

ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Научно-практический журнал

Выходит четыре раза в год

Основан в 1968 году

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

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

Выпуск 4

2018

САРАТОВ

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

Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи и массовых
коммуникаций
Свидетельство ПИ № ФС77-74153
от 29 октября 2018 г.

Журнал «Проблемы особо опасных
инфекций» является рецензируемым
изданием

Все рукописи проходят проверку
системой «Антиплагиат»

Журнал «Проблемы особо опасных
инфекций» индексируется в РИНЦ

Ответственность за достоверность
информации, содержащейся
в рекламных материалах,
несут рекламодатели

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

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

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

Проблемы особо опасных инфекций
2018. Вып. 4. 102 с.

Подписано в печать 15.12.18
Формат 60×88 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 12,5
Гарнитура Таймс. Заказ 2525-18/24128

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

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

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Кутырев В.В., докт. мед. наук, академик РАН (Саратов, Россия)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Балахонов С.В., докт. мед. наук, профессор (Иркутск, Россия)
Бондарев В.П., докт. мед. наук, профессор (Москва, Россия)
Борисевич С.В., докт. биол. наук, профессор, член-корр. РАН (Сергиев
Посад, Россия)
Гинцбург А.Л., докт. мед. наук, академик РАН (Москва, Россия)
Дятлов И.А., докт. мед. наук, академик РАН (Оболенск, Россия)
Куличенко А.Н., докт. мед. наук, член-корр. РАН (Ставрополь, Россия)
Львов Д.К., докт. мед. наук, академик РАН (Москва, Россия)
Малеев В.В., докт. мед. наук, академик РАН (Москва, Россия)
Онищенко Г.Г., докт. мед. наук, академик РАН (Москва, Россия)
Рудаков Н.В., докт. мед. наук, профессор (Омск, Россия)
Сергиев В.П., докт. мед. наук, академик РАН (Москва, Россия)
Топорков А.В., докт. мед. наук (Волгоград, Россия)

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

Абдикаримов С.Т., докт. мед. наук, доцент (Бишкек, Кыргызстан)
Мотин В.Л., профессор (Галвестон, США)
Ракин А.В., канд. биол. наук (Мюнхен, Германия)
Скурник М., профессор (Хельсинки, Финляндия)
Титов Л.П., докт. мед. наук, профессор, член-корр. НАН Беларуси,
иностранн. член РАН (Минск, Беларусь)
Цогбадрах Н., канд. мед. наук (Улаанбаатор, Моголия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Андаев Е.И., докт. мед. наук (Иркутск, Россия)
Бугоркова С.А., докт. мед. наук (Саратов, Россия)
Викторов Д.В., докт. биол. наук (Волгоград, Россия)
Гулий О.И., докт. биол. наук (Саратов, Россия)
Ерошенко Г.А., докт. биол. наук (Саратов, Россия)
Жарникова И.В., докт. биол. наук (Ставрополь, Россия)
Карпунина Л.В., докт. биол. наук, профессор (Саратов, Россия)
Кругликов В.Д., докт. мед. наук, с. н. с. (Ростов-на-Дону, Россия)
Локтев В.Б., докт. биол. наук, профессор (Кольцово, Россия)
Малецкая О.В., докт. мед. наук, профессор (Ставрополь, Россия)
Микеров А.Н., докт. биол. наук (Саратов, Россия)
Микшис Н.И., докт. мед. наук (Саратов, Россия)
Пеньевская Н.А., докт. мед. наук, доцент (Омск, Россия)
Попов Н.В., докт. биол. наук, профессор (Саратов, Россия)
Попов Ю.А., докт. биол. наук, профессор (Саратов, Россия)
Саяпина Л.В., докт. мед. наук (Москва, Россия)
Смирнова Н.И., докт. биол. наук, профессор (Саратов, Россия)
Топорков В.П., докт. мед. наук, профессор (Саратов, Россия)
Шемякин И.Г., докт. биол. наук, профессор (Оболенск, Россия)
Щербакова С.А., докт. биол. наук (Саратов, Россия)
Щуковская Т.Н., докт. мед. наук, профессор (Саратов, Россия)

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Красько А.Г., канд. мед. наук, доцент (Минск, Беларусь)
Мека-Меченко Т.В., докт. мед. наук (Алматы, Казахстан)
Усенбаев Н.Т., канд. мед. наук (Бишкек, Кыргызстан)

Ответственный секретарь

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

Problemy Osobo Opasnykh Infektsii

Problems of Particularly Dangerous Infections

2018, Issue 4

Scientific and Practical Peer-Reviewed Journal. Issued quarterly. Founded in 1968

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

Editor-in-Chief

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

Editorial Council

Abdikarimov S.T., Doctor of Medical Science, Associate Professor (Bishkek, Kyrgyzstan)
Balakhonov S.V., Doctor of Medical Science, Professor (Irkutsk, Russia)
Bondarev V.P., Doctor of Medical Science, Professor (Moscow, Russia)
Borisevich S.V., Doctor of Biological Science, Professor, Corresponding Member of the RAS (Sergiev Possad, Russia)
Gintsburg A.L., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow, Russia)
Dyatlov I.A., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Obolensk, Russia)
Kulichenko A.N., Doctor of Medical Science, Corresponding Member of the RAS (Stavropol, Russia)
Lvov D.K., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow, Russia)

Maleev V.V., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow, Russia)
Motin V.L., Ph. D., Professor (Galveston, USA)
Onishchenko G.G., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow, Russia)
Rakin A.V., Ph. D. (Munich, Germany)
Rudakov N.V., Doctor of Medical Science, Professor (Omsk, Russia)
Sergiev V.P., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow, Russia)
Skurnik M., Professor (Helsinki, Finland)
Titov L.P., Doctor of Medical Science, Professor, Corresponding Member of the NAS of Belarus, Foreign Member of the RAS (Minsk, Belarus)
Toporkov A.V., Doctor of Medical Science (Volgograd, Russia)
Tsogbadrakh N., Ph. D. (Ulanbaator, Mongolia)

Editorial Board

Andaev E.I., Doctor of Medical Science (Irkutsk, Russia)
Bugorkova S.A., Doctor of Medical Science (Saratov, Russia)
Victorov D.V., Doctor of Biological Science (Volgograd, Russia)
Guliy O.I., Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)
Eroshenko G.A., Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)
Zharnikova I.V., Doctor of Biological Science (Stavropol, Russia)
Karpunina L.V., Doctor of Biological Science, Professor (Saratov, Russia)
Kras'ko A.G., Ph. D., Associate Professor (Minsk, Belarus)
Kruglikov V.D., Doctor of Medical Science, (Rostov-on-Don, Russia)
Loktev V.B., Doctor of Biological Science, Professor (Koltsovo, Russia)
Maletskaya O.V., Doctor of Medical Science, Professor (Stavropol, Russia)
Meka-Mechenko T.V., Doctor of Medical Science (Almaty, Kazakhstan)

Mikero A.N., Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)
Mikshis N.I., Doctor of Medical Science (Saratov, Russia)
Pen'evskaya N.A., Doctor of Medical Science, Associate Professor (Omsk, Russia)
Popov N.V., Doctor of Biological Science, Professor (Saratov, Russia)
Popov Yu.A., Doctor of Biological Science, Professor (Saratov, Russia)
Sayapina L.V., Doctor of Medical Science (Moscow, Russia)
Smirnova N.I., Doctor of Biological Science, Professor (Saratov, Russia)
Toporkov V.P., Doctor of Medical Science, Professor (Saratov, Russia)
Shemyakin I.G., Doctor of Biological Science, Professor (Obolensk, Russia)
Shcherbakova S.A., Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)
Shchukovskaya T.N., Doctor of Medical Science, Professor (Saratov, Russia)
Usenbaev N.T., Ph.D (Bishkek, Kyrgyzstan)

