. Biol. 2012; 954:253–60.
18. Cooper A.M., Khader S. IL-12p40: an inherently agonistic cytokine. Trends Immunol. 2007; 28:33–8.
19. Covert B.A., Spencer J.S., Orme I.M., Belisle J.T. The application of proteomics in defining the T-cell antigens of *Mycobacterium tuberculosis*. Proteomic. 2001; 1(4):574–86.
20. Cowan C., Jones H.A., Kaya Y.H., Perry R.D., Straley S.C. Invasion of epithelial cells by *Yersinia pestis*: evidence for a *Y. pestis*-specific invasin. Infect. Immun. 2000; 68(8):4523–30.
21. Dabbagh K., Dahl M.E., Stepick-Biek P., Lewis D.B. Toll-like receptor 4 is required for optimal development of Th2 immune responses: role of dendritic cells. J. Immunol. 2002; 168:4524–7.
22. Dziarski R. Innate immunity. Shacter's Mechanisms of Microbial Disease, 4th ed. Engelberg R., DiRita V., editors. Lippincott: Williams & Wilkins; 2006. P. 66–89.
23. Eisenbarth S.C., Piggott D.A., Huleatt J.W., Visintin I., Herrick C.A., Bottomly K. Lipopolysaccharide-enhanced Toll-like receptor 4-dependent T helper cell type 2 responses to inhaled antigen. J. Exp. Med. 2002; 196:1645–51.
24. Erova T.E., Rosenzweig J.A., Sha J., Suarez G., Sierra J.C., Kirtley M.L., van Lier C.S., Telepnev M.V., Motin V.L., Chopra A.K. Evaluation of protective potential of *Yersinia pestis* outer membrane protein antigens as possible candidates for a new-generation recombinant plague vaccine. Clin. Vaccine Immunol. 2013; 20(2):227–38.
25. Gelman A.E., Zhang J., Choi Y., Turka L.A. Toll-like receptor ligands directly promote activated CD4 T cell survival. J. Immunol. 2004; 172:6065–73.
26. Girard G., Robic J. Vaccination pesteuse par germes vivants (virus vaccine EV) Trois années de l'application à Madagascar. Bull. Acad. Med. 1938; 120:54–60.
27. Hines J., Skizypek E., Kajava A.V. Structure-function analysis of *Yersinia pestis* YopM's interaction with α -thrombin to rule on its significance in systemic plague and to model YopM's mechanism of binding host proteins. Microb. Pathog. 2001; 30(4):193–209.
28. Jones A., Bosio C., Duffy A., Goodyear A., Schrieffer M., Dow S. Protection against pneumonic plague following oral immunization with a non-replicating vaccine. Vaccine. 2010; 28:5924–9.
29. Khader S., Partida-Sanchez S., Bell G., Jelley-Gibbs D., Swain S., Pearl J., Ghilardi N., Desauvage F., Lund F., Cooper A. Interleukin 12p40 is required for dendritic cell migration and T cell priming after *Mycobacterium tuberculosis* infection. J. Exp. Med. 2006; 203:1805–15.
30. Kumar D., Kirimanjeswara G., Metzger D.W. Intranasal administration of an inactivated *Yersinia pestis* vaccine with interleukin-12 generates protective immunity against pneumonic plague. Clin. Vaccine Immunol. 2010; 18(11):1925–35.
31. Lahteemaki K., Kukkonen M., Korhonen T.K. Pia surface protease/adhesin of *Yersinia pestis* mediates bacterial invasion into human endothelial cells. FEMS Lett. 2001; 504(7):69–72.
32. Li B., Yang R. Interaction between *Yersinia pestis* and the host immune system. Infect. Immun. 2008; 76(5):1804–11.
33. Mellado-Sanchez G., Ramirez K., Drachenberg C.B., Diaz-McNair J., Rodriguez A.L., Galen J.E., Nataro J.P., Pasetti M.F. Characterization of systemic and pneumonic murine models of plague infection using a conditionally virulent strain. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 2013; 36:113–28.
34. Montminy S.W., Khan N., McGrath S., Walkowicz M.J., Sharp F., Conlon J.E., Fukase K., Kusumoto S., Sweet C., Miyake K., Akira S., Cotter R.J., Goguen J.D., Lien E. Virulence factors of *Yersinia pestis* are overcome by a strong lipopolysaccharide response. Nat. Immunol. 2006; 7(10):1066–73.
35. Navarro L., Alto N.M., Dixon J.E. Functions of the *Yersinia* effector proteins in inhibiting host immune responses. Curr. Opin. Microbiol. 2005; 8(1):21–7.
36. Parent M.A., Berggren K.N., Kummer L.W., Wilhelm L.B., Szaba F.M., Mullarky I.K., Smiley S.T. Cell-mediated protection against pulmonary *Yersinia pestis* infection. Infect. Immun. 2005; 73:7304–10.
37. Parent M.A., Wilhelm L.B., Kummer L.W., Szaba F.M., Mullarky I.K., Smiley S.T. Gamma interferon, tumor necrosis factor alpha, and nitric oxide synthase 2, key elements of cellular immunity, perform critical protective functions during humoral defense against lethal pulmonary *Yersinia pestis* infection. Infect. Immun. 2006; 74:3381–6.
38. Quenée L.E., Hermanas T.M., Ciletti N., Louvel H., Miller N.C., Elli D., Blaylock B., Mitchell A., Schroeder J., Krausz T., Kanabrocki J., Schneewind O. Hereditary hemochromatosis restores the virulence of plague vaccine strains. J. Infect. Dis. 2012; 7:1050–58.
39. Reisner B.S., Straley S.C. *Yersinia pestis* YopM: thrombin binding and overexpression. Infect. Immun. 1992; 60:5242–52.
40. Robinson W.H. Antigen arrays for antibody profiling. Curr. Opin. Chem. Biol. 2006; 10(1):67–72.
41. Robinson R.T., Khader S.A., Locksley R.M., Lien E., Smiley S.T., Cooper A.M. *Yersinia pestis* evades TLR4-dependent induction of IL-12(p40)2 by dendritic cells and subsequent cell migration. J. Immunol. 2008; 181:5560–7.
42. Sebbane F., Jarrett C.O., Gardner D., Long D., Hinnebusch B.J. Role of the *Yersinia pestis* plasminogen activator in the incidence of distinct septicemic and bubonic forms of flea-borne plague. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2006; 103:5526–30.
43. Spinner J.L., Cundiff J.A., Kobayashi S.D. *Yersinia pestis* type III secretion system-dependent inhibition of human polymorphonuclear leukocyte function. Infect. Immun. 2008; 76(8): 3754–60.
44. Sun W., Roland K.L., Kuang X., Branger C.G., Curtiss R., III. *Yersinia pestis* with regulated delayed attenuation as a vaccine candidate to induce protective immunity against plague. Infect. Immun. 2010; 78:1304–13.
45. Sun W., Roland K.L., Curtiss R. 3rd. Developing live vaccines against *Yersinia pestis*. J. Infect. Dev. Ctries. 2011; 5:614–27.
46. Telepnev M.V., Klimpel G.R., Haithcoat J., Knirel Y.A., Anisimov A.P., Motin V.L. Tetraacylated lipopolysaccharide of *Yersinia pestis* can inhibit multiple Toll-like receptor-mediated signaling pathways in human dendritic cells. J. Infect. Dis. 2009; 200:1694–702.
47. Viboud G.I., Bliska J.B. *Yersinia* outer proteins: role in modulation of host cell signaling responses and pathogenesis. Annu. Rev. Microbiol. 2005; 59:69–89.
48. Wang Z., Zhou L., Qi Z., Zhang Q., Dai R., Yang Y., Cui B., Wang H., Yang R., Wang X. Long-term observation of subunit vaccine F1-rV270 against *Yersinia pestis* in mice. Clin. Vaccine Immunol. 2010; 17(1):199–201.
49. Zauberman A., Cohen S., Mamroud E., Flashner Y., Tidhar A., Ber R., Elhanany E., Shafferman A., Velan B. Interaction of *Yersinia pestis* with macrophages: limitations in YopJ-dependent apoptosis. Infect. Immun. 2006; 74(6):3239–50.
50. Zauberman A., Tidhar A., Levy Y., Bar-Haim E., Halperin G., Flashner Y., Cohen S., Shafferman A., Mamroud E. *Yersinia pestis* Endowed with increased cytotoxicity is avirulent in a bubonic plague model and induces rapid protection against pneumonic plague. PLoS ONE. 2009; 4(6):e5938.
51. Zhou D., Han Y., Yang R. Molecular and physiological insights into plague transmission, virulence and etiology. Microbes Infect. 2006; 8:273–84.
52. Yersin A. La peste bubonique à Hong Kong. Ann. Inst. Pasteur (Paris). 1894; 8:662–7.

Authors:

Bugorkova S.A., Devdariani Z.L., Shchukovskaya T.N., Kuttyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Бугоркова С.А., Девдариани З.Л., Щуковская Т.Н., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 27.06.13.

А.Н.Мокриевич, Г.М.Вахрамеева, Р.И.Миронова, Т.И.Комбарова, Г.М.Титарева, Т.Б.Кравченко,
И.В.Бахтеева, И.А.Дятлов, В.М.Павлов

**СОЗДАНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ ВАРИАНТОВ
ВАКЦИННОГО ШТАММА *FRANCISELLA TULARENSIS* БЕЗ ГЕНОВ *iglC*.
Сообщение 1**

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», п. Оболенск,
Российская Федерация

Получены варианты вакцинного штамма *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 с делетированными генами *iglC*. Показано, что в геноме штамма 15 содержится две копии гена *iglC*. Удаление одной копии гена практически не влияет на культурально-морфологические и ростовые свойства микроба. Бактерии без одной копии гена *iglC* размножаются в мышинных макрофагах медленнее по сравнению с исходным штаммом, в то время как инактивация двух копий гена *iglC* в штамме 15 приводит к полной потере способности размножаться в макрофагах.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, аллельный обмен, ген *iglC*, фагоцитоз.

A.N.Mokrievich, G.M.Vakhrameeva, R.I.Mironova, T.I.Kombarova, G.M.Titareva, T.B.Kravchenko,
I.V.Bakhteeva, I.A.Dyatlov, V.M.Pavlov

**Construction and Investigation of the Vaccine Strain *Francisella tularensis* without *iglC* genes.
Communication 1**

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

Using site-specific mutagenesis constructed were the variants of the vaccine strain *F. tularensis* subsp. *holarctica* 15 with the deleted *iglC* genes. Identified was the fact that genome of the strain 15 contained two copies of *iglC* gene. Deletion of one of them as well as both had little effect on the cultural-morphological and growth properties of the microbe. At the same time *F. tularensis* 15 lacking one copy of the *iglC* gene propagated in mice macrophages several times slower, than the original strain. Inactivation of both of the copies in the chromosome led to the emergence of a variant incapable of intracellular reproduction. This capacity in *F. tularensis* 15/23-2 with two inactivated *iglC* gene copies was partially recovered after integration of a complementing plasmid. Therewith the data mentioned above testifies to the significance of *iglC* gene for the process of reproduction in macrophages.

Key words: *Francisella tularensis*, allele translocation, *iglC* gene, phagocytosis.

Возбудитель туляремии *Francisella tularensis* является внутриклеточным паразитом и способен размножаться в широком спектре эукариотических клеток [12]. Для внутриклеточного паразитирования бактерии *F. tularensis* содержат целый комплекс белков, кодируемых генами, расположенными на острове патогенности (ТОП – туляремиальный остров патогенности, или FPI – Francisella Pathogenicity Island). Одним из ключевых генов этого региона является ген *iglC*. Белок размером 23 кДа, кодируемый геном *iglC*, начинает интенсивно накапливаться в бактериальных клетках при попадании туляремиального микроба в макрофаги [6].

Разработанный нами ранее метод сайт-направленного мутагенеза *F. tularensis* позволил показать, что в геноме штамма LVS содержатся две копии гена *iglC* [7], что впоследствии было подтверждено прямым секвенированием полного генома штамма *F. tularensis* LVS [10]. Штамм LVS (Live Vaccine Strain) был отобран в США из изолированных колоний при расщеплении лиофильно высушенных бактерий *F. tularensis* штаммов 15 и 155, переданных из СССР [5]. Анализ нуклеотидных последовательностей геномов штаммов *F. tularensis* Schu и LVS показал, что в них присутствуют не только две копии гена *iglC*, но и две копии ТОП. Штамм LVS без двух копий гена

iglC практически не размножается в макрофагах [7], однако, в литературе отсутствуют данные о влиянии делеции гена *iglC* в геноме вакцинного штамма *F. tularensis* 15 на его способность индуцировать протективный иммунитет.

Целью данной работы являлось получение вариантов вакцинного штамма *F. tularensis* 15 с делетированными одной и двумя копиями гена *iglC* и изучение их иммунобиологических свойств.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы и плазмиды. Штаммы и плазмиды, использованные в работе, представлены в таблице.

Праймеры для контроля за определением участка интеграции плазмиды pPVΔ*iglC* в хромосому *F. tularensis*: для встраивания перед геном *iglC* – 23SalL25 5'-ACGCGTCGACAAACATAATAAGC C-3' и 23SalR15 5'-GCGTGTGCGACTTAGCCGTGCC AATTACCA -3'; для встраивания после гена *iglC* – 23SalL15 5'-ACGCGTCGACTACAATGCTAGAAAC CTT-3' и 23SalR25 5'-GCGTGTGCGACACAAGAAGC TGCTAATGCT-3' [7].