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>

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Обзоры

- Казачинская Е.И., Волкова Н.В., Иванова А.В. Стратегии исследования патогенности вируса Зика..... 6
- Львов Д.К., Альховский С.В. Отряд *Bunyavirales*.. 15
- Поршаков А.М., Кононова Ю.В., Локтев В.Б., Boiro M.I. Рукокрылые как возможный резервуар опасных для человека вирусов на территории Гвинейской Республики. Часть 2..... 20

Оригинальные статьи

- Борисова Л.О., Авдонина Л.Г., Пяташина М.А. Опыт работы управления Роспотребнадзора по Республике Татарстан по профилактике внутренних эпидемиологических рисков в период подготовки и проведения чемпионата мира по футболу 2018 г. 27
- Германчук В.Г., Семакова А.П., Шавина Н.Ю. Этические принципы при обращении с лабораторными животными в эксперименте с патогенными биологическими агентами I–II групп 33
- Дедков В.Г., Сафонова М.В., Найденова Е.В., Magassouba N.F., Айгинин А.А., Soropogui B., Kourouma F., Camara A.B., Camara J., Крицкий А.А., Щелканов М.Ю., Малеев В.В. Разработка и испытание метода выявления РНК вируса Ласса на основе полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени 39
- Дубянский В.М., Матюхин С.И., Евченко Ю.М. Применение методов теории вероятности для планирования площади эпизоотологического обследования Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы 48
- Зуенко А.А., Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Старцева О.Л., Гридина Т.М., Богданова Ю.В., Иванова Г.Ф., Ростовцева Д.В. Анализ стабильности производства вакцины чумной живой и основных показателей качества препарата..... 54
- Ковалевская А.А., Василькова О.Л., Агапов Б.Л., Куклев Е.В., Сафронов В.А., Ясечкин Ю.И., Топорков В.П., Щербакова С.А., Никешина Н.Н., Носкова Л.Н., Аршба Т.Е., Руденко Г.Г., Шишлонов А.М. Риск-ориентированная характеристика современной эпидемиологической обстановки в Астраханской области по Крымской геморрагической лихорадке 58
- Оськина О.П., Золин В.В. Экспериментальная оценка эффективности методов заключительной дезинфекционной обработки помещений «заразных» зон больших площадей при проведении работ с вирусом натуральной оспы 63

Reviews

- Kazachinskaya E.I. , Volkova N.V. , Ivanova A.V. Strategies for Investigation of Zika Virus Pathogenicity
- Lvov D.K., Alkhovsky S.V. Bunyavirales Order
- Porshakov A.M., Kononova Yu.V., Loktev V.B., Boiro M.I. Chiroptera as a Potential Reservoir of Dangerous for Humans Viruses in the Territory of the Republic of Guinea. Part 2

Original articles

- Borisova L.O., Avdonina L.G., Patyashina M.A. Experience of the Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan in the Prevention of Internal Epidemiological Risks During the Preparation and Holding of the FIFA World Cup-2018
- Germanchuk V.G., Semakova A.P., Shavina N.Yu. Ethical Principles for Handling Laboratory Animals in an Experiment with Pathogenic Biological Agents of the I–II Groups
- Dedkov V.G., Safonova M.V., Naidenova E.V., Magassouba N.F., Ayginin A.A., Soropogui B., Kourouma F., Camara A.B., Camara J., Kritsky A.A., Shchelkanov M.Yu., Maleev V.V. Development and Testing of the Method for the Detection of Lassa Virus RNA, Based on Real-Time Polymerase Chain Reaction with Reverse Transcription
- Dubyansky V.M. , Matyukhin S.I. , Evchenko Yu.M. Application of the Probability Theory Methods for Scheming the Area of Epizootiological Survey of the Central-Caucasian High-Mountain Natural Plague Focus
- Zuenko A.A., Abzaeva N.V., Gostishcheva S.E., Startseva O.L., Gridina T.M., Bogdanova Yu.V., Ivanova G.F., Rostovtseva D.V. Assessment of Stability of Live Plague Vaccine Manufacturing and Basic Preparation Quality Indicators
- Kovalevskaya A.A., Vasil'kova O.L., Agapov B.L., Kouklev E.V., Safronov V.A., Yashechkin Yu.I., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Nikesheina N.N., Noskova L.N., Arshba T.E., Rudenko G.G., Shishlonov A.M. Risk-Oriented Characteristics of Current Epidemiological Situation on Crimean Hemorrhagic Fever in the Astrakhan Region
- Os'kina O.P., Zolin V.V. Experimental Evaluation of the Efficiency of Methods for Final Disinfective Treatment of Premises of the Large Isolated Zones Used for Work with Pathogenic Agents when Conducting Works with the Smallpox Virus

Охупкина В.Ю., Пяткова Н.В., Барамзина Г.В., Фоменков О.О., Федотов А.К. Опыт длительного хранения штаммов возбудителя туляремии.....	69
Попова А.Ю., Куличенко А.Н., Ежлова Е.Б., Пакскина Н.Д., Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Волынкина А.С. Особенности эпидемиологической обстановки по Крымской гемор- рагической лихорадке в Российской Федерации на со- временном этапе.....	75
Чекрыгина Е.В., Волынкина А.С., Котенев Е.С., Лисицкая Я.В., Гнусарева О.А., Куличенко А.Н. Генетическое профилирование возбудителей природно-очаговых инфекций, циркулирующих на территории Ставропольского края	81
Яшина Л.Н., Абрамов С.А., Дупал Т.А., Якименко В.В., Танцев А.К., Малышев Б.С., Карташов М.Ю. Хантавирусы в популяциях насе- комоядных на территории Сибири	89

Юбилеи

Российскому научно-исследовательскому противо- чумному институту «Микроб» – 100 лет	94
Микеров А.Н., Райкова С.В., Швиденко И.Г., Лунёва И.О., Донецкая Э.Г., Цветкова О.Н., Сладкова Н.В., Кутырев В.В. К 100-летию кафе- дры микробиологии, вирусологии и иммунологии Саратовского государственного медицинского универ- ситета им. В.И. Разумовского	98
К 90-летию со дня рождения Алексея Константиновича Адамова.....	101

Информация

О XIV Межгосударственной научно-практичес- кой конференции «Обеспечение санитарно-эпидемио- логического благополучия в государствах-участниках СНГ».....	102
О XIV заседании Координационного совета по про- блемам санитарной охраны территорий государств- участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекцион- ных болезней	102

Okhapkina V.Yu., Pyatkova N.V., Baramzina G.V., Fomenkov O.O., Fedotov A.K. Long-Term Storage of Tularemia Agent Strains	
--	--

Popova A.Yu., Kulichenko A.N., Ezhlova E.B., Pakskina N.D., Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Prislegina D.A., Volynkina A.S. Peculiarities of Epidemiological Situation on Crimean Hemorrhagic Fever in the Russian Federation at the Current Stage	
---	--

Chekrygina E.V., Volynkina A.S., Kotenev E.S., Lisitskaya Ya.V., Gnusareva O.A., Kulichenko A.N. Genetic Profiling of the Causative Agents of Natural-Focal Infections, Circulating in the Stavropol Territory	
---	--

Yashina L.N., Abramov S.A., Dupal T.A., Yakimenko V.V., Tantsev A.K., Malyshev B.S., Kartashov M.Yu. Hantaviruses in Insectivore Populations in Siberia	
---	--

Anniversaries

Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» Celebrates 100th Anniversary Since the Date of Establishment	
---	--

Mikerv A.N., Raikova S.V., Shvidenko I.G., Luneva I.O., Donetskaya E.G., Tsvetkova O.N., Sladkova N.V., Kutyrev V.V. To the 100th Anniversary of the Department of Microbiology, Virology, and Immunology of the V.I. Razumovsky Saratov State Medical University	
---	--

To the 90th Anniversary of Aleksei Konstantinovich Adamov	
--	--

Information

On the XIV Inter-State Scientific-and-Practical Conference «Provision of Sanitary-Epidemiological Welfare in the CIS Member-States»	
---	--

On the XIV Session of the Coordination Council on the Problems of Sanitary Protection of the Territories of CIS Member-States from the Import and Spread of Particularly Dangerous Infectious Diseases	
---	--

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-6-14

УДК 578.833.29

Е.И. Казачинская, Н.В. Волкова, А.В. Иванова

СТРАТЕГИИ ИССЛЕДОВАНИЯ ПАТОГЕННОСТИ ВИРУСА ЗИКА

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

В обзоре проведен анализ литературных данных по результатам исследований механизмов патогенеза ZIKV с использованием биомodelей (чувствительных культур клеток и животных). На культурах клеток человеческого и животного происхождения показано, что этот вирус эффективно инфицирует первичные стромальные клетки эндометрия, эмбриональные стволовые клетки, кортикальные и моторные нейроны, астроциты, периферические нейроны и клетки нервного гребня зародыша. Культуры клеток простаты, семенников и почек показали высокий уровень нагрузки ZIKV без цитопатических нарушений, что предполагает их участие в персистенции патогена. Продуктивная инфекция ZIKV на культурах клеток, полученных от нечеловекообразного примата, свиньи, кролика, хомяка и курицы предполагает, что эти виды животных могут быть важными резервуарами и/или потенциальными лабораторными моделями. У обезьян вида *Macaca mulatta* (макака-резус) течение болезни, вызванной ZIKV, сходно с таковым у человека, поэтому эти животные представляют собой подходящую модель для изучения патогенеза при врожденной инфекции, а также для доклинической оценки вакцин и противовирусных препаратов во время беременности. В качестве суррогатных моделей для исследования патогенеза ZIKV можно использовать мышей, обычных домашних свиней и гуманизированные куриные эмбрионы. Аттенуированный ZIKV, обладающий нейротропностью, недавно стал объектом исследования в новом направлении медицинской вирусологии – в онколитической вирографии глиобластомы.

Ключевые слова: вирус Зика, лихорадка Зика, патогенез, культуры клеток, животные для моделирования лихорадки Зика.

Корреспондирующий автор: Казачинская Елена Ивановна, e-mail: alenakaz@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Казачинская Е.И., Волкова Н.В., Иванова А.В. Стратегии исследования патогенности вируса Зика. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 4:6–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-6-14

E.I. Kazachinskaya, N.V. Volkova, A.V. Ivanova

Strategies for Investigation of Zika Virus Pathogenicity

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

Abstract. This review presents the analysis of the literature data on the mechanisms of ZIKV pathogenesis using biomodels (sensitive cell cultures and animals). Human and animal cell cultures have shown that this virus effectively infects primary endometrial stromal cells, embryonic stem cells, cortical and motor neurons, astrocytes, peripheral neurons and neural crest cells of the embryo. Cultures of prostate, testis and kidney cells showed a high level of ZIKV load without cytopathic disorders which implies their participation in the persistence of the pathogen. A productive infection of ZIKV on cell cultures derived from non-human primate, pig, rabbit, hamster and chicken suggests that these animal species may be important reservoirs and/or potential laboratory models. Monkeys of the species *Macaca mulatta* (macaque rhesus) have the disease caused by ZIKV similar to that in humans. Therefore these animals are a suitable model for studying the pathogenesis of a congenital infection as well as for preclinical evaluation of vaccines and antiviral drugs during pregnancy. Mice, domestic pigs and humanized chicken embryos can be used as surrogate models for studying ZIKV pathogenesis. Recently, attenuated ZIKV has become the object of research in a new area of medical virology – in oncolytic virotherapy against glioblastoma.

Key words: Zika virus (ZIKV), Zika fever, pathogenesis, cell cultures, animals for modeling Zika fever.

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

Corresponding author: Elena I. Kazachinskaya, e-mail: alenakaz@vector.nsc.ru.

Citation: Kazachinskaya E.I., Volkova N.V., Ivanova A.V. Strategies for Investigation of Zika Virus Pathogenicity. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 4:6–14. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-6-14
Received 05.09.18. Revised 03.10.18. Accepted 05.12.18.

Вирус Зика (Zika virus, ZIKV) является вновь появившимся (re-emerging) арбовирусом, который по строению вириона, организации генома, структуре и функциям вирусных белков относится к роду *Flavivirus* семейства *Flaviviridae*. Геномная РНК кодирует полипротеин, который подвергается посттрансляционной модификации с образовани-

ем трех структурных белков: Е, рМ/М у незрелого/зрелого вириона, соответственно, капсидного белка С и семи неструктурных белков: NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b и NS5. Впервые ZIKV изолирован в 1947 г. в Уганде (в лесу Зика) из сыворотки крови макаки-резус, а позднее выделен из тканей комаров вида *Aedes africanus*, отловленных в том же лесу.

Несмотря на серологические доказательства циркуляции ZIKV в Уганде и других странах Африки и Азии, за период с 1951 по 1981 год описано менее двух десятков случаев заболевания людей лихорадкой Зика (ЛЗ) в легкой форме [1, 2]. Долгое время этот вирус считался не опасным для человека также и на основе результатов исследования экспериментальной ЛЗ у волонтера в 1956 г. [3]. Согласно истории публикаций по исследованиям ZIKV, существует 19-летний перерыв с 1989 по 2007 год. Очевидно, что недавние сообщения о том, что ZIKV связан с микроцефалией новорожденных и может передаваться не только через укусы комаров, а также при половом контакте и других способах, привели к переоценке его эпидемического потенциала [1, 2] и необходимости исследования механизмов патогенности с использованием культур клеток и лабораторных животных.

Патогенез болезней, вызываемых вирусом Зика у человека. Вспышка ЛЗ на острове Яп в Микронезии в апреле 2007 г., когда заболело 73 % населения, показала, что ZIKV распространился за пределы Африки и Азии. Врачи характеризовали болезнь сыпью, конъюнктивитом, артралгией, артритом и лихорадкой [4]. Связь ZIKV с неврологическими расстройствами и врожденными аномалиями развития ЦНС стала проследиваться только во время эпидемических проявлений ЛЗ во Французской Полинезии 2013–2014 гг. и в Бразилии в 2015 г. Кроме острой иммуноопосредованной полирадикулоневропатии (синдрома Гийена-Барре) и врожденной микроцефалии, при ЛЗ могут развиваться и другие неврологические симптомы: менингит, менингоэнцефалит и миелит [2, 5]. О системной болезни при ЛЗ свидетельствует тот факт, что ZIKV может быть обнаружен в амниотической жидкости и эмбриональных тканях, а у заболевших людей – в крови, моче, слюне, сперме, цереброспинальной жидкости, вагинальных и цервикальных выделениях [6, 7, 8]. Эпидемиологические исследования показали, что при половом контакте в большинстве случаев передача ZIKV происходит от мужчин [9]. Описан случай инфицирования женщины при проведении процедуры экстракорпорального оплодотворения [10]. Обнаружено, что вирусемия у беременных женщин продолжается более 28 суток, что гораздо дольше, чем у небеременных. Инфицирование женщин опасно в первом триместре беременности, так как ZIKV проходит через плаценту и гематоэнцефалический барьер эмбриона, повреждая нейроны. Тератогенное влияние ZIKV на эмбрионы инфицированных беременных женщин проявляется в виде очагов кальцификации в мозговой ткани и формирования пороков развития коры головного мозга [11]. Описано два случая инфицирования матерей, имеющих двойную беременность, когда микроцефалия развилась только у одного из dizygotных близнецов. Предположительно, это может быть связано с генетическими различиями в восприимчивости к инфицированию индивидуальных плацентарных барьеров [12]. Патологоанатомические исследования

тканей погибших эмбрионов выявили серьезные дефекты плаценты, ЦНС, глаз и селезенки [6].