Условия культивирования. Штаммы *E. coli* выращивали при температуре 37 °C на плотной и жид-

Бактериальные штаммы и плазмиды

Название	Характеристика	Источник или ссылка
<i>F. tularensis</i> 15 НИИЭГ	subsp. <i>holarctica</i> , вакцинный штамм	«ГКПМ-Оболениск»
<i>F. tularensis</i> 15/23-1	<i>F. tularensis</i> 15 НИИЭГ с инактивированной одной копией гена <i>iglC</i>	Данная работа
<i>F. tularensis</i> 15/23-2	<i>F. tularensis</i> 15 НИИЭГ с инактивированными двумя копиями гена <i>iglC</i>	Данная работа
<i>F. tularensis</i> 15/23-2com	<i>F. tularensis</i> 15/23-2 с интегрированной плазмидой pHV33' <i>iglC</i>	Данная работа
<i>E. coli</i> S17-1 λ pir	(<i>thi pro hsdR⁻ hsdM⁺ recA</i> RP4-2-Tc::Mu-Km::Tn7(Tr ^R Sm ^R)); лизогенное производное S17-1, продуцирующее π -белок, необходимый для репликации плазмид, содержащих <i>ori6K</i>	«ГКПМ-Оболениск» [11]
<i>E. coli</i> S17(pPV)	Производный штамма S17-1 λ pir, содержащий плазмиду pPV, Amp ^R , Cm ^R	«ГКПМ-Оболениск» [7]
<i>E. coli</i> S17(pPV Δ iglC)	Производный штамма S17-1 λ pir, содержащий плазмиду pPV Δ 23, Amp ^R , Cm ^R	«ГКПМ-Оболениск» [7]
<i>E. coli</i> DH5 α	<i>F</i> (ϕ 80dlacZAM15) <i>recA1 endA1 gyrA96 thi-1 hsdR17(r_k⁻ m_k⁺) supE44 relA1 deoR Δ(lacZYA-argF) U169</i>	«ГКПМ-Оболениск» [13]
<i>E. coli</i> DH5 α (pHV33')	Производный штамма DH5 α , содержащий плазмиду pHV33', Amp ^R , Cm ^R , Tc ^R	Данная работа
<i>E. coli</i> DH5 α (pHV33' <i>iglC</i>)	Производный штамма DH5 α , содержащий плазмиду pHV33' <i>iglC</i> , Amp ^R , Cm ^R , Tc ^S	Данная работа
pPV Δ iglC	Amp ^R , Cm ^R , sacB, mob, 3.0 п.о. область генома <i>F. tularensis</i> 15 с делецией в гене <i>iglC</i>	[7]
pHV33'	Фенотип в <i>E. coli</i> Amp ^R , Cm ^R , Tc ^R	Данная работа
pHV33' <i>iglC</i>	Фенотип в <i>E. coli</i> Amp ^R , Cm ^R , Tc ^S 3.6 п.о. область генома <i>F. tularensis</i> 15 с геном <i>iglC</i>	Данная работа

кой питательной среде Лурия–Бертани (ЛБ) [3], при необходимости в присутствии антибиотиков (100 мкг/мл ампициллина или 20 мкг/мл хлорамфеникола). Штаммы *F. tularensis* выращивали при температуре 37 °C на плотной (FTA) и жидкой (FTB) питательной среде. Состав FTA: 3,8 % эритроцит-агар, 1 % высушенная кровь крупного рогатого скота, 1 % глюкоза, 0,05 % цистеин, 0,0025 % тиамин хлорид, pH 7,2 (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболениск), Состав FTB [1]: 2 % ферментативный гидролизат казеина, 1 % дрожжевой экстракт, 1,2 % K₂HPO₄, 1 % глюкоза, 0,001 % цистеин, 0,001 % FeCl₂, pH 7,2 (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболениск). При необходимости в среду добавляли 100 мкг/мл полимиксина В и 3 мкг/мл хлорамфеникола.

Выделение ДНК. Выделение плазмидных ДНК из клеток *E. coli* проводили по методике, изложенной в работе [2]. Выделение ДНК из клеток *F. tularensis* выполняли, как описано ранее [8].

Межвидовая конъюгация. Перенос плазмид из клеток *E. coli* S17-1(pPV Δ iglC) в клетки *F. tularensis* проводили методом межвидового скрещивания, как описано ранее [7], с рядом модификаций. 50 мкл суспензии донорного штамма *E. coli* S17-1(pPV Δ iglC) (1·10⁸ клеток) смешивали с 50 мкл реципиентного штамма *F. tularensis* (3·10¹⁰ клеток) и полученную смесь наносили пятнами на агар ЛБ. Скрещивание проводили при температуре 25 °C в течение 18 ч. Подростшую бактериальную культуру суспендировали в забуференном физиологическом растворе, pH 7,2 (ЗФР). Высев конъюгантов проводили на плотную питательную среду FTA, содержащую 100 мкг/мл полимиксина В для контрелекции донорного штамма *E. coli* и 3 мкг/мл хлорамфеникола, и инкубировали при температуре 37 °C. Учет результатов проводили через 120 ч.

Аллельный обмен. Конъюгант *F. tularensis* с интегрированной плазмидой pPV Δ iglC суспендировали в

ЗФР до концентрации 5·10⁹ м.к./мл, титровали с шагом 10 до седьмого разведения и высевали по 0,2 мл из каждого разведения на среду FTA, содержащую 100 мкг/мл полимиксина В и 5 % сахарозы. Чашки инкубировали при температуре 37 °C в течение 72 ч. Среди клонов с фенотипом Suc^R отбирали варианты с фенотипом Cm^SSuc^R на среде FTA, содержащей 100 мкг/мл полимиксина В и 5 % сахарозы. Методом ПЦР среди клонов Cm^SSuc^R отбирались варианты *F. tularensis* с делецией в одном или двух генах *iglC*. Для проведения ПЦР использовали проверочные праймеры: 23CF – 5'-AAGGATAAGACCTGTCTG-3' и 23 CR – 5'-TTGAAACCATAACCGGGTA-3'.

Комплементация. Для комплементации гена *iglC* в мутантном штамме *F. tularensis* была создана плазида pHV33'*iglC*, состоящая из вектора pHV33' (делеционное производное плазмиды pHV33 [4]) и ампликона, содержащего фланкированный ~1,5 т.п.о. участками хромосомной ДНК *F. tularensis* нативный ген *iglC* (629 п.о.). Ампликон размером 3558 п.о. был получен с помощью праймеров 23SalI15 и 23SalR15 на матрице штамма *F. tularensis* 15. Ампликон был встроен в SalI сайт плазмиды pHV33'. В результате электропорации плазмиды pHV33'*iglC* был получен штамм *E. coli* DH5 α (pHV33'*iglC*).

Клоны, содержащие плазмиду, имели фенотип Ar^RCm^RTc^S. Препарат ДНК pHV33'*iglC*, выделенный из клеток *E. coli*, переносили методом электропорации [9] в клетки *F. tularensis* с целью аллельного замещения одного из делетированных генов *iglC* на интактный вариант.

Фагоцитоз. В работе использовали клетки линии J774A.1 (полученные из Российской Коллекции Клеточных Культур) и перитонеальные макрофаги, выделенные из мышей линии BALB/c. Макрофаги (J774A.1 или перитонеальные) вносили в 24-луночные планшеты для клеточных культур (Costar) в концентрации 10⁵ клеток в лунку и инкубировали в

полной питательной среде Dulbecco Eagle (10 % фетальной сыворотки теленка, 2 мМ глутамина), при температуре 37 °С, в атмосфере 5 % CO₂ и 100 % влажности в течение 24 ч. Бактериальные суспензии *F. tularensis*, мутантных и исходных штаммов, вносили в лунки с монослоем макрофагов в соотношении 100:1 и выдерживали при температуре 37 °С и 5 % CO₂ в течение 2 ч. От внеклеточных бактерий освобождались, добавляя в культуральную среду 2 мкг/мл гентамицина на 1 ч. Для определения количества бактерий, захваченных макрофагами, через 3 ч после внесения бактерий в лунки добавляли по 0,5 мл 0,05 % раствора дезоксихолата натрия, чтобы лизировать макрофаги. Через 15 мин из лизатов делали высевы на среду FTA. Ту же операцию повторяли через 24 и 48 ч инкубирования бактерий с макрофагами. Подсчет числа живых клеток после посева проводили через 72 ч инкубации при температуре 37 °С. Эффективность размножения оценивали по десятичным логарифмам количества колоний, полученных при высевах лизатов макрофагов через 3, 24 и 48 ч после инфицирования штаммами *F. tularensis*.

Устойчивость к действию нормальной кроличьей сыворотки (НКС). Нормальную кроличью сыворотку получали по стандартной методике, разделяли на аликвоты и хранили при температуре –18 °С. Из свежей агаровой культуры готовили суспензию клеток в 3ФР, с использованием стандарта мутности (ОСО 42-28-85-2012 ФГБУ НЦЭСМП).

Микробные клетки вносили в неразведенную сыворотку до концентрации 2·10⁶ м.к./мл (1/10 часть клеточной суспензии от конечного объема) и инкубировали при 37 °С в течение 24 ч. Концентрацию выживших клеток определяли высевам из соответствующих разведений на среду FTA, содержащую 100 мкг/мл полимиксина В.

Результаты и обсуждение

Ранее нами был разработан метод аллельного обмена в геноме туляреминого микроба [7]. Применение данного метода для делеции гена *iglC* в геноме *F. tularensis* LVS позволило не только получить варианты штамма *F. tularensis* LVS без гена *iglC*, но и показать, что в хромосоме штамма LVS содержатся две копии гена *iglC* [7]. Применение метода аллельного обмена позволило нам получить также два варианта штамма *F. tularensis* 15: *F. tularensis* 15/23-1 – с одной инактивированной копией гена *iglC* и *F. tularensis* 15/23-2 – двумя инактивированными копиями гена *iglC*. На присутствие двух копий гена *iglC* в штамме 15 указывает тот факт, что в штамме 15/23-1 ПЦР анализ с помощью проверочных праймеров 23CF и 23CR выявляет два ампликона размерами ~990 и ~450 п.о., тогда как в штамме 15/23-2 – только ампликон ~450 п.о. (рис. 1).

Для изучения влияния гена *iglC* на микробиологические и иммунологические свойства туляреминого микроба, нами была проведена комплементация

инактивированного гена *iglC* в штамме *F. tularensis* 15/23-2. Для этой цели была использована плазмида pHV33'*iglC*, созданная на основе бактериального вектора pHV33'. Особенностью плазмиды pHV33' является то, что ее можно вводить в клетки туляреминого микроба методами криотрансформации или электропорации, но она крайне нестабильна в этих клетках, вероятно, из-за низкой скорости репликации. Частота интеграции плазмиды pHV33'*iglC* в хромосому штамма *F. tularensis* 15/23-2 при электропорации составляла 4·10⁻⁴ (4 клон на 10⁴ трансформантов). Клоны с интегрированной плазмидой отличались от клонов с автономной плазмидой размером колоний и способностью к пересеву: единичные крупные колонии среди микроколоний, хорошо растущие при пересеве на среду с хлорамфениколом. Клоны с фенотипом Cm^R были проверены в ПЦР с использованием клонирующих праймеров 23SalL15 и 23SalR15. Комплементированные клоны давали синтез двух ампликонов размером 3,0 и 3,6 т.п.о., что соответствует наличию в геноме как делетированного, так и интактного вариантов гена *iglC*. Один из отобранных клонов был обозначен как штамм *F. tularensis* 15/23-2com. При электрофоретическом анализе в ПААГ-SDS геле лизатов клеток штамма *F. tularensis* 15/23-2-com выявлено усиление интенсивности окраски полосы, соответствующей по подвижности белку с молекулярной массой 23 кДа (т.е. молекулярной массе белка IglC) по сравнению с полосой штамма *F. tularensis* 15/23-2 (данные не приведены).

При выращивании на плотной питательной среде FTA штаммов *F. tularensis* 15 и вариантов с одной и двумя делетированными копиями гена *iglC* видимых отличий в скорости роста и морфологии колоний отмечено не было. Также не были отмечены различия в динамике роста бактерий при культивировании на жидкой питательной среде FTV. Время удвоения клеток составляло около 2 ч и лимитировалось содержанием кислорода в культуральной среде.

Инактивация одной и двух копий гена *iglC* в геноме вакцинного штамма туляреминого микроба не изменила его способности сохранять жизнеспособность в НКС по сравнению с исходным штаммом, свидетельствуя о том, что внесенной мутацией не

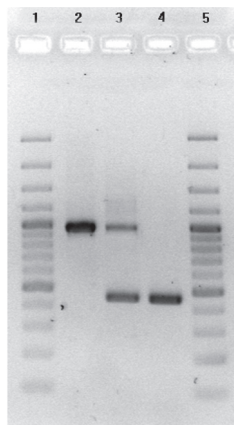


Рис. 1. Электрофореграмма ампликонов, полученных с праймерами 23CL и 23CR и ДНК штаммов *F. tularensis*: 2 – *F. tularensis* 15; 3 – *F. tularensis* 15/23-1; 4 – *F. tularensis* 15/23-2; 1, 5 – маркер GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas, Литва)

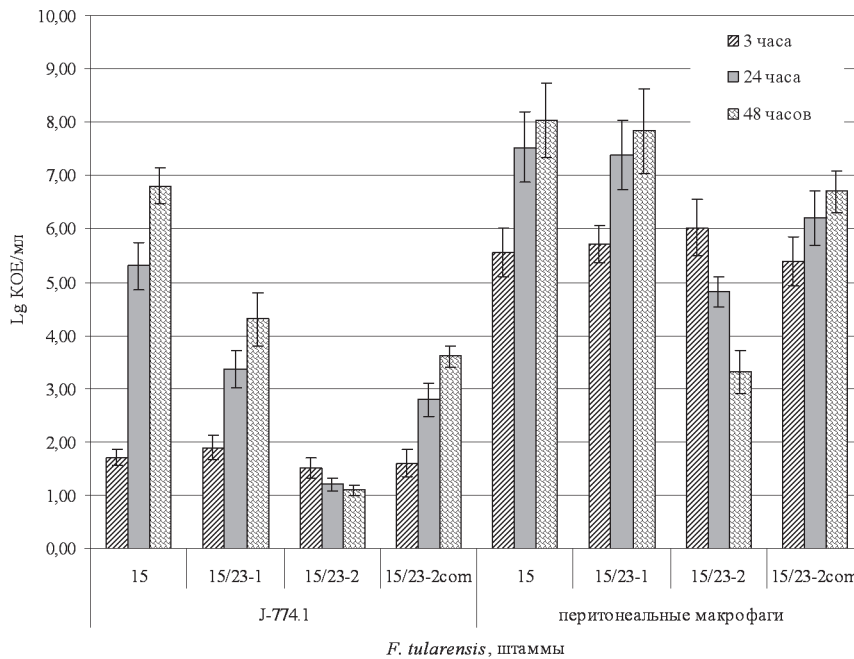


Рис. 2. Влияние гена *iglC* *F. tularensis* на процесс фагоцитоза на моделях макрофагоподобных клеток линии J774.1A и перитонеальных макрофагах мышей линии BALB/c. Макрофаги инфицировались в соотношении 100:1, количество бактерий в макрофагах определялось через 3, 24 и 48 ч после инфицирования; результаты показаны как значение Lg KOE/мл $\pm$ доверительный интервал ($p < 0,05$) по результатам трех независимых экспериментов

были затронуты молекулярные структуры, обеспечивающие устойчивость туляремии микроба к бактерицидным свойствам сыворотки.

Поскольку в хромосоме штамма *F. tularensis* LVS были выявлены две копии гена *iglC* и было показано, что модифицированные штаммы LVS без одной и двух копий гена *iglC* по-разному размножались в макрофагах [7], то нам представлялось интересным изучить влияние данной мутации на способность штамма *F. tularensis* 15 захватываться, выживать и размножаться в клетках линии J774.1A и перитонеальных макрофагах. С этой целью клеточные линии J774.1A и перитонеальные макрофаги были инфицированы штаммами *F. tularensis* 15, 15/23-1, 15/23-2 и 15/23-2com и через 24 и 48 ч было определено количество живых микробных клеток, находящихся в макрофагах (рис. 2).

Данные диаграммы показывают, что вакцинный штамм без одной копии гена *iglC* размножался в клетках J774.1A в 8–10 раз хуже, чем исходный штамм. Инактивация обеих копий гена *iglC* в хромосоме *F. tularensis* 15 привела к появлению варианта, неспособного к внутриклеточному размножению. Способность к внутриклеточному размножению варианта *F. tularensis* 15/23-2 с двумя инактивированными копиями гена *iglC* была частично восстановлена после введения комплементирующей плазмиды, что свидетельствует о важной роли гена *iglC* в процессе размножения в макрофагах (рис. 2).

Для перитонеальных макрофагов был характерен более активный захват бактериальных клеток по сравнению с макрофагоподобными клетками J774.1A, на что указывают результаты высева бактерий из макрофагов через 3 ч после инфицирования (рис. 2). Скорость размножения штаммов *F. tularensis* 15 и *F. tularensis* 15/23-1 в перитонеальных макрофагах через 24 и 48 ч практически не отличалась. Вакцинный штамм без генов *iglC* не размножался в

макрофагах.