Заболевание новорожденных, связанное с внутриутробным инфицированием, классифицируется как врожденный синдром Зика (congenital Zika syndrome, CZS) и характеризуется мертворождением или выкидышем, а также аномалиями развития головного мозга, генными неврологическими осложнениями и контрактурой скелетных мышц. Высокая частота глазных мальформаций (гипоплазия зрительного нерва, сосудистые аномалии сетчатки, катаракта, макулопатия и др.) наблюдается у 55 % младенцев, рожденных с явлениями микроцефалии. Поскольку сетчатка развивается из нервной трубки, наличие повреждений сетчатки согласуется с повреждениями ЦНС при CZS. Пока неизвестны последствия в развитии у детей, рожденных без явного микроцефального фенотипа от переболевших матерей. Не исключено, что со временем у них может развиваться синдром Гийена-Барре, энцефалит, миелит или болезни глаз, приводящие к слабозрению или слепоте [13]. У взрослых ZIKV редко проникает в мозг через гематоэнцефалический барьер, но описан менингоэнцефалит с фатальным исходом у пациента после трансплантации сердца на фоне инфицирования ZIKV [14]. Синдром Гийена-Барре, как следствие перенесенной ЛЗ, проявляется от прогрессирующей слабости в ногах до паралича, связанного с множественным поражением периферических нервов. Инвалидность остается у 10 % из числа заболевших, имеющих этот синдром [15]. Рецидив ЛЗ с сыпью и болью в суставах без повторного воздействия ZIKV описан в работе S. Edupuganti *et al.* [16].

Есть предположение, что тяжесть заболевания при заражении ZIKV может зависеть от присутствия у заболевших в сыворотке крови антител, специфичных к вирусу денге и перекрестно реагирующих с ZIKV [17]. Этот феномен антител, образующих комплекс с вирусами краснухи, гриппа, ВИЧ и Марбург для их проникновения в клетки и увеличения репликации, давно описан и для арбовирусов [18]. Известно, что повышение концентрации неструктурного белка NS1 флавивирусов в сыворотке крови инфицированных людей непосредственно коррелирует с тяжестью заболевания [19]. Кроме того, показана мимикрия белка NS1 вируса денге с человеческим плазминогеном (Plg). В результате этого феномена NS1-денге-специфические антитела запускают процесс активации Plg, что приводит к нарушению процесса фибринолиза (растворения тромбов), обтурации кровеносных сосудов, геморрагиям и «шоковому синдрому денге» [20]. Показано, что эволюционная единичная мутация в гене неструктурного вирусного гликопротеина NS1 усиливает уклонение ZIKV от клеточного иммунитета хозяина посредством блокирования индукции интерферона [21]. Метилтрансферазная активность белка NS5 ZIKV помогает вирусной РНК мимикрировать под РНК хозяина. Другие многофункциональные не-

структурные белки (NS2a, NS2b, NS3, NS4a и NS4b), кроме участия в процессе репликации РНК, также являются и антагонистами индукции интерферона [22]. Выявленные мутации в генах NS2b и NS4 азиатских линий ZIKV могли сыграть потенциальную роль в их молекулярной эволюции и привести к глобальной пандемии [23]. Недавно представленные результаты о пространственной организации структурного гликопротеина Е ZIKV при его внутриклеточном прохождении, свидетельствуют о том, что ZIKV эволюционно развивается быстрее других флавивирусов для достижения способности использовать множественные клеточные рецепторы при заражении клеток различных типов [22]. Показано также, что гликопротеин Е ZIKV имеет домен, схожий по структуре с доменом компонента C1q комплемента. Предполагают, что именно с этим обстоятельством связано появление в организме инфицированных людей, а также экспериментальных животных (мышей и обезьян) антител, специфичных к C1q и приводящих к заболеванию с синдромом Гийена-Барре. Авторы считают, что эти результаты необходимо учитывать при разработке безопасных вакцин против ZIKV [24].

Исследования патогенности ZIKV на культурах клеток. Для понимания механизмов повышенной уязвимости эмбриона при инфицировании ZIKV проведены исследования по чувствительности клеток плацентарного трофобласта, полученные из зрелых плацентарных ворсинок и из эмбриональных стволовых клеток (embryonic stem cells, ESC). Показано, что плацентарные трофобласты устойчивы к заражению, так как экспрессировали несколько генов, связанных с противовирусной защитой, и не экспрессировали гены, кодирующие большинство рецепторов, используемых ZIKV для проникновения в клетки. В противоположность этому, ESC эффективно инфицировались, производили вирусное потомство и подвергались лизису в течение 48 ч после воздействия ZIKV африканского штамма MR766 в низких титрах ($> 0,07$ бляшкообразующих единиц (БОЕ) на клетку). Эти данные показывают, что развивающийся эмбрион наиболее уязвим в начале первого триместра беременности до формирования зрелых ворсинок трофобласта [25]. Первичные стромальные клетки эндометрия человека обладают высокой способностью к продуктивной инфекции ZIKV и поддерживают его репликацию *in vitro*. Таким образом, эти инфицированные клетки могут быть потенциальным источником распространения вируса на плацентарные трофобласты во время беременности [26]. Показано, что ZIKV индуцирует цитопатические эффекты на культуре клеток кортикальных и моторных нейронов, а также астроцитов, полученных из стволовых клеток. Причем азиатский изолят PRVABC59 ZIKV в этих культурах количественно продуцировал примерно в 10 раз больше вируса, чем прототипный африканский штамм MR766 [27]. ZIKV продуктивно заражает *in vitro* человече-

ские периферические нейроны и клетки нервного гребня, полученные из стволовых клеток, что приводит к гибели клеток в результате молекулярной патологии [28]. Стабильные линии стволовых клеток человека, полученные из неонатальных фибробластов и дифференцированные в нейроны, охарактеризованы в качестве модели для заражения ZIKV *in vitro*. Показано, что эти инфицированные клетки поддерживают репликацию ZIKV, выделяют цитокины и становятся высоко апоптотическими [29].

Для изучения патогенеза неврологических осложнений, ассоциированных с ZIKV, исследована восприимчивость клеточных линий (18 видов человеческого и 15 видов животного происхождения) к двум изолятам ZIKV, выделенных от человека и примата. Для контроля также исследована восприимчивость этих же клеток к вирусу денге серотипа 2. Продуктивное инфицирование ZIKV, определяемое по вирусной нагрузке и синтезу неструктурного вирусного гликопротеина NS1, а также по цитопатическому действию (ЦПД) вируса на клетки, обнаружено на следующих линиях: клетках кишечника (Caco-2), плацентарных (JEG-3), нервных (SF268), мышечных (RD), глазных (ARPE19), легочных (Hep-2 and HFL) и печеночных (Huh-7). Эти данные, возможно, помогут объяснить трансплацентарную передачу и клинические проявления ZIKV. Культуры клеток простаты (LNCaP), семенников (833KE) и почек (HEK) хоть и показали увеличение уровня вирусной нагрузки и синтез белка NS1, однако не вызывали ЦПД, что может свидетельствовать об их роли в персистирующей вирусной инфекции и передаче ZIKV половым путем. Ни одна из линий клеток плацентарного происхождения и генитального тракта не поддерживала эффективной репликации вируса денге серотипа 2. В этой же работе показано, что культуры клеток животного происхождения, полученные от нечеловекообразного примата (Vero и LLC-MK2), свиньи (PK-15), кролика (RK-13), хомяка (BHK21) и курицы (DF-1), поддерживают продуктивную репликацию ZIKV. Таким образом, эти виды животных могут быть важными резервуарами и/или потенциальными лабораторными моделями для исследования ZIKV [30].

Моделирование на животных болезни, вызванной ZIKV. Исследование механизмов патогенеза ZIKV на животных моделях позволяет выявить молекулярную основу для его клеточного тропизма в естественных условиях, вирусные и хозяйские факторы, способствующие или ограничивающие трансплацентарную передачу; проникновение вируса в мозг плода; пороки развития эмбриона во время инфекции; связь между сроками беременности инфицированного организма и возникновением пороков в развитии эмбриона; персистенцию в мужском репродуктивном тракте, глазах и других органах [31].