Полученные данные подтверждают ранее сделанный вывод о важности гена *iglC* для внутримакрофагального размножения штамма LVS и на примере вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ланин А.А., Павлов В.М., Мокриевич А.Н., Домоменко Л.В., Храмов М.В. Простая жидкая питательная среда для молекулярно-генетических исследований *Francisella tularensis*. Пробл. особо опасных инф. 2009; 4(102):66–7.
2. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. М.: Мир; 1984. 479 с.
3. Миллер Д. Эксперименты в молекулярной генетике. М.: Мир; 1976. 440 с.
4. Ehrlich S.D. DNA cloning in *Bacillus subtilis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1978; 75:1433–6.
5. Ellis J., Oyston P.C.F., Green M., Titball R.W. Tularemia. Clin. Microbiol. Rev. 2002; 15(4):631–46.
6. Golovliov I., Ericsson M., Sandström G., Tärnvik A., Sjöstedt A. Identification of proteins of *Francisella tularensis* induced during growth in macrophages and cloning of the gene encoding a prominently induced 23-kilodalton protein. Infect Immun. 1997; 65(6):2183–9.
7. Golovliov I., Sjöstedt A., Mokrievich A., Pavlov V. A method for allelic replacement in *Francisella tularensis*. FEMS Microbiol. Lett. 2003; 222:273–80.
8. Pavlov V.M., Mokrievich A.N., Volkovoy K. Cryptic plasmid pFNL10 from *Francisella novicida*-like F6168: The base of plasmid vectors for *Francisella tularensis*. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1996; 13:253–56.
9. Pomerantsev A.P., Golovliov I.R., Ohara Y., Mokrievich A.N., Obuchi M., Norqvist A., Kuoppa K., Pavlov V.M. Genetic organization of the *Francisella* plasmid pFNL10. Plasmid. 2001; 46(3):210–22.
10. Rohmer L., Brittnacher M., Svensson K., Buckley D., Haugen E., Zhou Y., Chang J., Levy R., Hayden H., Forsman M., Olson M., Johansson A., Kaul R., Miller S.I. Potential Source of *Francisella tularensis* Live Vaccine Strain Attenuation Determined by Genome Comparison. Infect. Immun. 2006; 74(12):6895–906.
11. Simon R., Priefer U., Pühler A. A broad host range mobilization system for *in vivo* genetic engineering: transposon mutagenesis in Gram-negative bacteria. Biotechnology. 1983; 1:784–91.
12. Sjöstedt A. Tularemia: history, epidemiology, pathogen physiology, and clinical manifestations. Ann. NY Acad. Sci. 2007; 1105:1–29.
13. Woodcock D.M., Crowther P.J., Doherty J., Jefferson S., DeCruz E., Noyer-Weidner M., Smith S.S., Michael M.Z., Graham M.W. Quantitative evaluation of *Escherichia coli* host strains for tolerance to cytosine methylation in plasmid and phage recombinants. Nucleic Acids Res. 1989; 17:3469–78.

References

1. Lapin A.A., Pavlov V.M., Mokrievich A.N., Domotenko L.V., Khramov M.V. [Simple liquid nutrient medium for molecular-genetic investigations of *Francisella tularensis*]. Probl. Osobo Opasn. Infek. 2009; (102):66–7.
2. Maniatis T., Fritsch E., Sambrook J. [Methods of Genetic Engineering. Molecular Cloning]. M.: Mir; 1984. 479 p.
3. Miller D. [Experimentation in Molecular Genetics]. M.: Mir; 1976. 440 p.
4. Ehrlich S.D. DNA cloning in *Bacillus subtilis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1978; 75:1433–6.
5. Ellis J., Oyston P.C.F., Green M., Titball R.W. Tularemia. Clin. Microbiol. Rev. 2002; 15(4):631–46.
6. Golovliov I., Ericsson M., Sandström G., Tärnvik A., Sjöstedt A. Identification of proteins of *Francisella tularensis* induced during growth in macrophages and cloning of the gene encoding a prominently induced 23-kilodalton protein. Infect Immun. 1997; 65(6):2183–9.
7. Golovliov I., Sjöstedt A., Mokrievich A., Pavlov V. A method for allelic replacement in *Francisella tularensis*. FEMS Microbiol. Lett. 2003; 222:273–80.
8. Pavlov V.M., Mokrievich A.N., Volkovoy K. Cryptic plasmid pFNL10 from *Francisella novicida*-like F6168: The base of plasmid vectors for *Francisella tularensis*. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 1996; 13:253–56.
9. Pomerantsev A.P., Golovliov I.R., Ohara Y., Mokrievich A.N., Obuchi M., Norqvist A., Kuoppa K., Pavlov V.M. Genetic organization of the *Francisella* plasmid pFNL10. Plasmid. 2001; 46(3):210–22.
10. Rohmer L., Brittnacher M., Svensson K., Buckley D., Haugen E., Zhou Y., Chang J., Levy R., Hayden H., Forsman M., Olson M., Johansson A., Kaul R., Miller S.I. Potential Source of *Francisella tularensis* Live Vaccine Strain Attenuation Determined by Genome Comparison. Infect. Immun. 2006; 74(12):6895–906.
11. Simon R., Priefer U., Puhler A. A broad host range mobilization system for *in vivo* genetic engineering: transposon mutagenesis in Gram-negative bacteria. Biotechnology. 1983; 1:784–91.
12. Sjöstedt A. Tularemia: history, epidemiology, pathogen physiology, and clinical manifestations. Ann. NY Acad. Sci. 2007; 1105:1–29.
13. Woodcock D.M., Crowther P.J., Doherty J., Jefferson S., DeCruz E., Noyer-Weidner M., Smith S.S., Michael M.Z., Graham M.W. Quantitative evaluation of *Escherichia coli* host strains for tolerance to cytosine methylation in plasmid and phage recombinants. Nucleic Acids Res. 1989; 17:3469–78.

Authors:

Mokrievich A.N., Vakhrameeva G.M., Mironova R.I., Kombarova T.I., Titareva G.M., Kravchenko T.B., Bakhteeva I.V., Dyatlov I.A., Pavlov V.M. State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obolensk.org

Об авторах:

Мокриевич А.Н., Вахрамеева Г.М., Миронова Р.И., Комбарова Т.И., Титарева Г.М., Кравченко Т.Б., Бахтеева И.В., Дятлов И.А., Павлов В.М. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., п. Оболенск. E-mail: info@obolensk.org

Поступила 03.06.13.

A.Rakin

The 11th International Symposium on *Yersinia*: Crowdsourcing and Multilateral Cooperation – the Way to Address Bacterial and Data Challenges

Max von Pettenkofer-Institute, LMU, Munich; Germany

The 11th international Symposium on *Yersinia* was held in Suzhou, China June 24 – June 28, 2013. The meeting was organized by Cold Spring Harbor Asia and arranged by Ruifu Yang, Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, China; Elisabeth Carniel, Institut Pasteur, France; Paul Keim, Northern Arizona University, U.S.A.; and Andrey Anisimov, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia. The Symposium covered different aspects of *Yersinia* physiology, epidemiology, diagnostics, infection and virulence, genomics and other Omics-driven studies. The keynote presentation by William Goldman from the University of North Carolina, U.S.A., briefly summarized the present state of *Yersinia* research and the impact of some outstanding scientists. The special lecture by Nils Christian Stenseth discussed the interplay between ecology and evolution in triple host-vector-pathogen systems using the plague agent, *Y. pestis*, as an example.

One of the most fascinating lectures was done by Joe Hinnebusch who presented new data on possible mechanisms of *Y. pseudotuberculosis* conversion to a flea-borne transmission on its way to the plague agent. He retraced the evolutionary progression of genetic changes that might enable *Y. pseudotuberculosis* to build up a biofilm not in the hindgut but rather in the proventriculus of the flea, ability that is important for *Y. pestis* midgut blockage. Addition of the Ymt phospholipase D by acquisition of the *ymt* gene on a transmissible pFra plasmid is sufficient to allow *Y. pseudotuberculosis* to colonize the midgut. However, modification of at least three other genes (*rcaApe*, PDE2-pe and PDE3pe) was necessary to establish stable *Y. pseudotuberculosis* infection in the flea's midgut. Another enzyme, the urease, demonstrated an acute toxicity for *X. cheopsis* fleas by the enteropathogenic *Yersinia* species, *Y. pseudotuberculosis* and *Y. enterocolitica*. However the gene is silenced in the plague bacillus. Thus, silencing of the insecticidal toxicity of the urease might be an important step in *Y. pseudotuberculosis* adaptation to the flea-borne transmission and a significant step on its road to *Y. pestis*. Such data were presented by Imart Chokha from Joe Hinnebusch's group.

Elisabeth Carniel (Institut Pasteur, Paris, France) continued with the characterization of the impact of genomic sequences differently represented in *Y. pestis* and the enteropathogenic *Y. pseudotuberculosis*. This time she addressed the role of a conserved RfaH regulator that activates known virulence associated genes

like hemolysin and O antigen in *Escherichia coli* and *Salmonella* Typhimurium. However, deletion of the *rfaH* gene in the virulent *Y. pestis* CO92 did not alter its ability to resist against actions of the deoxycholate, sodium dodecal sulfate and polymixin B. Moreover, the mutant retains its ability to withstand the bactericidal activity of the human serum at a same degree as the wild type strain. This greatly suspects the importance of RfaH in *Y. pestis* virulence. Anne Debrise from the same group applied bioluminescence imaging to trace the course of plague infection in live animals. Using the luciferase reporter and the Tn7-based transposon delivery system, they monitored the expression of six different genes (*pla*, *yopE*, *ail*, *cafIM*, *psaA* and *fyuA*) in the murine infection model of bubonic plague. They observed the in vivo sequential expression of *pla*, *yopE*, *ail*, *cafIM*, and *fyuA* but not of the *psaA* promoters from the site of subcutaneous injection to the spleen and liver, and up to terminal septicemic phase. These data once more emphasize the importance of the established virulence genes encoded by the three virulence associated plasmids (pFra, pYV and pPla), and by the High-pathogenicity island, encoding the Yersiniabactin iron acquisition system, and argue against a direct role of *psaA* in *Y. pestis* virulence. The same author reported on the construction of a live attenuated *Y. pseudotuberculosis* strain with an operon encoding the fraction 1 antigen stably integrated into the host chromosome. This strain V674TnF1 stably produces the Fra1 antigen and confers 100 % protection against the bubonic plague after a challenge with 10³ CFU (100 x LD₅₀) of *Y. pestis*. Even a single subcutaneous injection of 10⁷ CFU of the recombinant strain protected 100 % animals against the bubonic plague (challenged with 10⁵ CFU).

The group of Petra Dersch from the Heimholtz Centre for Infection Research, Brunswick, Germany, prepared interesting presentations on virulence regulators in *Y. pseudotuberculosis*. Aaron Nuss monitored temperature-dependent bistability of the pivotal virulence transcriptional global regulator RovA. Barbara Waldmann, using RNA deep sequencing, has done *Y. pseudotuberculosis* transcriptional profiling in different temperature conditions, at environmental (25 °C) and host (37 °C) temperatures. She identified a large number of new putative small RNAs and validated some of them by Northern blotting. Petra Dersch summarized the data in a complex model in which the nucleotide-associated thermosensitive protein YmoA, together with the Csr system (including the small regulatory RNAs CsrB and CsrC and RNA-

binding protein CsrA), represents the central part of a composite regulatory network. This network controls the switching from a RovA-dependent early colonization phase to a pYV virulence plasmid infection phase in order to escape host defenses.

Biofilm formation in *Y. pestis* was addressed in several remarkable presentations. Joanne Purves from the University of Nottingham, United Kingdom, investigated quorum-sensing controlled genes and found that the histidine metabolic regulator HutC acts as a biofilm and motility regulator and provides a link between quorum sensing, virulence and central metabolism in *Y. pseudotuberculosis*. Stephan P. Willias from the University of Texas, Galveston U.S.A. showed that biofilm formation in *Y. pestis* was differentially modulated by the available carbon sources. While glucose inhibited biofilm production, alternative carbon sources supported the production of biofilms. The authors concluded that cAMP receptor protein CRP acts as a critical facilitator of *Y. pestis* and affects biofilm formation. Yi-Cheng Sun from Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, China, addressed the role of two diguanylate cyclases, HmsT and Y3730, responsible for the synthesis of c-di-GMP, a cyclic diguanylate that controls biofilm formation in *Y. pestis*. They proposed that Y3729, that resides in the periplasm and interacts directly with the sensor domain of Y3730, senses the environmental signals and regulates the enzymatic activity of diguanylate cyclase Y3730 and c-di-GMP synthesis and thus biofilm formation.

Mikael Skurnik from the University of Helsinki, Finland, discussed the role of the surface located environmentally-exposed virulence factors: the trimeric auto-transporter adhesion protein YadA, the integral adhesion and invasion outer membrane protein Ail and lipopolysaccharide LPS with structural and endotoxin activity. He described the roles of these surface located structures in complement resistance and sensitivity to phages. Motohiro Matsuura from Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan, addressed modifications of lipid A structure in *Y. pestis* lipopolysaccharide that facilitate bacterial evasion of the human innate immunity. The temperature changes during infection cycles from lower temperatures (external environments or in fleas) to higher temperatures (mammal host) are pretty similar in all pathogenic *Yersinia*. This suggests that the production of a less immunostimulatory form of the LPS during the entry into the mammalian host is conserved in *Yersinia* genus.

Several lectures covered different aspects of metal acquisition systems and transporters in *Yersinia*. Alexander Rakin from Max von Pettenkofer Institute, Munich, Germany, argued against singularity of the yersiniabactin (Ybt) iron uptake system in highly pathogenic *Yersinia* species. While most of *Y. pseudotuberculosis* O1 strains carry the functional *ybt*-cluster, the "outbreak" O1 strains (responsible for the Far East Scarlet-like Fever, FESF), as well as serotype O2, O4 and O5 strains are devoid of these genes, but still demonstrate a siderophore

activity. Two iron acquisition gene clusters are present in *Y. pestis* / *Y. pseudotuberculosis* group: *ynp* and *ysu*, able to encode two additional siderophores, pseudochelin and yersiniachelin, correspondently.

Jacqueline D. Fetherston from University of Kentucky, Lexington, U.S.A., addressed the role of the *yfe*, *feo* and a putative *fetMP* ferrous iron transporters in *Y. pestis*. The authors demonstrated that the *yfe*, *feo* double mutants have a more severe defect in strains with deleted *pgm* locus than in strains containing genes both for the *ybt* synthesis and *fetPM*. They speculate that the Ybt system moderately contributes to iron acquisition under microaerobic growth conditions but does not account for all of it, while the *fetMP* seems to pose a stronger impact on growth in these conditions.

Robert Perry from the same University addressed the role of another metal cofactor required for the enzymatic activity of bacterial and eukaryotic cells, zinc. Although zinc is toxic at high concentrations, maintaining zinc homeostasis is essential for survival and defense of bacteria in mammalian hosts. Previously they have reported on a *Y. pestis* *znu* mutant that lacks the ZnuABC high-affinity zinc uptake system. However, a deletion *pgm*, *znu* double mutant demonstrated a more pronounced growth defect in a low Zn containing medium than a *znu* parent strain. Moreover, the authors revealed that the double mutant is seriously attenuated in septicemic mouse model of plague compared to the parent strain with a deleted *pgm* locus. From this the authors concluded that the chromosomal *pgm* locus might encode an additional high-affinity Zn uptake system.