У обезьян вида *Macaca mulatta* (макака-резус) течение болезни, вызванной ZIKV, подобно с ЛЗ у человека, поэтому эти животные представляют со-

бой подходящую модель для понимания патогенеза этой врожденной инфекции, а также для доклинической оценки вакцин и противовирусных препаратов во время беременности [32]. На обезьянах этого вида исследована возможность мукозальной передачи ZIKV. Нанесение высокой дозы вирусного материала непосредственно на миндалины трех обезьян привело к развитию виремии через двое суток после контакта с вирусом. Кинетика репликации ZIKV была аналогична той, которая наблюдалась у животных, инфицированных подкожно и ставших впоследствии донорами слюны. Другая группа из семи обезьян подвергалась воздействию донорской инфицированной слюны через конъюнктивы, миндалины или ноздри. При этом способе инфицирования животные не заболели. Эти результаты показывают, что риск заражения ZIKV через слизистые оболочки очень низкий [32]. При инфицировании макак резусов внутривенно бразильским изолятом HS-2015-BA-01, при отсутствии клинических проявлений, вирусная нагрузка обнаружена в плазме в промежутке с 5-х по 7-е сутки после заражения, в сперме на 7-е сутки, в моче на 14-е, а в слюне до 42 сут соответственно. Количество CD14⁺/CD16 моноцитов и миелоидных дендритных клеток в крови уменьшалось, тогда как количество NK и общее количество Т-клеток изменялось незначительно [33]. На модели этого вида обезьян также была оценена возможность половой передачи ZIKV путем вагинальной инокуляции вируса с инфекционным титром 10⁴–10⁶ БОЕ/мл. При этом способе заражения вирус задерживался в репродуктивном тракте и развитие виремии у животных происходило позднее, чем при подкожном заражении. У подкожно инфицированных обезьян концентрация вируса в моче и слюне была ниже, чем при вагинальной инокуляции. Эти данные свидетельствуют о том, что вероятность внутриутробной передачи и развития патологии плода при половом контакте выше, чем при укусе комара. Кроме того, показано, что широко используемое противозачаточное средство Дерпровера повышало восприимчивость животных к заражению. У беременных обезьян виремия продолжалась до 70 сут после инфицирования ZIKV, что гораздо дольше, чем у небеременных животных [34]. Для моделирования врожденной инфекции самку макаки-резус заражали в первом триместре беременности подкожно препаратом ZIKV (штамм PRVABC59), имеющим инфекционный титр 10⁴ БОЕ/мл. Беременность осложнялась внутриматочной бактериальной инфекцией и гибелью плода через 49 сут после инфицирования. Вирусная РНК обнаружена в тканях внутриутробно погибшего плода, а также в селезенке и матке матери. У плода зафиксирована тяжелая глазная патология [35]. Экспериментальная послеродовая инфекция новорожденных макак-резусов приводила к структурным и функциональным изменениям ЦНС в сравнении с контрольными по возрасту жи-

вотными [36].

Использование приматов для заражения вирусами, особенно во время беременности, вызывает этические проблемы. В качестве суррогатных моделей для исследования патогенеза ZIKV можно использовать обычных домашних свиней, которые имеют много общего по анатомическим и физиологическим параметрам с людьми. Кроме того, известно, что свиньи восприимчивы к флавивирусам, вызывающим Японский энцефалит, лихорадки денге и Западного Нила, а недавно отмечена восприимчивость новорожденных свиней к инфицированию ZIKV. Из трех способов введения вирусного материала (внутрикожное, внутрибрюшинное и внутримозговое) только при инфицировании в мозг у поросят развивалось неврологическое заболевание ЛЗ с параличом конечностей, атаксией и тремором [37]. Показано, что ZIKV не может проникать в эмбрион свиньи через плаценту, но прямое внутриматочное инфицирование беременных свиноматок приводит к виремии и истощению нейронов в коре головного мозга эмбрионов вплоть до развития микроцефалии [38].

Значительное количество исследований заболевания, вызванного ZIKV, проведено на иммунодефицитных мышах, так как у иммунокомпетентных животных репликация ZIKV подавляется интерфероном (IFN) типа I [39]. Использование иммунодефицитных мышей не является идеальным для описания патогенеза инфекции ZIKV, но эти животные подходят для скрининга противовирусных соединений и предварительного тестирования эффективности вакцин. Молодых мышей можно использовать для демонстрации того, что противовирусные соединения эффективны для предотвращения потери веса, неврологического заболевания, виремии и/или смерти. Взрослые мыши линии AG129, дефицитные по рецепторам интерферона α/β и γ , могут быть полезной моделью для изучения индуцированного ZIKV миелита, энцефалита и судорожной активности [40]. На трехнедельных мышах линии AG129, дефицитных по рецептору интерферона α , при малом количестве пассажей камбоджийского изолята ZIKV, смоделирована ЛЗ, летальная на 7-е сутки после внутрибрюшинного или внутрикожного заражения вирусом в титре 10⁵ БОЕ/мл. В селезенке мышей вирус обнаруживался уже на 1-е сутки после инфицирования, а на 2-е сутки виремия достигала титра 10⁷ БОЕ/мл. На 3-и сутки вирус появился в клетках головного мозга и у животных проявлялись признаки неврологического заболевания. Репликация ZIKV также отмечена в семенниках. У более взрослых мышей (11 недель) отмечались признаки болезни (виремия, потеря веса), но эти животные выздоравливали на 8-е сутки после инфицирования [41]. При моделировании ЛЗ продемонстрировано, что, в отличие от штамма PRVABC59 (Puerto Rico, 2016), африканский штамм MP1751 (Uganda, 1962), выделенный из пула комаров вида *Aedes africanus*, вызывает

летальность у самцов мышей линии A129 (фенотип $\text{Ifnar1}^{-/-}$) при подкожном способе заражения с различной кинетикой проявлений болезни (взъерошенный мех, вялость, затрудненное дыхание, паралич) в зависимости от используемой дозы ZIKV (в титрах от 10^4 до 10^6 БОЕ/мл). При этом РНК вируса обнаружена в крови и тканях мозга, селезенки, печени, почек, легкого, сердца и яичек животных обеих групп и наблюдались аналогичные гистологические изменения [42]. Для исследования естественного процесса передачи ZIKV использовали метод кормления инфицированных комаров на ушах зафиксированных мышей. Вирус предварительно введен комарам орально или интраторакально за 14 сут до подсадки на животных. Репликация вируса в слюнных железах инфицированных комаров подтверждена ПЦР в реальном времени и наличием цитопатического эффекта на культуре клеток комаров C6/36. В результате показана успешная передача ZIKV мышам через укусы инфицированного комара [43]. Обнаружено, что при подкожном инфицировании мышей линии C57BL/6 (фенотип $\text{Ifnar1}^{-/-}$) в возрасте 4–6 недель (в дозе 10^5 БОЕ/мл) американского изолята MEX-2-81, 2016 ZIKV, вирус даже после его элиминации из крови, сохраняется в семенниках и реплицируется в клетках Лейдига, продуцирующих тестостерон. Вирусную РНК и антиген выявляли в пробах, взятых в просвете эпидидимиса, где происходит созревание, нахождение и продвижение сперматозоидов, а также в окружающих эпителиальных клетках. Через 21 сут после инфицирования яички у зараженных самцов были значительно меньше, чем у контрольных неинфицированных животных, что свидетельствует о прогрессирующей атрофии. Инфекция, вызванная ZIKV, вызывала снижение уровня тестостерона в крови экспериментальных животных. Эти результаты показывают, что заражение ZIKV может влиять на мужскую фертильность и вызывать долгосрочные потенциальные проблемы репродуктивной системы у инфицированных мужчин [44]. Обнаружены пониженные уровни андрогенов в сыворотке крови и высокая вирусная нагрузка в сперме и семенниках у иммунодефицитных мышей линии AG6, инфицированных подкожно азиатским штаммом CAS-ZK01 ZIKV в дозе 10^5 БОЕ/мл. Гистологическое исследование выявило выраженную атрофию семенных канальцев и значительное уменьшение размера их просвета. С помощью флуоресцирующих поликлональных антител обнаружены антигены ZIKV в цитоплазме клеток Сертоли, которые играют важную роль в поддержании микро среды для сперматогенеза в яичках. Чувствительность клеток Сертоли к ZIKV также подтверждена *in vitro*. Эти результаты позволяют предполагать, что долгосрочное воздействие ZIKV на репродуктивную систему человека требует тщательного мониторинга [45].

Для оценки влияния ZIKV на эмбрион животных с полноценной иммунной системой, мышей линии C57BL/6 инфицировали методом внутримам-

точной инокуляции дозой вируса в 1500 БОЕ/мл. Показано, что внутриутробная инфекция ZIKV обуславливает спонтанные аборт, а у оставшихся в живых эмбрионов вызывает пороки развития головного мозга (микроцефалию), аномалии глаз (повреждение сетчатки), дефекты спинного мозга и паралич [46]. Иммунокомпетентные животные – сирийский золотистый хомяк и морская свинка, также оценены в качестве моделей для заражения ZIKV (на примере сенегальского штамма ArD 41525 и филиппинского штамма CPC-0740). У хомяков, инфицированных подкожно, обнаружена продукция нейтрализующих антител без развития виремии. Умеренные признаки заболевания наблюдались у хомяков, зараженных внутрибрюшинно. Морские свинки, инокулированные внутрибрюшинно, не имели признаков болезни и нейтрализующих антител в сыворотке крови [47].

Куриные эмбрионы на ранней стадии развития были инфицированы мексиканским изолятом ZIKV, выделенным в 2016 г. Высокие дозы вируса (инфекционный титр более 20 БОЕ/мл) вызывали эмбриональную летальность, а при более низких дозах репликация вируса зафиксирована в различных органах, включая ЦНС, на протяжении всего периода развития организма. Выжившие инфицированные цыплята имели микроцефальный фенотип головы. По данным магниторезонансной томографии у них выявлены структурные пороки развития ЦНС, включая снижение объема мозжечка, ствола мозга и общего объема головного мозга на 18, 32 и 18 % соответственно. ZIKV-индуцированная микроцефалия у цыплят наблюдалась при инокуляции всего лишь 2–20 вирусных частиц/мл [48]. Разработана гуманизированная модель куриных эмбрионов с тяжелой микроцефалией при заражении ZIKV (штамм MR-766) в дозе 20 БОЕ/мл. Оказалось, что стволовые клетки человека, вводимые в развивающиеся нервные трубки куриных эмбрионов, мигрировали, дифференцировались и интегрировались как в ЦНС, так и в периферическую нервную систему, поддерживая фенотип нейронов. Гуманизированные таким образом куриные эмбрионы были инфицированы через хориоаллантоисную мембрану, которая сходна по структуре и функциям с плацентой млекопитающих. Данная модель микроцефалии при инфицировании ZIKV является адекватной, так как мозговая ткань куриных эмбрионов полностью созревает к моменту вылупления и слабо функционирующая врожденная иммунная система на начальном этапе развития эмбрионов обеспечивает состояние естественного иммунодефицита [49].

Несмотря на свою опасность ZIKV, обладающий нейротропностью, недавно стал объектом исследования в новом направлении медицинской вирусологии – в онколитической виро-терапии против глиобластомы (наиболее распространенной и агрессивной формы опухоли мозга). На мышах исследована безопасность и эффективность кандидатной живой аттенуированной вакцины ZIKV-LAV (live attenu-

ated) при лечении глиобластомы. Внутримозговая инъекция вакцины не вызывала у животных никаких неврологических симптомов или поведенческих аномалий. Нейровирулентность ZIKV-LAV была более ослаблена, чем у лицензированной вакцины против желтой лихорадки и значительно снижала рост внутримозговой опухоли, вызывая апоптоз раковых клеток. Зафиксировано длительное выживание подопытных животных при сравнении с контрольной группой [50].

Таким образом, представленные в обзоре литературные данные демонстрируют, что за довольно короткий промежуток времени изучения ZIKV, в связи с его глобальным распространением и угрозой для людей, были разработаны биомодели для изучения патогенеза этого вируса. Значительное количество исследований заболевания, вызванного ZIKV, проведено на иммунодефицитных мышах, так как у иммунокомпетентных животных репликация ZIKV подавляется интерфероном (IFN) типа I. Наиболее подходящей моделью для понимания последствий врожденной инфекции, а также для доклинической оценки вакцин и антивирусных препаратов во время беременности являются обезьяны вида *Macaca mulatta*. Экспериментально подтверждены нейротератогенность ZIKV, его способность к половому способу передачи и персистенции в мужском репродуктивном тракте, глазах и других органах. На макаках-резусах показано, что вероятность внутриутробной передачи и развития патологии плода при половом контакте выше, чем при укусе комара. Инфицированные эмбрионы обычной домашней свиньи и гуманизированные куриные эмбрионы оказались адекватными моделями для изучения механизмов развития микроцефалии. Недавно было обнаружено, что нейротропность ZIKV может быть полезным свойством для использования его в онколитической виротерапии против глиобластомы.

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

Список литературы

1. Armstrong N., Hou W., Tang Q. Biological and historical overview of Zika virus. *World J. Virol.* 2017; 6(1):1–8. DOI: 10.5501/wjv.v6.i1.1.
2. Sikka V., Chattu V.K., Popli R.K., Galwankar S.C., Kelkar D., Sawicki S.G., Stawicki S.P., Papadimos T.J. The Emergence of Zika Virus as a Global Health Security Threat: A Review and a Consensus Statement of the INDUSEM Joint Working Group (JWG). *J. Glob. Infect. Dis.* 2016; 8(1):3–15. DOI: 10.4103/0974-777X.176140.
3. Bearcroft W.G. Zika virus infection experimentally induced in a human volunteer. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1956; 50(5):442–8. PubMed PMID: 13380987.
4. Lanciotti R.S., Kosoy O.L., Laven J.J., Velez J.O., Lambert A.J., Johnson A.J., Stanfield S.M., Duffy M.R. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(8):1232–9. DOI: 10.3201/eid1408.080287.
5. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков А.В., Викторов Д.В., Смелянский В.П., Жуков К.В., Бородай Н.В., Шпак И.М., Куличенко А.Н., Михеев В.Н., Малеев В.В., Шипулин А.Г. Лихорадка Зика: состояние проблемы на современном этапе. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2016; 1:5–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-5-12.
6. Acosta-Reyes J., Navarro E., Herrera M.J., Goenaga E.,