Virginia Miller from the University of North Carolina at Chapel Hill, U.S.A., studied the early events in bubonic plague post inoculation of *Y. pestis* into the skin and trafficking to the draining lymph nodes and spleen. They applied a dissemination assay with 9 nucleotide oligo tagged strains to outline a window of opportunity for plague bacillus dissemination and define whether *Y. pestis* passes through a bottleneck on its pathway to the spleen. They determined that only few tagged strains could be found in the spleen of the infected animals. Thus, *Y. pestis* indeed passes through a bottleneck on its peripheral route from skin through lymph nodes to the spleen. However, the state of *Y. pestis* population tagged with 9 nucleotide oligos and possible influence of such manipulation on the final results cannot be excluded.

An Israel group of Emanuelle Mamroud was interested in the cross talk between the lung and the bone-marrow at early stages of another plague form, a pneumonic plague. They showed that intranasal infection of mice with a fully virulent *Y. pestis* strain was sensed early after infection by the bone-marrow compartment, indicating a potential cross-talk between the lung and the bone-marrow already at the early stages of pneumonic plague. Both *Y. pestis* and soluble antigens were detected in the late stages in bone-marrow.

The group of Deborah Anderson from the University of Missouri, Columbia, U.S.A., established a pneumonic

plague model in Brown Norway Rats that closely mimics a human disease. In such model they compared the natural disease history caused in animals challenged with low (5×10^3) and high (5×10^5) *Y. pestis* doses within 3 days. The authors defined very high frequency of hydronephrosis, which is a common incidental finding in aged Brown Norway Rats and founded that bacteremia was not always present and nearly 40% of rats in high dose group demonstrated no clinical signs before being found dead.

Juergen Heesemann has presented interesting data on different murine innate immunity systems mechanics to *Y. enterocolitica* ssp. *enterocolitica* infection. They demonstrated three different levels of susceptibility to *Yersinia* infection in a set of knock-out mice: highly-resistant group, wild-type resistant group and high-susceptibility group. The degree of *Yersinia*-resistance correlated with the immigration rate of neutrophils and concentration of G-CSF, KC, IL-1a and MIP-2 within the first 24 hours post infection. The highly sensitive mice responded with a delay of 24 hours post infection compared with the highly resistant and wild-type resistant groups. Also, *Yersinia* invasion of the spleens of highly sensitive mice resulted in overwhelming *Yersinia* growth with evident destruction of the tissue architecture.

James Bliska from the Stony Brook University, NY, U.S.A., described their recent progress in understanding a dual nature of the virulence factors by studying the type 3 secretion system. They concentrated on the role of the protective epitope of the GTPase-activating protein YopE and its contribution to adaptive immunity against *Y. pseudotuberculosis* and possible interactions with other effectors.

Ake Forsberg from the Umea University, Sweden, described the intracellular targeting of virulence type 3 effectors in the absence of pore formation in his presentation. He presented further evidences against an out-of-date simplified model describing the T3SS mediated targeting exclusively by pore formation in the host cell membranes. He also further demonstrated the involvement of the protective LcrV antigen in the early delivery of the T3SS effectors to their respective targets.

There were multiple presentations concerning epidemiology aspects of *Yersinia* and *Yersinia*-caused diseases. Interesting data on genetic diversity, epidemiological features and distribution of pathogenic *Yersinia* were presented by Andrey Anisimov, from the State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russia; Mark Achtman from the University College Cork, Republic of Ireland; Alzira M.P. Almeida from the Centro de Pesquisas Aggeu Magalhaes, Brazil; Minoarisoa M. Rajerison from the Institut Pasteur de Madagascar, Madagascar; Waldemar Rastawicki from the National Institute of Public Health-National Institute of Hygiene, Poland; Huaiqi Jing from the Chinese Center for Disease control and Prevention, Beijing, China; Alan McNally from the Nottingham Trent University, United Kingdom, David M. Wagner from the Northern Arizona University, U.S.A. and in numerous poster pre-

sentations.

Several presentations dealt with paleogenetics. Holger Scholz from the Bundeswehr Institute of Microbiology, Munich, Germany, in cooperation with scientists from Germany, U.S.A. and Norway, tried to answer the question whether *Y. pestis* was the real agent of the Justinianic Plague of the 6th-8th centuries 541 – 767 A.D. They were able to confirm the presence of the *Y. pestis* sequences in the tooth samples of the human skeletal remains from the Early Medieval cemetery 6th – 7th century in Aschheim near Munich. The findings appear to confirm that *Y. pestis* might be really responsible for the Justinianic Plague. However, the question about how the plague arrived in southern Germany remains open.

Also Kirstin Bos from the University of Tuebingen, Germany, address a genomic reconstruction of *Y. pestis* from archaeological populations using next generation sequencing biased against longer fragments compared to PCR. They coupled whole genome array-based target enrichment with next generation sequencing and reconstructed *Y. pestis* draft genome from London, England, 1348-1350. Because the authors reconstructed the ancient genome using an extant *Y. pestis* CO92 they were not able to identify the regions of differences that may be existed in the ancient isolate but later lost in modern strains. However even the draft genome sequence let the researchers recognize the lack of nucleotide differences between the medieval and modern bugs. Thus the question about what contributed to high mortality of the Black Death still remains. Whether it was climate, changes in vector population, different genetic susceptibility of the host population, or con-current disease and human behavior is not known and these questions remain till now without answers. To mention, de novo reconstructed ancient *Mycobacterium leprae* genomes did not significantly differ from modern *M. leprae* strains from patient biopsies (Schuenemann V.J., *et al.*, 2013). Thus such questions whether the ancient strains were more or less virulent or a simple improvement in sanitation results in eradication of these deadly diseases remain unanswered.

Sandra Reuter from the Wellcome Trust Sanger Institute, Cambridge, United Kingdom, together with her collaborators from Finland, France, Ireland and U.K., used whole genome sequencing approach to delineate the gene complement of *Yersinia* genus and define the patterns of virulence evolution. They determined genomic sequences of more than 100 strains of both pathogenic and environmental *Yersinia* and analyzed 85 housekeeping genes that allowed them to define more than 6000 SNPs. The authors concluded that, contrary to a popular view on pathogenic *Yersinia* species sharing a common pathogenic ancestor, *Yersinia* have evolved independently following parallel evolutionary paths in acquiring the same virulence determinants (like independent acquisition of the pYV virulence plasmid happened on multiple occasions) and limiting their metabolic repertoire (e.g. mutations in *cob/pdu*, *cel* and *ttr* operons

known to be important in evolution of host specificity in *Salmonella*). However, a possible origin and donor of the pYV plasmid remains unclear.

The motto of the 11th international Symposium on *Yersinia* can be defined as “crowdsourcing and multi-lateral cooperation to react to the challenges of today”. This was clearly expressed by Ruifu Yang from Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, China. He attracted the attention of the Symposium to the necessity of creating an international consortium that will practices Open Source genomics and Crowdsourcing analysis in order to address the big data challenge by modern biological science. He mentioned that it is the right time to establish a comprehensive open database for *Yersinia* that includes the increasing number of genomic, transcriptomic, proteomic, metabolomics, phenomic and interactomic data. Only cooperation of different institutions and Genome Analysis Crowdsourcing allowed fast identification and characterization of the new rapidly evolved *E. coli* O104:H4 clone responsible for the deadly outbreak in Germany (<https://github.com/>

ehc-outbreak-crowdsourced/BGI-data-analysis/wiki). Emergence of such a strain once more demonstrates the constant flexibility of bacterial genomes and necessity of wide international cooperation in combating the challenges of Mother Nature.

The next, 12th Symposium on *Yersinia* is supposed to take place in Tbilisi, Georgia, in three years. Looking forward to meet you in Tbilisi!

References

1. *Yersinia* 11: The 11th international symposium on *Yersinia*. Abstracts of papers presented at the 2013 Cold Spring Harbor Asia Conference, June 24 – June 28, 2013. Cold Spring Harbor Laboratory, 2013.
2. Schuenemann V.J., Singh P., Mendum T.A., Krause-Kyora B., Jäger G., Bos K.I., Herbig A., Economou C., Benjak A., Busso P., Nebel A., Boldsen J.L., Kjellström A., Wu H., Stewart G.R., Taylor G.M., Bauer P., Lee O.Y., Wu H.H., Minnikin D.E., Besra G.S., Tucker K., Roffey S., Sow S.O., Cole S.T., Nieselt K., Krause J. Genome-wide comparison of medieval and modern *Mycobacterium leprae*. *Science*. 2013; 341(6142):179–83.

Authors:

Rakin A. Max von Pettenkofer-Institute, LMU, Pettenkofer str. 9a, 80336 Munich, Germany. E-mail: rakin@mvp.uni-muenchen.de

УДК 616.9

А.Ракин

11-й Международный симпозиум по чуме: Привлечение широкой общественности и многостороннее сотрудничество как способ борьбы с бактериальными инфекциями и решения проблемы недостатка информации в данной области

Институт Макса фон Петтенкофера, Мюнхен, Германия

11-й международный симпозиум по чуме проходил в г. Сучжоу, провинция Цзянсу, Китай, в период с 24 по 28 июня 2013 г. Мероприятие было организовано Cold Spring Harbor Asia, в его подготовке участвовали Р. Янг – Пекинский институт микробиологии и эпидемиологии, Китай; Э. Карниэл – Пастеровский институт, Франция; П. Кейм – Университет штата Северная Аризона, США; а также А. Анисимов – Государственный научно-исследовательский центр прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия. Симпозиум был посвящен различным аспектам физиологии, эпидемиологии, диагностики чумного микроба, путей инфицирования человека и вирулентности патогена, геномики и других направлений биологической науки, рассматривающих всю совокупность соответствующих объектов организма в структурно-функциональной взаимосвязи. Установочная отчетная презентация была выполнена У. Голдманом, Университет Северной Каролины, США, и представляла собой краткий обзор современной ситуации в области изучения *Yersinia*, а также содержала сведения о вкладе выдающихся ученых современности в решение данной научной проблемы. В рамках целевой лекции Н. К. Стенсета рассматривался вопрос о взаимосвязи экологии и эволюции в трехкомпонентной системе хозяин-переносчик-патоген на примере возбудителя

чумы, *Y. pestis*.

Кроме того, одну из наиболее интересных лекций прочел Дж. Хинебуш, в которой содержались новые данные о возможных механизмах конверсии *Y. pseudotuberculosis* в возбудитель чумы. Он отследил эволюционное становление генетических изменений, давших возможность *Y. pseudotuberculosis* формировать биопленку не в задней кишке, а в преджелудке блохи. Эта способность очень важна для образования в последующем блока в средней кишке. Присоединение Ymt фосфолипазы D, путем приобретения трансмиссионной pFra плазмидой гена ymt достаточно для того, чтобы *Y. pseudotuberculosis* могла колонизировать среднюю кишку, однако, только дополнительная модификация, по крайней мере, трех других генов (*rcsApe*, PDE2-pe и PDE3pe) могла бы послужить основой персистенции *Y. pseudotuberculosis* в средней кишке блохи. Фермент уреазы у энтеропатогенных видов *Yersinia*, а также у *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, остро токсичен для блох *X. cheopsis*. Однако же у чумного микроба данный ген находится в подавленном состоянии, следовательно «выключение» гена отвечающего за инсектицидную токсичность могло бы являться важным шагом на пути превращения *Y. pseudotuberculosis* в трансмиссионный переносимый блохами вид и стать значительным шагом на пути к трансформации в

Y. pestis. Эти данные были любезно предоставлены группой исследователей под руководством Хинбуша, а в частности Имартом Коха.

Э. Карниэл продолжила работу симпозиума, охарактеризовав геномные последовательности и их функциональную составляющую, по-разному представленные у *Y. pestis* и энтеропатогенной *Y. pseudotuberculosis*. В этот раз она обратила внимание слушателей на роль консервативного RfaH регулятора, активирующего уже известные отвечающие за вирулентность гены, такие как гемолизин и О-антиген у *Escherichia coli* и *Salmonella Typhimurium*. Наиболее интересным представился тот факт, что утрата гена rfaH вирулентным штаммом *Y. pestis* CO92 не повлияла на его устойчивость к воздействию дезоксиохла, додецил сульфата натрия и полимиксина В. Более того, этот мутант сохранил способность подавлять бактерицидную активность человеческой сыворотки в той же степени, что и штаммы дикого типа. Это указывало на значимость белка RfaH для проявления признака вирулентности у *Y. pestis*.

Анна Дебри, входящая в эту же группу исследователей, применила биолюминисцентную интроскопию, чтобы отслеживать течение инфекционного процесса у живых животных. Изучая работу репортерной системы люциферазы и системы доставки Tn7-зависимого транспозона, проводили мониторинг экспрессии 6 различных генов (*pla*, *yopE*, *ail*, *cafIM*, *psaA* и *fyuA*) на модели мышей, зараженных бубонной чумой. В ходе эксперимента наблюдалась последовательная экспрессия *pla*, *yopE*, *ail*, *cafIM*, и *fyuA* генов *in vivo*, при отсутствии таковой среди промоторов *psaA*, в местах постановки подкожной инъекции в области селезенки и печени. Исследования продолжали вплоть до конечной септической стадии. Полученные результаты подтвердили функциональную значимость вышеуказанных генов вирулентности, кодируемых тремя плазмидами, обуславливающими признак вирулентности (pFga, pYV и pPla), и островом высокой патогенности, отвечающим за работу системы усвоения железа Yerseniabactin. Однако они оспорили предположение о том, что вирулентность *Y. pestis* напрямую зависит от гена *psaA*. В дополнение к этому А. Дебри доложила о получении живого аттенуированного штамма *Y. pseudotuberculosis*, содержащего оперон, кодирующий антиген фракции 1, прочно интегрировавшийся в хромосому хозяина. Данный штамм V674TnF1 стабильно продуцирует антиген F1 и дает 100% защиту от бубонной чумы после заражения 10^3 КОЕ (100 ЛД_{50}) *Y. pestis*. Даже единичная подкожная инъекция 10^7 КОЕ рекомбинантного штамма защищала животных, инфицированных 10^5 КОЕ, от бубонной чумы на 100 %.

Группа под руководством Петры Дерч из Центра по исследованию инфекционных заболеваний им. Геймгольца, Германия подготовила ряд интересных презентаций на тему регуляторы вирулентности у *Y. pseudotuberculosis*. Эрон Нас провел наблюдение за температуро-зависимой бистабильностью базового

транскрипционного глобального RovA регулятора вирулентности. Барбара Уолдмен составила транскрипционный профиль *Y. pseudotuberculosis* в различных температурных условиях – окружающей среды (25 °C) и организма хозяина (37 °C) на основе глубокого РНК секвенирования. Она идентифицировала большое количество новых небольших предполагаемых РНК и провела их паспортизацию методом нозерн-блоттинга. Сама Дерч обобщила полученные данные, разработав комплексную модель, в которой нуклеотид-ассоциированный термочувствительный белок YmoA, наряду с Csr системой (включая и небольшие регуляторные CsrB и CsrC рибонуклеиновых кислот, а также РНК-связывающий белок CsrA) составляют центральную часть сложной (композиционной) регуляторной сети. Эта сеть контролирует переход от фазы RovA-зависимой ранней колонизации к фазе инфицирования с участием плазмиды вирулентности pYV, чтобы обойти иммунную защиту организма.