- Ospina M.L., Parra E., Mercado M., Chaparro P., Beltran M., Gunturiz M.L., Pardo L., Valencia C., Huertas S., Rodriguez J., Ruiz G., Valencia D., Haddad L.B., Tinker S.C., Moore C.A., Baquero H. Severe Neurologic Disorders in 2 Fetuses with Zika Virus Infection, Colombia. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(6):982–4. DOI: 10.3201/eid2306.161702.
7. Waggoner J.J., Pinsky B.A. Zika Virus: Diagnostics for an Emerging Pandemic Threat. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54(4):860–7. DOI: 10.1128/JCM.00279-16.
8. Nicastrì E., Castilletti C., Balestra P., Galgani S., Ippolito G. Zika Virus Infection in the Central Nervous System and Female Genital Tract. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(12):2228–30. DOI: 10.3201/eid2212.161280.
9. Allard A., Althouse B.M., Hébert-Dufresne L., Scarpino S.V. The risk of sustained sexual transmission of Zika is underestimated. *PLoS Pathog.* 2017; 13(9):e1006633. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006633.
10. Vorona G.A., Lanni S.M. Fetal Magnetic Resonance Imaging Evaluation of a 21-Week Fetus With Zika Virus Infection. *Pediatr. Neurol.* 2016; 65:98–9. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2016.07.014.
11. Sanin-Blair J.E., Gutiérrez-Márquez C., Herrera D.A., Vossough A. Fetal Magnetic Resonance Imaging Findings in Prenatal Zika Virus Infection. *Fetal. Diagn. Ther.* 2017; 42(2):153–7. DOI: 10.1159/000454860.
12. Linden V.V., Linden H.V. Junior, Leal M.C., Rolim E.L. Filho, Linden A.V., Aragão M.F.V.V., Brainer-Lima A.M., Cruz D.D.C.S., Ventura L.O., Florêncio T.L.T., Cordeiro M.T., Caudas S.D.S., Neto, Ramos R.C. Discordant clinical outcomes of congenital Zika virus infection in twin pregnancies. *Arg. Neuropsiquiatr.* 2017; 75(6):381–6. DOI: 10.1590/0004-282X20170066.
13. de Araújo T.V., Martelli C.T., de Souza W.V. Zika virus and microcephaly – Authors' reply. *Lancet. Infect. Dis.* 2016; 16(12):1332. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30457-1.
14. Schwartzmann P.V., Ramalho L.N., Neder L., Vilar F.C., Ayub-Ferreira S.M., Romeiro M.F., Takayanagui O.M., Dos Santos A.C., Schmidt A., Figueiredo L.T., Arena R., Simões M.V. Zika Virus Meningoencephalitis in an Immunocompromised Patient. *Mayo Clin. Proc.* 2017; 92(3):460–6. DOI: 10.1016/j.mayocp.2016.12.019.
15. Wijdicks E.F., Klein C.J. Guillain-Barré Syndrome. *Mayo Clin. Proc.* 2017; 92(3):467–479. DOI: 10.1016/j.mayocp.2016.12.002.
16. Edupuganti S., Natrajan M.S., Roupheal N., Lai L., Xu Y., Feldhammer M., Hill C., Patel S.M., Johnson S.J., Bower M., Gorchakov R., Berry R., Murray K.O., Mulligan M.J. Biphasic Zika Illness With Rash and Joint Pain. *Open Forum Infect. Dis.* 2017; 4(3):ofx133. DOI: 10.1093/ofid/ofx133.
17. Priyamvada L., Quicke K.M., Hudson W.H., Onlamoon N., Sewatanon J., Edupuganti S., Pattanapanyasat K., Chokephaibulkit K., Mulligan M.J., Wilson P.C., Ahmed R., Suthar M.S., Wrammert J. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2016; 113(28):7852–7. DOI: 10.1073/pnas.1607931113.
18. Lum F.M., Couderc T., Chia B.S., Ong R.Y., Her Z., Chow A., Leo Y.S., Kam Y.W., Rénia L., Lecuit M., Ng L.F.P. Antibody-mediated enhancement aggravates chikungunya virus infection and disease severity. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):1860. DOI: 10.1038/s41598-018-20305-4.
19. Rastogi M., Sharma N., Singh S.K. Flavivirus NS1: a multifaceted enigmatic viral protein. *Virol. J.* 2016; 13:131. DOI: 10.1186/s12985-016-0590-7.
20. Chuang Y.C., Lin J., Lin Y.S., Wang S., Yeh T.M. Dengue Virus Nonstructural Protein 1-Induced Antibodies Cross-React with Human Plasminogen and Enhance Its Activation. *J. Immunol.* 2016; 196(3):1218–26. DOI: 10.4049/jimmunol.1500057.
21. Xia H., Luo H., Shan C., Muruato A.E., Nunes B.T.D., Medeiros D.B.A., Zou J., Xie X., Giraldo M.I., Vasconcelos P.F.C., Weaver S.C., Wang T., Rajsbaum R., Shi P.Y. An evolutionary NS1 mutation enhances Zika virus evasion of host interferon induction. *Nat. Commun.* 2018; 9(1):414. DOI: 10.1038/s41467-017-02816-2.
22. Esteves E., Rosa N., Correia M.J., Arrais J.P., Barros M. New Targets for Zika Virus Determined by Human-Viral Interactomic: A Bioinformatics Approach. *Biomed Res. Int.* 2017; 2017:1734151. DOI: 10.1155/2017/1734151.
23. Lin D., Li L., Xie T., Yin Q., Saksena N., Wu R., Li W., Dai G., Ma J., Zhou X., Chen X. Codon usage variation of Zika virus: the potential roles of NS2B and NS4A in its global pandemic. *Virus Res.* 2018; 247:71–83. DOI: 10.1016/j.virusres.2018.01.014.
24. Koma T., Veljkovic V., Anderson D.E., Wang L.F., Rossi S.L., Shan C., Shi P.Y., Beasley D.W., Bukreyeva N., Smith J.N., Hallam S., Huang C., von Messling V., Paessler S. Zika virus infection elicits auto-antibodies to C1q. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):1882. DOI: 10.1038/s41598-018-20185-8.
25. Sheridan M.A., Yunusov D., Balaraman V., Alexenko A.P., Yabe S., Verjovski-Almeida S., Schust D.J., Franz A.W., Sadovsky Y., Ezashi T., Roberts R.M. Vulnerability of primitive human placental trophoblast to Zika virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114(9):E1587–E1596. DOI: 10.1073/pnas.1616097114.
26. Paganì I., Ghezzi S., Ulisse A., Rubio A., Turrini F.,