Вопрос об образовании биопленки у *Y. pestis* рассматривался в нескольких заслуживающих внимания презентациях – работы Джоан Пёрвз, Стивена П. Уильямса, Йи-Чен Сана и др. Джоан Пёрвз из Ноттингемского Университета, Великобритания исследовала контролируемые чувством кворума гены. Она обнаружила, что регулятор обмена веществ, HutC, контролирующий выработку гистидина, выступает в роли регулятора, отвечающего за контроль над формированием биопленки, и регулятора подвижности, образуя звено между массовыми коммуникационными ощущениями у бактерий, вирулентностью и важнейшими метаболизмами у *Y. pseudotuberculosis*. Стивен П. Уильямс из Техасского Университета, г. Галвестон, США показал, что образование биопленки у *Y. pestis* избирательно модулируется из доступных источников углерода. В то время как выработку биопленки запускает глюкоза, дополнительные альтернативные углеродные источники обеспечивают поддержание стабильности процесса. Авторами был сделан вывод о том, что рецепторный белок cAMP выступает в качестве обеспечивающего жизнеспособность *Y. pestis* в критических условиях белка и оказывает определенное влияние на процесс образования биопленки у данных бактерий. Йи-Чен Сан – представитель Китайской Академии медицинских наук и Пекинского объединенного Медицинского Колледжа, доложил о роли двух дигуанилат циклаз, HmsT и Y3730, ответственных за синтез c-di-GMP – циклического дегинилата, контролирующего образование биопленки у *Y. pestis*. Было выдвинуто предположение о том, что Y3729 находящийся в периплазме и напрямую взаимодействующий с доменом сенсора Y3730, распознает сигналы из окружающей среды и соответствующим образом контролируют ферментативную активность Y3730 и синтез c-di-GMP, а как следствие и процесс формирования биопленки.

М. Шкурник из университета г. Хельсинки,

Финляндия, рассмотрел роль поверхностных подвергающихся воздействию окружающей среды факторов вирулентности, таких как триметрический адгезивный белок-автотранспортер *YadA*, интегральный адгезивный и инвазивный белок внешней мембраны *Ail* и липополисахарид *LPS*, обладающий структурной и эндотоксиновой активностью. Он раскрыл функционал этих поверхностных структур в отношении комплементарной устойчивости и чувствительности к фагам. Матахиро Мацуура из Киотского Университета, Высшая школа медицины, г. Киото, Япония, осветил вопрос, касающийся трансформаций структуры липида *A* в липополисахариде *Y. pestis*, которые развивают бактериальную способность уклоняться от механизмов врожденного иммунитета человека. Температурные колебания при смене различных циклов развития инфекции от низких температур (во внешней среде или организме блохи) к высоким (млекопитающее) фактически одинаковы у всех патогенных *Yersinia*. Это свидетельствует о том, что свойство продуцировать менее интенсивно иммуностимулирующий вид липополисахарида *LPS* в фазу попадания в организм млекопитающего, заложено в геном *Yersinia*.

Несколько лекций охватывали различные аспекты, связанные с изучением системы усваивания железа и транспортеров *Yersinia*. Например, А. Ракин из Института им. Макса фон Петтенкофера, Мюнхен, Германия, привел доводы против сингулярности системы поглощения железа *yersiniabactin* (*Ybt*) среди высокопатогенных видов *Yersinia*. В то время как большинство штаммов *Y. pseudotuberculosis* O1 содержат в геноме функциональный *ybt*-кластер, «вспышечные» штаммы O1 (вызывающие Дальневосточную пурпурную лихорадку, ДПЛ), также как и штаммы, относящиеся к O2, O4 и O5 серотипам, лишены этих генов, но тем не менее проявляют сидерофорную активность. В группе *Y. pestis* / *Y. pseudotuberculosis* представлены два кластера генов, отвечающие за усвоение железа: *unp* и *usu*, способные кодировать два дополнительных сидерофора, таких как псевдоцелин и йерсиниацилин, соответственно.

Жаклин Д. Фетерстон из Университета штата Кентукки, Лексингтон, США, обратила внимание присутствующих на роль генов *yfe*, *feo* и базовых переносчиков двухвалентного железа *fetMP* у *Y. pestis*. Было показано, что в группе *yfe*, *feo* двойных мутантов штаммы с делетированным *pgm* локусом характеризуются наличием более серьезного дефекта, чем штаммы, содержащие гены, ответственные за синтез *ybt*, и *fetPM*. Авторы предположили, что *Ybt* система лишь незначительно способствует усвоению железа в условиях микробного роста, а не полностью обуславливает данный процесс, в то время как *fetPM* оказывает куда более существенное влияние на рост и развитие при аналогичных условиях.

Роберт Перри, также представитель Университета штата Кентукки, Лексингтон, США обратился к во-

просу о роли другого сопутствующего процессу усвоения железа фактора, необходимого для стимулирования ферментативной активности бактериальных эукариотических клеток, цинка. Хотя в больших концентрациях цинк токсичен, поддержание цинкового гомеостаза – неотъемлемое условие для выживания и защиты бактерий при нахождении в организме хозяина. Ранее авторы докладывали о мутанте *Y. pestis znu*, лишенном высокоаффинной *ZnuABC* системы поглощения цинка. Но при исследовании двойного мутанта с *pgm*, *znu* делецией обнаружилось, что последний обладает более ярко выраженным дефектом роста, чем родительский штамм *znu* при нахождении в среде с низким содержанием цинка. Более того, авторы выяснили, что двойной мутант в значительной степени аттенуируется при проведении экспериментов на септицемической модели чумы у мышей в сравнении с родительским штаммом с делетированным *pgm* локусом. Таким образом, авторы заключили, что именно хромосомная *pgm* область могла бы быть кодирующей областью дополнительной высокоаффинной системы поглощения цинка.

Вирджиния Миллер из Университета Северной Каролины в Чапел-Хилл, США, изучила ранние проявления чумы от заражения путем введения в кожу и до попадания в дренирующие лимфатические узлы и селезенку. Применяли тест на диссеминацию возбудителя с использованием линейки маркированных 9 олигонуклеотидами штаммов для того, чтобы выявить возможности для распространения чумных бактерий и определить проходят ли *Y. pestis* через «бутылочное горлышко» до попадания в селезенку. Было установлено, что лишь немногие маркированные штаммы выявлялись в селезенке инфицированных животных, что говорило в пользу наличия стадии резкого сокращения численности при распространении по пути «кожное введение – лимфатические узлы – селезенка». Однако влияние состояния популяции *Y. pestis*, маркированной 9 олигонуклеотидами, и манипуляции как таковой на конечный результат эксперимента исключать нельзя.

Группа израильских ученых под руководством Эмануэля Мамруда занималась изучением проблемы взаимодействия между легкими и костным мозгом на ранних стадиях развития другой формы чумы – легочной. Они показали, что наличие возбудителя при интраназальном заражении мышей вирулентным штаммом *Y. pestis* в отделах костного мозга обнаруживалось фактически сразу после инфицирования, что свидетельствует в пользу взаимобмена между легкими и костным мозгом уже на ранних стадиях болезни. На поздних стадиях в костном мозге детектировались как клетки *Y. pestis*, так и растворимые антигены.

Группа Деборы Андерсон из Университета Миссури, Колумбия, США, отработала модель развития легочной чумы у серых крыс, которая практически полностью воспроизводит течение болезни у человека. В рамках данного эксперимента по моде-

лированию проводили сравнение развития болезни в природных условиях у животных, инфицированных малой ($5 \cdot 10^3$) и высокой ($5 \cdot 10^5$) дозами *Y. pestis* в течение трех дней. Регистрировались частые случаи развития гидронефроза, что является распространенной случайной находкой у старых особей. Кроме того, наличие микробов в крови выявлялось лишь иногда, и практически у 40 % крыс, инфицированных повышенной дозой *Y. pestis*, вообще не обнаруживалось никаких клинических симптомов вплоть до момента смерти.

Юрген Хеесман предоставил интересные данные о различных механизмах ответа врожденной иммунной системы мышей на *Y. enterocolitica* подвид энтероколита. Были рассмотрены три степени восприимчивости к инфицированию *Yersinia* среди группы нокаутных мышей: низкая степень восприимчивости, дикий тип и высокая степень. Показатель сопротивляемости соотносился со скоростью миграции нейтрофилов и концентрацией G-CSF, KC, IL-1a и MIP-2 в течение первых суток после заражения. Иммунным ответом мышей, обладающих высокой чувствительностью, была отложенная на сутки пост-инфекция, в сравнении с мышами, обладающими низкой чувствительностью и чувствительностью дикого типа. В дополнение к этому у мышей с высокой чувствительностью прорастание *Yersinia* в селезенку сопровождалось ускоренным ростом бактерий и становилось причиной ярко выраженных разрушений архитектуры тканей.

Джеймс Блиска из Университета им. Стоуни Брука, Нью-Йорк, США, рассказал об успехах, достигнутых ими в понимании двойственности природы факторов вирулентности при изучении системы секреции третьего типа. Они сконцентрировали свое внимание на роли протективного эпитопа GTP-активирующего белка, YopE, и его влиянии на работу адаптивного иммунитета в ответ на *Y. pseudotuberculosis*, а также возможных путях взаимодействия с другими эффекторами.

Айк Форсберг из Университета г. Умео, Швеция, в своей презентации представил данные по внутриклеточному направлению эффекторов вирулентности третьего типа в отсутствие процесса порообразования. Были представлены новые доказательства против применения устаревшей упрощенной модели, описывающей T3SS-опосредованное наведение только лишь за счет порообразования в клеточных мембранах. Автор также продемонстрировал процесс вовлечения протективного LcrV антигена в доставку T3SS эффекторов к соответствующим мишеням на ранних этапах.

Было выполнено несколько презентаций, затрагивающих эпидемиологические аспекты *Yersinia* и заболеваний, вызванных ими. Вызывающие интерес данные о генетическом разнообразии, эпидемиологических особенностях и распространении патогенных *Yersinia* были представлены Андреем Анисимовым из Государственного научно-иссле-

дательского центра прикладной микробиологии и биотехнологии, Оболенск, Россия; Марком Ахтманом из Колледжа университета Корк, Ирландия; Альзирой М. П. Альмеда, Бразилия; Миноаризоа М. Райерсон из Пастеровского института, Мадагаскар; Вольдемаром Раставицки из Национального института здравоохранения и гигиены, Польша; Уаки Йинг из Центра по контролю над заболеваемостью, Пекин, Китай; Аланом МакНелли из Ноттингемского Университета, Великобритания; Дэвидом М. Вагнером из Университета Северной Аризоны, США, а также стендовых сообщений и докладов.

Ряд презентаций были посвящены палео-генетике.

Гольгер Шольц из Института микробиологии, г. Мюнхен, в сотрудничестве с исследователями из Германии, США и Норвегии, попытался ответить на вопрос о том, являлся ли патогенный агент *Y. pestis* реальным возбудителем Юстинианской чумы 6–8 вв., 541–767 гг. н.э. Ученым удалось выявить присутствие последовательностей ДНК *Y. pestis* в образцах останков зубов скелета человека, сохранившихся со времен раннего средневековья, в захоронениях датированных 6–7 вв. на Ашхаиме, неподалеку от Мюнхена, что представило еще один аргумент в пользу *Y. pestis*. Однако вопрос о том, как чума была занесена на территорию южной Германии, остается открытым.

Кирстен Бос, из Университета Тюбнгена, Германия, решила задачу реконструкции генома *Y. pestis*, полученного в ходе проведения археологических раскопок, применив методику секвенирования следующего поколения, заточенную под более длинные/обширные фрагменты ДНК по сравнению с ПЦР. Сочетая полногеномное матричное направленное обогащение и вышеупомянутый метод, она смогла воспроизвести «черновой» геном *Y. pestis* добытый из образцов, датированных 1348–1350 гг., Лондон, Англия. Виду того, что за основу был взят ныне существующий штамм *Y. pestis* CO92, выявить области несовпадений, которые могли бы присутствовать у античного изолята, но в последующем быть утерянными, не удалось. Однако, при анализе даже «черновой» последовательности генома ученые отметили отсутствие большого числа различий между средневековым и современным микроорганизмами. Поэтому вопрос о том, что послужило причиной высокой смертности населения от «Черной смерти» остается нераскрытым. Были ли это климатические факторы, изменения численности переносчиков заболевания, различия в степени генетической предрасположенности к заболеванию организма хозяина, или сочетанные заболевания и поведенческие особенности людей, неизвестно; все они остаются на сегодняшний день без адекватного ответа. Стоит отметить также, что заново реконструированные геномы *Micobacterium leprae* лишь в незначительной степени отличаются от геномов современных штаммов *Micobacterium leprae*, изолированных от пациентов

при проведении биопсии (Schuenemann V.J. и соавт, 2013). И поэтому вопрос о том были ли античные штаммы более или менее вирулентными, или простое улучшение санитарных условий ухода за больными привело к ликвидации этих смертоносных болезней, также остается невыясненным.

Сандра Рютер из Института Сейнджера, Кембридж, Великобритания, вместе с партнерами из Финляндии, Франции, Ирландии и Великобритании, применила метод полногеномного секвенирования для определения набора генов рода *Yersinia* и выявления механизмов и путей эволюции фактора вирулентности. Были идентифицированы геномные последовательности более чем 100 штаммов, как патогенных, так и находящихся в окружающей среде *Yersinia*. Проводился анализ 85 генов жизнеобеспечения, которые позволили бы охарактеризовать более чем 6000 ОНП. Авторами был сделан вывод о том, что *Yersinia* проходили стадии эволюции независимо друг от друга, развиваясь параллельно, но по различным эволюционным направлениям, приобретая одни и те же детерминанты вирулентности (как, например, автономное приобретение плазмиды вирулентности pYV, произошедшее ввиду различных обстоятельств), и сокращая число комбинаций изменений связанных с обменом веществ (например, мутаций в оперонах *sov/pdu*, *cel* и *ttr*, которые имеют важное значение для эволюции фактора специфичности по отношению к хозяину у *Salmonella*), что противоречит общепринятому мнению в отношении патогенных видов *Yersinia*, которые, как считается, произошли от одного общего предка. В тоже время, возможные варианты происхождения pYV плазмиды остаются неизученными.

11-й Симпозиум по чуме прошел под эгидой «Привлечение широкой общественности и многостороннее сотрудничество как способ адекватного реагирования на возникающие проблемы современности». Эта же тема красной строкой проходила в докладе Р. Янга из Пекинского Института микробиологии и эпидемиологии, Китай. Он обратил внимание слушателей на необходимость созыва международного консорциума, целью которого будет создание бес-

платного программного обеспечения для проведения исследований в области геномики и анализа данных от краудсорсинга. Это позволило бы решить проблему недостатка информированности в контексте современных биологических наук. Кроме того, Р. Янг в своем сообщении сказал о том, что пришло время формировать общую открытую развернутую базу данных по *Yersinia*, которая бы охватывала все расширяющийся спектр знаний в области геномики, транссимптомики, протеомики, науки о метаболизмах, феномики и интерактомики. Только пойдя по пути объединения усилий различных учреждений и проведения краудсорсинга в отношении геномного анализа, можно будет незамедлительно выявлять и идентифицировать вновь возникающие со стремительной скоростью болезни, как те, что были вызваны клоном *E. coli* O104:H4, и стали причиной смертельной вспышки на территории Германии в недавнем прошлом (<http://github.com/ehc-outbreak-crowdsourced/BGI-data-analysis/wiki>). Появление такого штамма ещё раз наглядно продемонстрировало колоссальную пластичность бактериального генома и подняло вопрос о необходимости налаживания всестороннего международного сотрудничества для борьбы с испытаниями, которые посылает нам Мать Природа.

Следующий 12-й Симпозиум по чуме планируется проводить в Тбилиси, Грузия по прошествии трех лет. С нетерпением ждем встречи в 2016 году!

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Yersinia* 11: The 11th international symposium on *Yersinia*. Abstracts of papers presented at the 2013 Cold Spring Harbor Asia Conference, June 24 – June 28, 2013. Cold Spring Harbor Laboratory, 2013.
2. Schuenemann V.J., Singh P., Mendum T.A., Krause-Kyora B., Jäger G., Bos K.I., Herbig A., Economou C., Benjak A., Busso P., Nebel A., Boldsen J.L., Kjellström A., Wu H., Stewart G.R., Taylor G.M., Bauer P., Lee O.Y., Wu H.H., Minnikin D.E., Besra G.S., Tucker K., Roffey S., Sow S.O., Cole S.T., Nieselt K., Krause J. Genome-wide comparison of medieval and modern *Mycobacterium leprae*. Science. 2013; 341(6142):179–83.

Об авторах:

Ракин А. Институт Макса фон Петтенкофера. Мюнхен, Германия.
E-mail: rakin@mvp.uni-muenchen.de

Поступила 23.07.13.

Рецензия на монографию С.В.Балахонова, М.В.Чесноковой, Е.И.Андаева, С.А.Косилко, А.Я.Никулина «Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита АТЭС-2012» / под ред. акад. РАМН Г.Г.Онищенко. – Новосибирск: «Наука-Центр»; 2013. – 419 с.

В состав авторского коллектива монографии, помимо ведущих сотрудников Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, входит большая группа ученых и специалистов Роспотребнадзора.

Организация крупных международных форумов имеет свои особенности, связанные с привлечением больших коллективов к их подготовке и прибытием многочисленных гостей из разных регионов мира, что повышает риски возникновения серьезных осложнений в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия как участников, так и жителей прилегающих населенных мест. Специфика саммита АТЭС-2012 заключалась в том, что местом его проведения был определен Владивосток, не имевший достаточного опыта организации и подготовленной базы для столь масштабных международных мероприятий. Работа форума должна была проходить на территории о. Русский, где необходимо было заново создать всю необходимую инфраструктуру. Были развернуты беспрецедентные по объему строительные работы, в ходе которых требовалось обеспечить соответствие возводимых объектов и будущих эксплуатационных технологий строгим санитарным требованиям. С целью предупреждения возникновения инфекционных заболеваний необходимы были осуществление многоплановых научных исследований текущей эпидемиологической обстановки, выработка прогноза, плана мероприятий по недопущению осложнения ситуации. Выполнение всего большого комплекса профилактических мероприятий нуждалось в координации действий санитарно-эпидемиологической службы с властными структурами, различными ведомствами и организациями. Все эти важнейшие аспекты подготовки и санитарно-эпидемиологическое сопровождение саммита нашли подробное освещение в монографии.

Структурно работа включает пять глав, дающих цельное представление о проблеме: специфике подобных мероприятий, особенностях места проведения, осуществлении государственного санэпиднадзора на этапе подготовки и проведения саммита, медицинском и противоэпидемическом обеспечении участников форума и местного населения. Изложение материалов монографии предваряет вступительная статья «от редактора», в которой академик РАМН Г.Г.Онищенко подчеркивает важность разработки концепции эффективного проведения мероприятий по предотвращению угроз здоровью и обеспечению максимально безопасных условий для участников,

зрителей, обслуживающего персонала, волонтеров и местных жителей в ходе крупных международных форумов.

В главе 1 «Основные направления и принципы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения при проведении массовых международных мероприятий на территории Российской Федерации» авторы приводят ряд положений, характеризующих особенности противоэпидемической работы в данных специфических условиях. Под массовыми международными мероприятиями понимают запланированные события религиозного, спортивного, культурного, политико-экономического характера, когда число участников превышает 25 тыс. человек, а продолжительность колеблется от нескольких часов до нескольких дней и недель. В таких условиях повышаются эпидемиологические риски. Обеспечение санитарно-эпидемиологической безопасности достигается на основе принципов комплексности, системности и приоритетности ведущих в данной ситуации задач. Процесс подготовки к крупному международному мероприятию может быть условно разделен на три основных этапа: аналитический, организационно-методический, практический. Первый этап связан с анализом инфекционной заболеваемости и санитарно-гигиенической обстановки, а также имеющихся медицинских и противоэпидемических сил и средств в месте проведения мероприятия. Второй – с организацией центра управления (штаба), разработкой детальных планов его работы и механизмов реализации. Третий – практический этап сводится к контрольно-надзорным мероприятиям, лабораторному обеспечению, созданию комплекса профилактических мер и планов на случай возникновения чрезвычайных ситуаций.

Глава 2 «Медико-географическая характеристика места проведения АТЭС» посвящена подробному описанию местоположения, рельефа, природных условий, административно-хозяйственной структуры, демографических данных, флоры и фауны о. Русский. Отмечается, что следствием длительного закрытого режима острова является высокий уровень биоразнообразия, слабая антропогенная трансформация островных ландшафтов. Исследованиями подтверждены и получены новые данные об обитании шести видов кровососущих комаров и пяти – иксодовых клещей, а также большого разнообразия их прокормителей, являющихся резервуаром природно-очаговых трансмиссивных и нетрансмиссивных инфекций.

Подробно описана эпидемиологическая ситуация во Владивостоке и на о. Русский за период 2001–2010 и 2011–2012 гг. Во Владивостоке ситуация по всем инфекционным болезням в 2011 г. была оценена как неблагополучная (рост на 8,2 % по сравнению со среднемноголетним уровнем), а без учета ОРВИ и гриппа – как обычная. По паразитарным болезням – как благоприятная. В 2012 г. эпидемиологическая обстановка по сумме инфекционных и паразитарных болезней расценивалась как обычная. На о. Русский заболеваемость населения инфекционными и паразитарными болезнями была признана ординарной.

Государственный надзор по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения на этапе подготовки к саммиту АТЭС-2012 (глава 3) осуществляли органы и организации Роспотребнадзора, здравоохранения Приморского края во взаимодействии с Федеральной службой охраны РФ, Медицинским Управлением делами Президента РФ и региональными противочумными учреждениями. В главе описана работа штаба и рабочей группы, созданных при Управлении Роспотребнадзора по Приморскому краю для координации деятельности по подготовке к проведению саммита. Штаб работал в тесном контакте с Администрациями Приморского края и Владивостока, департаментами и управлениями администраций, региональным центром МЧС России. Был выработан «План мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия, биологической, химической и радиационной безопасности в период подготовки и проведения саммита АТЭС (2012 г.) на 2010–2012 гг.». Приводится большой перечень рассмотренных на различных совещаниях вопросов, по которым были приняты решения. Регулярно осуществлялся контроль за реализацией поставленных задач. Был приведен в готовность Региональный центр индикации и лабораторной диагностики инфекционных болезней при Хабаровской противочумной станции, проведены учения СПЭБ Иркутского противочумного института по эпидемиологической разведке и индикации возбудителей при угрозе ЧС биологического характера с водным путем передачи. Управлением Роспотребнадзора организован надзор за водоснабжением объектов саммита на соответствие требованиям СанПиН, предъявляемым к питьевой воде. В регулярном режиме осуществлялась оценка качества воды в мониторинговых точках. Было показано, что недостатки в организации централизованного водоснабжения на о. Русский являются основной проблемой обеспечения санэпидблагополучия в местах проведения саммита. В результате взаимодействия с Администрацией Приморского края, Дальневосточной Дирекцией Министерства регионального развития РФ, генеральным подрядчиком в целях улучшения ситуации были приняты решения о подключении дополнительных источников питьевой воды. Приводятся обширные материалы по надзору за объектами проживания участников и гостей сам-

мита, объектами питания и предприятиями пищевой промышленности. Важными вопросами в ходе подготовки к форуму были организация деятельности по санитарной охране территории и противоэпидемической готовности учреждений здравоохранения, а также обеспечение мониторинга состояния факторов окружающей среды и объектов саммита.

Обширные научные данные представлены по разделу «Организация и проведение эпизоотолого-эпидемиологического мониторинга во Владивостоке и на о. Русский в отношении опасных и природно-очаговых инфекций». Осуществлен мониторинг вибриофлоры поверхностных водоемов и морской акватории. Оценка результатов исследований и современной ситуации по холере в эндемичных странах обосновывала необходимость проводимого системного микробиологического мониторинга вибриофлоры объектов окружающей среды с обязательной углубленной характеристикой биологических свойств изолируемых культур микроорганизмов рода *Vibrio*, а также надзора за системами водоснабжения и водоотведения. Эпидемиологический надзор в отношении природно-очаговых болезней включал организацию эпизоотологического обследования, исследования зараженности иксодовых клещей вирусом клещевого энцефалита, боррелиями, риккетсиями, возбудителями моноцитарного эрлихиоза и гранулоцитарного анаплазмоза, изучение иммуноструктуры населения. Проведенная интегрированная оценка риска заражения людей инфекциями, передаваемыми иксодовыми клещами, привела к выводу о возможности контактов людей с инфицированными переносчиками на территории о. Русский, в т.ч. непосредственно вблизи объектов саммита. Обследование территории острова в отношении фауны двукрылых показало, что личинки комаров обнаружены в 9 водоемах из 23, однако анофилогенных не выявлено. На основании проведенных комплексных исследований были разработаны и осуществлены мероприятия по снижению рисков возникновения чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера. Результатом проведенной дератизации зданий и сооружений явилось отсутствие в них грызунов. Также с целью уменьшения численности прокормителей иксодовых клещей дератизация проведена на территориях, где были зафиксированы переносчики клещевых инфекций. На этих же участках были сделаны акарицидные обработки. По данным акаро-энтомологического обследования клещи на территории, подвергнутой обработке, отсутствовали.

Глава 4 посвящена медицинскому и противоэпидемическому обеспечению участников, гостей и обслуживающего персонала саммита. Отмечается, что в строительстве объектов саммита участвовали более 50 юридических лиц с количеством работающих более 10000 человек, в том числе 5000 иностранных граждан. Привлекаемые к строительным работам лица, прибывшие из регионов РФ и из-за рубежа, пользовались всеми правами граждан, проживаю-

щих в Приморском крае. Медицинское обеспечение их осуществлялось в общем порядке, включая бесплатную медицинскую помощь. Круглосуточная первичная медико-санитарная помощь участникам, гостям и обслуживающему персоналу саммита оказывалась по участковому принципу, а в ночное время и выходные дни – силами Станции скорой помощи Владивостока. Обеспечение саммита также проводилось пятью ЛПО Владивостока. С целью определения медицинской помощи при выявлении инфекционных и паразитарных заболеваний были разработаны методические указания по тактике проведения диагностических, профилактических и лечебных мероприятий в очагах инфекции. Против вирусного гепатита, брюшного тифа, клещевого энцефалита был вакцинирован персонал, работа которого сопряжена с риском заражения. Проведен расчет и создан необходимый запас медицинских иммунобиологических препаратов.

В заключительной 5-й главе представлены материалы по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия в период проведения саммита АТЭС-2012. Решались следующие основные задачи: контроль и оценка оперативной эпизоотолого-эпидемиологической ситуации во Владивостоке и на о. Русский; лабораторный мониторинг объектов саммита, окружающей среды, пищевых продуктов; лабораторная диагностика особо опасных инфекций; усиление эпиднадзора за холерой; взаимодействие с медицинской службой Приморского края. Своевременное проведение комплекса противоэпидемических мероприятий позволили предотвратить среди участников, гостей и обслуживающего персонала саммита распространение острых кишечных инфекций. Не отмечено случаев инфекционных и паразитарных заболеваний, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории РФ.

Таким образом, разработанная и реализованная тактика обеспечения санитарно-эпидемиологического сопровождения саммита АТЭС-2012, основанная на координации и взаимодействии Управления Роспотребнадзора и Центра гигиены и эпидемиологии Приморского края, Иркутского противочумного института, Приморской и Хабаровской противочумных станций, ЦББ УМО ФСО России и Управления делами Президента РФ показала высокую эффективность. В период подготовки и проведения саммита были полностью решены задачи предупреждения осложнений эпидемиологической ситуации и заложены основы будущего эпидемиологического благополучия кампуса Дальневосточного федерального университета, для которого предназначался возведенный на о. Русский комплекс зданий и сооружений.

В заключение делается предположение о возможности использования приобретенного опыта при планировании и организации крупных международных мероприятий в других субъектах Российской Федерации. С этим тезисом нельзя не согласиться, познакомившись с той огромной по масштабам, разнотрановой, отлично организованной и скоординированной работой, изложению которой посвящена монография. Нет сомнений, что этот ценный опыт будет в дальнейшем востребован организаторами новых международных форумов. Этому будет способствовать и объемное приложение, которое содержит копии документов, вскрывающие механизмы практической деятельности большого отряда специалистов, обеспечивших решение одной из важнейших задач в составе сложного комплекса организационных мер при подготовке и проведении столь значимого для нашей страны и ее международного престижа мероприятия.

Академик РАМН В.И.Злобин

ЛИКВИДАЦИЯ НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ: ЛИДИРУЮЩАЯ РОЛЬ И ВКЛАД РОССИИ

*Предисловие Г.Д. Сулейманова,
советника-эпидемиолога ВОЗ
в Пакистане и Эфиопии в 1970–1974 гг.*

Последний случай натуральной оспы был обнаружен в октябре 1977 г. в Сомали, а в мае 1980 г. Всемирная Ассамблея Здравоохранения провозгласила мир свободным от оспы.

Это величайшее историческое достижение стало возможным благодаря совместной работе многих стран мира, усилиям нескольких сотен международных специалистов и десятков тысяч местных работников здравоохранения в эндемичных странах, объединенных под эгидой Глобальной программы ликвидации оспы ВОЗ.

В связи с приближающейся 55-й годовщиной предложения, выдвинутого проф. В.М.Ждановым от лица советской делегации на Всемирной Ассамблее Здравоохранения о создании этой программы, я попросил доктора Д.Хендерсона, который руководил на протяжении 11 лет мероприятиями по ликвидации оспы, дать оценку вклада России. Он любезно согласился и вскоре прислал свой отзыв. Поскольку я был непосредственным участником описываемых Д.Хендерсоном событий, я счел возможным дополнить его. Так, к числу проблемных по натуральной оспе стран, несомненно, следует отнести также Пакистан и Эфиопию, искоренение оспы в которых позволило решить проблему в глобальном масштабе. Список советских специалистов, участников Программы, необходимо дополнить именами братьев Быченко, Г.Облапенко, В.Феденева, Ю.Кривды и В.Мухопода, а также А.Громыко и Г.Николаевского, работавших под началом Д.Хендерсона в штаб-квартире ВОЗ и в Индии. Касательно вклада самого Д.Хендерсона в ликвидацию оспы хочу отметить, что основной его заслугой стал решительный отказ от стратегии массовой вакцинации населения эндемичной страны, реализуемой до этого ВОЗ и показавшей свою несостоятельность. Он применил новую, трехкомпонентную, тактику борьбы, а именно: своевременное обнаружение очага – его локализация – надежное оздоровление. По сути, сотрудники Программы ВОЗ, помимо повседневной работы в очагах занимались построением адекватной системы эпиднадзора за инфекцией. В итоге, по прошествии 10 лет от начала Интенсивной Фазы, как стала обозначаться Глобальная Программа, все шесть эндемичных стран, а с ними и весь мир, освободились от оспы.

**От редакции.* Приведенный далее (стр. 88) перевод статьи Д.А.Хендерсона любезно предоставлен Г.Д.Сулеймановым.

SMALLPOX ERADICATION Russian Leadership And Contributions 23 april 2013*

D.A.Henderson, MD, MPH, WHO Chief Medical Officer for Smallpox Eradication 1966–1977, Professor of Medicine and Public Health, University of Pittsburgh, Johns Hopkins University Distinguished Service Professor and Dean Emeritus

On this, the 33th year of freedom from smallpox, I am pleased to send my greetings and personal congratulations to Russian friends and former colleagues on the occasion of the publication of your new book on the history of smallpox – and on the celebration of the world's 33th year without smallpox. Although my comprehension of Russian is nil, I have paged through my copy. It is clearly a substantial effort and well-illustrated. It is a most important addition to the written history of the eradication program as I don't believe Russia's contributions have been as fully reflected in written history as they should be. Thus, I would like to summarize for you some of my personal reflections in hopes that it will be helpful as you celebrate this important event.

From my vantage point, the most important question is simply: Would there have been a WHO global smallpox program if Professor Zhdanov and Soviet delegates had not persistently and persuasively argued for it at every World Health Assembly from 1958 until 1966? Personally, I don't believe so! A global campaign to eradicate smallpox had been approved in 1959 as a result of the advocacy of Professor Zhdanov and USSR delegates. However, the WHO budget provided for only a few staff members and some support to help a few small developing countries. Persistent requests by the USSR and a number of other countries for a larger, more adequate budget were ignored. Meanwhile, WHO remained preoccupied with a massive and costly global malaria eradication campaign. Contributions for smallpox brought few donations except from the Soviet Union which provided significant quantities of vaccine to India, Afghanistan and perhaps other countries during the period of 1958 and 1966.

In 1965, as I understand it, delegates to the World Health Assembly decided that the time had come to undertake a more serious examination of the implications of a smallpox eradication program and asked the Director General to prepare a comprehensive report for the 1966 Assembly. A small committee of WHO staff and consultants were convened to work on the plan. I was one who was asked to participate. The result was a 10 year program that envisaged a much larger budget as well as increased donations from member countries. The strategy called for a vaccination program to assure 80 % vaccination immunity in all countries and the development of surveillance and containment of outbreaks to begin

at the same time as increased vaccination activities. The Director General recommended that \$2.4 million be allocated from the WHO budget and that contributions be solicited from all countries.

At the Assembly, it was generally recognized (so I was told) that if the plan was rejected, the smallpox eradication initiative would cease. The question of whether or not to accept the Director General's plan led to three days of debate and finally a vote. Those opposed to the program had several reasons:

1) Some argued that the eradication of any disease was impossible and this was being shown by the malaria program which was in its 11th year and was proving to be more difficult and far more costly than any had estimated.

2) An increased WHO budget meant that all country contributions would increase and this they did not want.

3) Some believed that eradication meant that every person on earth would have to be vaccinated and they knew that this was impossible. A vote was finally taken: a total of 58 votes in support of the Director General's proposed program would be necessary for WHO to proceed. If it received less, the smallpox program was ended. Sixty (60) delegates voted to adopt the plan for a stronger program. Without the USSR initiative in advocating the program in 1958 and persistently arguing for it every year, it is doubtful in my mind that there would have been a WHO global smallpox eradication program.

I met Vice Minister Dr. Dmitriy Venediktov very soon after becoming director of the program. He was extremely cordial, very intelligent and most helpful in solving a variety of problems. He told me that his colleagues had inquired about my experience and training and were satisfied that I was a satisfactory choice. He promised full support of the USSR for the program. At least twice each year thereafter (Executive Board and World Health Assembly), I met with him and others on the delegation to discuss the problems that we were experiencing and a discussion of how the USSR could help. I pointed out the need for more Russian epidemiologists for the program. I sought young scientists who were able to cope with the rigors of field work. A good knowledge of English would also be necessary as that was the most widely spoken language in the countries where we needed to work. Dr. Venediktov proposed that I come to Moscow to participate with him in interviewing candidates – and this I did. Many outstanding Russian epidemiologists joined the program. I met and talked with a number in the field and, although I traveled extensively, it was not possible to meet all our field staff. However, I should mention a few Russians with whom I became better acquainted and whose names I can recall (and spell) after so many years – Lev Khodakevich, Gassan Suleimanov, Vladimir Federov, Yuri Ghendon, Genadiy Marchenko, Yuriy Rikushin, Yuroslav Selivanov, Anatolij Slepushkin, and Ludmilla Chicherukina. I was especially impressed by their work in Afghanistan, India, Bangladesh, and Somalia.

I cannot say enough good things about Svetlana Marennikova and the work of her laboratory. I should point out first that Svetlana had participated constructively in every WHO Expert Smallpox Committee. No

one was more knowledgeable of smallpox and smallpox virology than Svetlana. Two laboratories accounted for most of the research and diagnostic studies for the global program. One was the CDC laboratory in Atlanta but the larger and more broadly skilled was the one directed by Svetlana and her staff at the Institute for Virus Preparations in Moscow. They identified the first human cases of Monkeypox, they rapidly processed a steady stream of field specimens, they oversaw vaccine quality, and traveled to vaccine production laboratories in a number of countries to facilitate the development of their vaccine production. Nelja Maltseva was especially good and played an important role in obtaining the unique day-by-day pictures which show the evolution of the smallpox rash on a Pakistani boy. There are many pictures of smallpox patients but the series that Nelja helped to organize are virtually unique and appear now in color in the book, *Smallpox and Its Eradication*. Emma Shelukhina was another staff member whom I remember well.

The greatest need we had in the program was for adequate supplies of fully potent freeze-dried vaccine. The Soviet Union's contribution of large quantities of such vaccine was the only hope for successful programs. We estimated a need for 300 million doses per year by 1969–70. Vaccine prepared in this manner could withstand tropical temperatures without loss of potency. Until the 1950s, most countries throughout the world were using a so-called "lymph vaccine" that remained potent for only a few days at normal summer temperatures. Most laboratories that were endeavoring to provide freeze-dried vaccine could produce only a few million doses per year. Only the Soviet Union and the U.S. had the capacity to produce large quantities of the vaccine.

Both made major contributions but those from the Soviet Union were several times greater. From 1967 to 1980, 300 million doses of Russian vaccine were provided via WHO to many different countries. Between 1960 and 1967, at least this amount was provided to India alone as it struggled to get an effective program started.

Last but not least was Dr. Ivan Ladnyi. When I became Chief Medical Officer, he had just begun service as the WHO Smallpox Regional Advisor for Eastern and Southern Africa. Despite having no help from the African Regional Office (in fact, the reverse), he had undertaken to stimulate eradication programs throughout Eastern Africa and despite the fact there were WHO smallpox staff in only two countries and few WHO resources to assist any of the programs, he succeeded in stimulating activities to the extent that all were virtually smallpox free within a four year period. I begged Dr. Venediktov to find some way to permit his assignment to be extended for several more years. He tried but was unsuccessful. He asked that I write a strong letter of recommendation and he would try to renew Ladnyi's assignment to WHO within a year. I wrote the letter but was surprised to learn that he had been appointed to a responsible senior position in Moscow and could not be spared. He did not remain in Moscow very long before Director General Halfdan Mahler approached the government to ask that he be permitted to return to WHO as Assistant Director General. Soon he arrived in Geneva but this time as my

boss. We worked well together but we had only a short time before I departed Geneva to become Dean of the Johns Hopkins School of Public Health. Ladnyi became a co-author of what is now spoken of as the most important history of the smallpox program. It is regrettable that Ivan died at such an early age as he had the potential to make even more important contributions.

I suspect that there are those in Russia, like some in America, who have forgotten how important smallpox was to the world. One well-known medical historian has called its eradication, one of the greatest achievements of the entire past century. Many countries have celebrated the achievement with medals and special symposia. I have participated in several and in many instances the audience has stood and applauded. What everyone especially appreciates is that all countries had joined together in a momentous effort that was truly a victory for mankind.

My congratulations and best wishes to all my Russian colleagues.

Ликвидация натуральной оспы: лидирующая роль и вклад России 23 апреля 2013 г.

Д.А.Хендерсон, профессор медицины, Почетный декан и Заслуженный профессор Университета Джонса Хопкинса, Питтсбург, США; Главный медицинский инспектор Программы ВОЗ по ликвидации натуральной оспы (1966–1977 гг.)

В эту 33-ю годовщину свободы от натуральной оспы мне приятно послать мои приветствия и личные поздравления моим русским друзьям и бывшим коллегам по случаю выхода в свет вашей новой книги, посвященной истории натуральной оспы. Хотя мои знания русского языка практически равны нулю, я тщательно ознакомился с присланным мне экземпляром книги. Совершенно очевидно, что эта хорошо иллюстрированная книга представляет собой действительно серьезную работу. Книга эта является крайне важным дополнением к опубликованной ранее ВОЗ истории Программы, так как я не уверен, что в этом издании русский вклад представлен достаточно достойно, как это следовало бы сделать. Поэтому мне хочется вкратце поделиться с вами некоторыми личными воспоминаниями в надежде, что они окажутся уместными в момент, когда вы отмечаете годовщину важного события. Мое нынешнее положение позволяет дать простой ответ на самый главный вопрос. Могла ли Программа ликвидации оспы вообще появиться, если бы проф. Жданов и другие советские делегаты упорно и систематически не настаивали бы на ее необходимости на каждой сессии ВАЗ в период с 1958 по 1966 год? Лично я так не думаю! Глобальная Программа ликвидации оспы была принята к исполнению в 1959 г. благодаря усилиям проф. Жданова и других советских делегатов. Однако выделенных при этом средств хватило лишь на наем нескольких сотрудников Программы и небольшую помощь некоторым из слабо развитых стран. Настойчивые требования СССР и ряда других стран о выделении необходимого бюджета игнорировались.

В этот период ВОЗ была вовлечена в дорогостоящую массовую Глобальную Программу ликвидации малярии. Финансирование же проблемы оспы ограничивалось лишь несколькими добровольными пожертвованиями, за исключением Советского Союза, предоставившего значительные количества вакцины в период с 1958 по 1966 год Афганистану, Индии, а может быть, и другим странам. В 1965 г. делегаты ВАЗ решили, как я это себе представляю, что наступил момент переосмыслить значение различных факторов, влияющих на эффективность Программы ликвидации оспы, и предложили Генеральному Директору подготовить всеобъемлющий отчет к Ассамблее 1966 г., для чего был создан небольшой комитет. Среди участников данной Ассамблеи (как мне объяснили впоследствии) превалировало мнение, что в случае неприятия отчета продолжения программы ликвидации оспы не будет. Вопрос принять или отвергнуть отчет Гендиректора обсуждался в течение трех дней и завершился голосованием. Те, кто противился принятию отчета, выдвинули ряд аргументов:

- часть из них утверждала, что ликвидация любой инфекции невозможна, как это продемонстрировала Программа ликвидации малярии, проводимая уже 11-й год и которая оказалась более трудной и более дорогостоящей, чем это мог кто-либо представить;

- требуемое увеличение бюджета ВОЗ означало соответствующее увеличение странами их регулярных взносов, а они были против этого;

- некоторые делегаты считали, что для ликвидации инфекции необходима вакцинация каждого жителя Земли, и они знали, что это невозможно.

По завершении дискуссии провели голосование: для того, чтобы утвердить предложенную Гендиректором Программу требовалось не менее 58 голосов в ее поддержку. Если бы число голосов оказалось меньше, Программа по оспе прекратила бы свое существование. Шестьдесят (60) делегатов проголосовали за предложенное усиление Программы. Без инициативы, с которой в 1958 г. выступил СССР и его настойчивых действий в последующий период в ее защиту, я сомневаюсь, чтобы Глобальная Программа ликвидации оспы вообще была бы создана.

Я познакомился с Зам. Министра д-ром Дмитрием Бенедиктовым вскоре после моего назначения Директором Программы. Он оказался очень сердечным, очень интеллигентным и оказывал всегда поддержку при решении бесчисленных проблем. Он мне рассказывал, что другие его коллеги расспрашивали об уровне моей подготовки, квалификации и впоследствии оказались крайне довольны, сделав удачный выбор при утверждении кандидата на пост Руководителя. Он заверил меня в полной поддержке Программы Советским Союзом.

Мы встречались с ним и другими членами советской делегации, как минимум, дважды в год (на Исполкомах и Всемирных Ассамблеях Здравоохранения) для разрешения возникающих проблем и обсуждения возможной помощи со стороны Советского Союза. Я настаивал на необходимости более широкого участия русских эпидемиологов в

Программе. Мне необходимы были молодые ученые, способные выдержать тяжелейшие условия работы в полевых условиях. Непременным условием также было хорошее знание английского языка, так как он являлся языком общения в странах, где им предстояло работать. Д-р Венедиктов предложил мне посетить Москву и принять вместе с ним участие в отборе кандидатур, и я это сделал. В результате к Программе присоединилась большая группа выдающихся русских эпидемиологов. Впоследствии, я встречался и общался с целым рядом из них в полевых условиях, и хотя мне приходилось много передвигаться по миру, но встретиться со всеми было невозможно. Однако я должен выделить несколько русских, с которыми мне удалось познакомиться близко и чьи имена я могу вспомнить (и написать) столько лет спустя: Лев Ходакевич, Гассан Сулейманов, Владимир Федоров, Юрий Гендон, Геннадий Марченко, Юрий Рыкушин, Ярослав Селиванов, Анатолий Слепушкин и Людмила Чичерукина. На меня особое впечатление произвела их деятельность в Афганистане, Индии, Бангладеш и Сомали. Мне трудно подобрать достаточно подходящие выражения, когда я вспоминаю Светлану Маренникову и работу ее лаборатории. Прежде всего, мне хочется отметить конструктивное участие Светланы в каждом заседании Комитета Экспертов ВОЗ по оспе. Ей не было равных по компетентности в вопросах вирусологии оспы. Для Глобальной Программы исследования проводились, главным образом, в 2 лабораториях. Одна находилась в Центре борьбы с болезнями в Атланте, а другая, более высокого профессионального уровня, возглавляемая ею, — в Институте вакцин и сывороток в Москве. Именно здесь был идентифицирован первый случай оспы обезьян, а весь поступающий с поля материал для диагностики оперативно обрабатывался. Кроме того, сотрудники лаборатории контролировали качество вакцины, а также посетили несколько стран для оказания помощи в налаживании в них производства собственной вакцины. Нелля Мальцева сыграла важную роль в получении серии фотографий развития элементов сыпи у больного пакистанца. Вообще-то можно найти много фото больных оспой, но полученные усилиями Нелли являются уникальными. Другим сотрудником лаборатории, которого я хорошо помню, была Эмма Шелухина.

Серьезной проблемой для Программы являлось поступление в необходимых количествах высокоэффективной лиофилизированной вакцины. Единственную надежду на успех Программа возлагала на стабильные поставки такой вакцины большими объемами из СССР. По нашим оценкам, за период 1969–1970 гг. ее ежегодные потребности равнялись 300 млн доз. Вакцина, получаемая методом лиофилизации, могла выдерживать температуры тропиков без потери эффективности. До 50-х годов большинство стран мира производило так называемую «лимфатическую» вакцину, сохранявшую свой потенциал всего лишь несколько дней при нормальных летних температурах. Большинство лабораторий, пытавшихся наладить производство лиофилизированной вакци-

ны, могли выпускать ее в объемах, не превышающих несколько миллионов доз в год. Только СССР и США были в состоянии производить вакцину в больших количествах. Это они и делали, но поставки из СССР были в несколько раз выше, чем из США. С 1967 по 1980 год 300 млн доз русской вакцины были направлены через ВОЗ в различные страны. Между 1960 и 1967 гг., как минимум, это же количество поставили в Индию, пытавшуюся организовать действенную Программу в своей стране.

И, наконец, последним, но далеко не худшим, хочется вспомнить д-ра Ивана Ладного. Почти одновременно с моим назначением на пост Главного врача Глобальной Программы он приступил к работе в качестве Регионального Советника ВОЗ по оспе для Восточной и Юго-Восточной Африки. При отсутствии поддержки со стороны Регионального Бюро ВОЗ (фактически — противодействию) он сделал все возможное для оживления деятельности ликвидационных мероприятий в странах региона. Несмотря на то, что сотрудники ВОЗ находились только в двух из них и материальная поддержка ВОЗ этим странам была весьма ограничена, он добился такого уровня интенсивности мероприятий, что через четыре года весь регион от оспы освободился. Я умолял д-ра Венедиктова найти возможность продления контракта д-ра Ладного еще на несколько лет. Он пытался, но безуспешно. Д-р Венедиктов посоветовал, чтобы я написал убедительное рекомендательное письмо, а он постарался бы через год возобновить этот контракт с ВОЗ. Такое письмо я направил, но, к своему удивлению, узнал, что д-р Ладный уже назначен на ответственный пост в Москве и поэтому в ВОЗ командирован быть не может. На своем посту в Москве он пробыл недолго, до момента, когда Гендиректор ВОЗ д-р Халфдан Малер обратился к правительству СССР с просьбой вернуть его в ВОЗ в качестве своего Помощника. Вскоре д-р Ладный появился в Женеве, но уже в качестве моего босса. Мы с ним продолжали плодотворно взаимодействовать, однако через короткий промежуток времени уже я покинул Женеву в связи с утверждением меня в должности декана Школы общественного здравоохранения Университета Джона Хопкинса. Ладный стал одним из соавторов фундаментальной истории ликвидации натуральной оспы. Прискорбно, что Иван так рано скончался, так как он имел все предпосылки к еще большим достижениям. Я подозреваю, что в России, равно как и в Америке, есть люди, запомнявшие, что значила натуральная оспа для всего человечества. Один широко известный историк медицины оценил ее ликвидацию как величайшее достижение всего прошедшего столетия. Во многих странах это событие отпраздновали выпуском памятных медалей, специальными съездами. Я участвовал в нескольких из них и во множестве случаев присутствующие на них стоя приветствовали ветеранов аплодисментами. Всех особенно восхищает, что все страны мира для достижения цели объединились в едином порыве. И это воистину стало победой всего человечества.

Мои поздравления и наилучшие пожелания всем моим русским коллегам.

К 150-ЛЕТИЮ АЛЕКСАНДРА ИЕРСИНА

22 сентября 2013 г. исполнилось 150 лет со дня рождения выдающегося французского бактериолога Александра Иерсина (Alexandre Emile John Yersin), в 1894 г. выделившего и описавшего чумной микроб. А.Иерсин родился в Швейцарии, образование получил в Академии Лозанны, Университете Марбурга и на медицинском факультете Парижского университета. В 1888 г. А.Иерсин защитил докторскую диссертацию по экспериментальному туберкулезу. В этом же году он стал ассистентом доктора Эмиля Ру, ученика Луи Пастера, в недавно созданном Институте Пастера. Вместе они открыли дифтерийный токсин, что в последующем позволило создать антитоксину-вую сыворотку и анатоксин.

С 1890 г. А.Иерсин работал во Французском Индокитае, сначала корабельным врачом, а с 1892 г. – в медицинской службе Министерства колоний Франции. За 1892–1894 гг. Иерсин совершил три экспедиции по не исследованным ранее районам Индокитая, внося большой вклад в изучение медицинской географии и этнографии региона.

В июне 1894 г. А.Иерсин прибыл в Гонконг по заданию Министерства колоний Франции для исследования вспышки чумы. Здесь, исследуя содержимое бубона больного чумой, он выделил и описал возбудитель этой болезни, названный им *Pasteurella pestis*. В августе 1894 г. А.Иерсин представил свое открытие в журнале «Анналы Института Пастера». Одновременно с Иерсином в Гонконге с аналогичной миссией находился Ш.Китазато, известный микробиолог и врач, ученик Р.Коха. Свои данные по изучению микроорганизма, выделенного им из крови и органов умерших от чумы, Ш. Китазато представил в журнале «Ланцет». Не все исследователи приняли идентичность бактерий, выделенных А.Иерсиным и Ш.Китазато. Следующие 80 лет среди ученых и историков медицины длился диспут о том, кого же считать первооткрывателем возбудителя чумы. Наиболее распространенным признано мнение, что кровь, которую Ш.Китазато использовал для обнаружения возбудителя, оказалась контаминированной *Streptococcus pneumoniae*.

Во время гонконгской вспышки Иерсину удалось также выделить чумной микроб от крыс. В 1897 г. им было высказано предположение о возможности сохранения чумного микроба в почве. Можно с уверенностью утверждать, что развитие

эпизоотологии чумы как науки стало возможным только после описания возбудителя чумы Иерсином и установления значения крыс как резервуаров этого патогена.

По завершении своей миссии в Гонконге Иерсин обосновался в городе Нячанге, где в 1895 г. основал филиал Сайгонского института Пастера. В июне 1896 г. он успешно испытал разработанную им совместно с А.Кальметтом и А.Боррелем противочумную сыворотку: из 23 больных чумой, леченных этой сывороткой, 21 человек выжил. Однако результаты использования этой сыворотки в Британской Индии, куда Иерсин поехал на вспышку чумы, не подтвердили ее эффективность. В 1900 г. на XIII Международном медицинском конгрессе в Париже Иерсин и Симон представили совместное сообщение, посвященное различным аспектам изучения чумы.

Параллельно А.Иерсин занимался изучением заболеваний крупного рогатого скота. Он выделил вирус чумы КРС и начал производство сыворотки. Много усилий вложил Иерсин в борьбу с малярией. Созданные им плантации хинного дерева позволили наладить производство хинина в Индокитае. В 1902 г. Александр Иерсин основал Медицинский институт в Ханое и был его директором в течение 2 лет, затем возглавил Институт Пастера в Индокитае.

Во Франции выдающиеся заслуги А.Иерсина во многих областях получили достойное признание: он был избран членом Академии медицинских наук, Академии наук, Академии колониальных наук. После смерти Эмиля Ру в 1933 г. Иерсин был назначен Почетным директором Института Пастера в Париже. Он принимал участие в его общих ежегодных собраниях до 1940 г.

Врач, бактериолог, исследователь и агроном Александр Иерсин до конца жизни увлекался теоретическими и прикладными науками, всем тем, что требовало больших усилий ума. Скромный и застенчивый, он наслаждался уединением, его быт был устроен настолько просто, что его можно сравнить только с бытом монаха. Он умер в Нячанге 1 марта 1943 г. (где и был похоронен), окруженный любовью и почитанием местных жителей, которым он постоянно дарил свое тепло и заботу.

Доктор биологических наук А.А.Слудский, кандидат медицинских наук Л.М.Куклева

К 150-ЛЕТИЮ ВЛАДИМИРА ИВАНОВИЧА ВЕРНАДСКОГО

Для России 2013 г. стал знаменательным – исполнилось 150 лет со дня рождения гениального русского ученого, выдающегося философа и мыслителя, основоположника геохимии, биогеохимии, радиогеологии и учения о биосфере, Академика Академии наук СССР, талантливого политического и государственного деятеля Владимира Ивановича Вернадского. В связи с этим событием решением ЮНЕСКО 2013 г. объявлен годом Вернадского в России.

Деятельность Вернадского оказала огромное влияние на развитие наук о Земле, на становление и рост Академии наук СССР, на мировоззрение многих людей.

Обладая огромным талантом В.И.Вернадский, вел исследования по многим направлениям. Занимался проблемой поисков радиоактивных минералов, изучал роль организмов в геохимических процессах. В своих трудах «Опыт описательной минералогии» (1908–1922 гг.) и «История минералов земной коры» (1923–1936 гг.) Вернадский выдвинул новую эволюционную теорию о происхождении минералов. Большое значение имели его исследования о строении силикатов и алюмосиликатов.

Вернадский является одним из основоположников геохимии. Именно он первым ввел в России спектральный метод для решения геохимических задач. Долгое время занимался изучением редких и рассеянных химических элементов. В.И.Вернадский внес огромный вклад в организацию экспедиций по поискам радиоактивных минералов и создание лабораторной базы для их изучения.

В 1908 г. Вернадский заинтересовался значением живых объектов в геологических процессах. Позже, в 1916 г., он вводит понятие «живое вещество» и, осмысливая его роль в геологии, разрабатывает проблемы биосферы. Его исследования вылились в учение о биосфере, которое он изложил в лекциях по геохимии, прочитанных в Сорбонском университете (Париж) в 1923–1926 гг.

Многие его труды посвящены философским проблемам естествознания. Осмысливая результаты своих исследований 1925–1944 гг., В.И.Вернадский разработал новое научно обоснованное философское направление – учение об эпохе разума – ноосферологию. Он считал, что ноосферное общество будет обществом разума, организующего на принципах демократии развитие науки, техники, научной системы природопользования и экономики.

С 1927 г. до самой смерти Вернадский занимал должность директора Биогеохимической лаборатории при Академии наук СССР. По его инициативе с 1922 по 1940 год было создано 19 научно-исследовательских институтов. Вернадским опубликовано более 700 научных трудов. За выдающиеся работы в области науки и техники в 1943 г. он был удостоен Государственной премии СССР, награжден орденом Трудового Красного Знамени.

Гениальный ученый, талантливый государственный деятель В.И.Вернадский заслуженно признан выдающимся мыслителем России и всего мира.

Доктор медицинских наук, профессор А.К.Адамов

К 100-ЛЕТИЮ ЧИТИНСКОЙ ПРОТИВОЧУМНОЙ СТАНЦИИ

17 сентября 2013 г. исполнилось 100 лет со дня основания Читинской противочумной станции, одного из старейших противочумных учреждений страны. Читинская противочумная лаборатория, созданная в 1913 г. по решению Правительства России, была первым специализированным учреждением в эндемичных по чуме восточных районах страны. На базе лаборатории работали в экспедициях и проводили научные исследования выдающиеся врачи: Н.Н.Клодницкий, академик Д.К.Заболотный, его ученик доктор И.С.Дудченко, ставший ее первым руководителем. Специалисты лаборатории, а в последующем станции, участвовали в локализации и ликвидации эпидемических вспышек чумы в Забайкалье и Монголии. Можно с уверенностью сказать, что достижение эпидблагополучия по чуме в Забайкальском природном очаге является заслугой Читинской ПЧС.

Сегодня Читинская ПЧС вносит большой вклад в изучение инфекционной патологии края и обеспечение санитарно-эпидемиологического благо-

получия. Обследованы и изучены природные очаги вирусного клещевого, японского энцефалитов, ГЛПС, проводятся исследования на выявление очагов лихорадки Западного Нила. На территории Забайкалья выявлены очаги туляремии и лептоспироза. Осуществляется мониторинг приграничной территории на предмет завоза чумы, холеры и других особо опасных и природно-очаговых инфекционных болезней. Специалисты станции оказывают большой объем консультативно-методической помощи лечебным учреждениям на курируемой территории.

Храня лучшие традиции, нынешнее поколение сотрудников станции с достоинством продолжает и развивает дело своих предшественников. Своим трудом они вносят неоценимый вклад в обеспечение эпидемиологического благополучия нашей страны.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Читинскую ПЧС с юбилеем и желают успехов в благородном труде на благо России.

К 80-ЛЕТИЮ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИНСТИТУТА ДЕЗИНФЕКТОЛОГИИ

В сентябре 2013 г. исполнилось 80 лет со дня основания ФБУН «Научно-исследовательский институт дезинфектологии» Роспотребнадзора. Институт был создан в 1933 г. на базе Центрального дезинфекционного бюро Москвы. Пройдя долгий и славный путь становления и развития, НИИ дезинфектологии стал главным научно-исследовательским и организационно-методическим центром Российской Федерации по проблемам использования дезинфектологических методов и дезинфицирующих средств для борьбы с инфекционными болезнями. НИИ дезинфектологии – единственное специализированное научное учреждение такого профиля в России.

Институт занимается разработкой теоретических основ дезинфектологии, проводит научно-исследовательские работы в области дезинфекции, стерилизации, дезинсекции, дератизации. Ученые института проводят изыскание новых гигиенически

и экологически безопасных антимикробных, инсекти-, акари-, родентицидных и репеллентных агентов, осуществляют разработку рецептур новых дезинфекционных средств и методических указаний по их применению.

Высокий уровень научных исследований, практическую значимость выполняемых работ обеспечивает высокопрофессиональный коллектив института под руководством доктора медицинских наук, профессора Н.В.Шестопалова. Научный авторитет института поддерживают видные ученые М.Г.Шандала, В.Г.Акимкин, С.А.Рославцева, Н.Ф.Соколова, Л.С.Федорова, М.Н.Костина, Л.С.Путинцева, Н.И.Шашина, А.Н.Сукиасян.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют НИИ дезинфектологии с юбилеем и желают продолжения плодотворной деятельности.

Редакционный совет и редакционная коллегия научно-практического журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляет с юбилеем

Тарасевич Ирину Владимировну – доктора медицинских наук, профессора, академика РАМН

Шандалу Михаила Георгиевича – доктора медицинских наук, профессора, академика РАМН

Сергиева Владимира Петровича – доктора медицинских наук, профессора, академика РАМН

Безсмертного Виктора Егоровича – кандидата медицинских наук,
директора Противочумного центра

Смирнова Георгия Борисовича – доктора биологических наук, профессора,
члена-корреспондента РАМН

Брико Николая Ивановича – доктора медицинских наук, профессора, академика РАМН

Попова Юрия Алексеевича – доктора биологических наук, профессора

Щуковскую Татьяну Николаевну – доктора медицинских наук

и желают им больших творческих успехов, здоровья и благополучия