- Garavaglia E., Candiani M., Castilletti C., Ippolito G., Poli G., Broccoli V., Panina-Bordignon P., Vicenzi E. Human Endometrial Stromal Cells Are Highly Permissive to Productive Infection by Zika Virus. *Sci. Rep.* 2017; 7:44286. DOI: 10.1038/srep44286.
27. Lanko K., Eggermont K., Patel A., Kaptein S., Delang L., Verfaillie C.M., Neyts J. Replication of the Zika virus in different iPSC-derived neuronal cells and implications to assess efficacy of antivirals. *Antiviral Res.* 2017; 145:82–6. DOI: 10.1016/j.antiviral.2017.07.010.
28. Oh Y., Zhang F., Wang Y., Lee E.M., Choi I.Y., Lim H., Mirakhori F., Li R., Huang L., Xu T., Wu H., Li C., Qin C.F., Wen Z., Wu Q.F., Tang H., Xu Z., Jin P., Song H., Ming G.L., Lee G. Zika virus directly infects peripheral neurons and induces cell death. *Nat. Neurosci.* 2017; 20(9):1209–12. DOI: 10.1038/nn.4612.
29. Cairns D.M., Chwalek K., Moore Y.E., Kelley M.R., Abbott R.D., Moss S., Kaplan D.L. Expandable and Rapidly Differentiating Human Induced Neural Stem Cell Lines for Multiple Tissue Engineering Applications. *Stem Cell Reports.* 2016; 7(3):557–570. DOI: 10.1016/j.stemcr.2016.07.017.
30. Chan J.F., Yip C.C., Tsang J.O., Tee K.M., Cai J.P., Chik K.K., Zhu Z., Chan C.C., Choi G.K., Sridhar S., Zhang A.J., Lu G., Chiu K., Lo A.C., Tsao S.W., Kok K.H., Jin D.Y., Chan K.H., Yuen K.Y. Differential cell line susceptibility to the emerging Zika virus: implications for disease pathogenesis, non-vector-borne human transmission and animal reservoirs. *Emerg. Microbes Infect.* 2016; 5:e93. DOI: 10.1038/emi.2016.99.
31. Morrison T.E., Diamond M.S. Animal Models of Zika Virus Infection, Pathogenesis, and Immunity. *J. Virol.* 2017; 91(8):e00009–17. DOI: 10.1128/JVI.00009-17.
32. Newman C.M., Dudley D.M., Aliota M.T., Weiler A.M., Barry G.L., Mohs M.S., Breitbach M.E., Stewart L.M., Buechler C.R., Graham M.E., Post J., Schultz-Darken N., Peterson E., Newton W., Mohr E.L., Capuano S. 3rd, O'Connor D.H., Friedrich T.C. Oropharyngeal mucosal transmission of Zika virus in rhesus macaques. *Nat. Commun.* 2017; 8(1):169. DOI: 10.1038/s41467-017-00246-8.
33. Silveira E.L.V., Rogers K.A., Gumber S., Amancha P., Xiao P., Woollard S.M., Byrreddy S.N., Teixeira M.M., Villinger F. Immune Cell Dynamics in Rhesus Macaques Infected with a Brazilian Strain of Zika Virus. *J. Immunol.* 2017; 199(3):1003–11. DOI: 10.4049/jimmunol.1700256.
34. Carroll T., Lo M., Lanteri M., Dutra J., Zarbock K., Silveira P., Rourke T., Ma Z.M., Fritts L., O'Connor S., Busch M., Miller C.J. Zika virus preferentially replicates in the female reproductive tract after vaginal inoculation of rhesus macaques. *PLoS Pathog.* 2017; 13(7):e1006537. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006537.
35. Mohr E.L., Block L.N., Newman C.M., Stewart L.M., Koenig M., Semler M., Breitbach M.E., Teixeira L.B.C., Zeng X., Weiler A.M., Barry G.L., Thoong T.H., Wiep G.J., Dudley D.M., Simmons H.A., Mejia A., Morgan T.K., Salamat M.S., Kohn S., Antony K.M., Aliota M.T., Mohs M.S., Hayes J.M., Schultz-Darken N., Schotzko M.L., Peterson E., Capuano S. 3rd, Osorio J.E., O'Connor S.L., Friedrich T.C., O'Connor D.H., Golos T.G. Ocular and uteroplacental pathology in a macaque pregnancy with congenital Zika virus infection. *PLoS One.* 2018; 13(1):e0190617. DOI: 10.1371/journal.pone.0190617.
36. Mavigner M., Raper J., Kovacs-Balint Z., Gumber S., O'Neal J.T., Bhaumik S.K., Zhang X., Habib J., Mattingly C., McDonald C.E., Avanzato V., Burke M.W., Magnani D.M., Bailey V.K., Watkins D.I., Vanderford T.H., Fair D., Earl E., Feczko E., Styner M., Jean S.M., Cohen J.K., Silvestri G., Johnson R.P., O'Connor D.H., Wrammert J., Suthar M.S., Sanchez M.M., Alvarado M.C., Chahroudi A. Postnatal Zika virus infection is associated with persistent abnormalities in brain structure, function, and behavior in infant macaques. *Sci. Transl. Med.* 2018; 10(435):eaao6975. DOI: 10.1126/scitranslmed.aao6975.
37. Darbellay J., Lai K., Babiuk S., Berhane Y., Ambagala A., Wheler C., Wilson D., Walker S., Potter A., Gilmour M., Safronetz D., Gerdt S., Karniychuk U. Neonatal pigs are susceptible to experimental Zika virus infection. *Emerg. Microbes Infect.* 2017; 6(2):e6. DOI: 10.1038/emi.2016.133.
38. Wichgers Schreur P.J., van Keulen L., Anjema D., Kant J., Kortekaas J. Microencephaly in fetal piglets following in utero inoculation of Zika virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1):42. DOI: 10.1038/s41426-018-0044-y.
39. Winkler C.W., Woods T.A., Rosenke R., Scott D.P., Best S.M., Peterson K.E. Sexual and Vertical Transmission of Zika Virus in anti-interferon receptor-treated Rag1-deficient mice. *Sci. Rep.* 2017; 7(1):7176. DOI: 10.1038/s41598-017-07099-7.
40. Zukor K., Wang H., Siddharthan V., Julander J.G., Morrey J.D. Zika virus-induced acute myelitis and motor deficits in adult interferon $\alpha\beta\gamma$ receptor knockout mice. *J. Neurovirol.* 2018; 24(3):273–290. DOI: 10.1007/s13365-017-0595-z.
41. Rossi S.L., Tesh R.B., Azar S.R., Muruato A.E., Hanley K.A., Auguste A.J., Langsjoen R.M., Paessler S., Vasilakis N., Weaver S.C. Characterization of a Novel Murine Model to Study Zika Virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2016; 94(6):1362–9. DOI: 10.4269/ajtmh.16-0111.
42. Dowall S.D., Graham V.A., Rayner E., Hunter L., Atkinson B., Pearson G., Dennis M., Hewson R. Lineage-dependent differences in the disease progression of Zika virus infection in type-I interferon receptor knockout (A129) mice. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(7):e0005704. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005704.
43. Secundino N.F.C., Chaves B.A., Orfano A.S., Silveira K.R.D., Rodrigues N.B., Campolina T.B., Nacif-Pimenta R., Villegas L.E.M., Silva B.M., Lacerda M.V.G., Norris D.E., Pimenta P.F.P. Zika virus transmission to mouse ear by mosquito bite: a laboratory model that replicates the natural transmission process. *Parasit. Vectors.* 2017; 10(1):346. DOI: 10.1186/s13071-017-2286-2.
44. Uraki R., Hwang J., Jurado K.A., Householder S., Yockey L.J., Hastings A.K., Homer R.J., Iwasaki A., Fikrig E. Zika virus causes testicular atrophy. *Sci. Adv.* 2017; 3(2):e1602899. DOI: 10.1126/sciadv.1602899.
45. Sheng Z.Y., Gao N., Wang Z.Y., Cui X.Y., Zhou D.S., Fan D.Y., Chen H., Wang P.G., An J. Sertoli Cells Are Susceptible to ZIKV Infection in Mouse Testis. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2017; 7:272. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00272.
46. Shi Y., Li S., Wu Q., Sun L., Zhang J., Pan N., Wang Q., Bi Y., An J., Lu X., Gao G.F., Wang X. Vertical Transmission of the Zika Virus Causes Neurological Disorders in Mouse Offspring. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):3541. DOI: 10.1038/s41598-018-21894-w.
47. Miller L.J., Nasar F., Schellhase C.W., Norris S.L., Kimmel A.E., Valdez S.M., Wollen-Roberts S.E., Shamblin J.D., Sprague T.R., Lugo-Roman L.A., Jarman R.G., Yoon I.K., Alera M.T., Bavari S., Pitt M.L.M., Haddow A.D. Zika Virus Infection in Syrian Golden Hamsters and Strain 13 Guinea Pigs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018; 98(3):864–7. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0686.
48. Goodfellow F.T., Tesla B., Simchick G., Zhao Q., Hodge T., Brindley M.A., Stice S.L. Zika Virus Induced Mortality and Microcephaly in Chicken Embryos. *Stem Cells Dev.* 2016; 25(22):1691–7. DOI: 10.1089/scd.2016.0231.
49. Cairns D.M., Boorgu D.S.S.K., Levin M., Kaplan D.L. Niclosamide rescues microcephaly in a humanized in vivo model of Zika infection using human induced neural stem cells. *Biol. Open.* 2018; 7(1):bio031807. DOI: 10.1242/bio.031807.
50. Chen Q., Wu J., Ye Q., Ma F., Zhu Q., Wu Y., Shan C., Xie X., Li D., Zhan X., Li C., Li X.F., Qin X., Zhao T., Wu H., Shi P.Y., Man J., Qin C.F. Treatment of Human Glioblastoma with a Live Attenuated Zika Virus Vaccine Candidate. *MBio.* 2018; 9(5):e01683–18. DOI: 10.1128/mBio.01683-18.

References

- Armstrong N., Hou W., Tang Q. Biological and historical overview of Zika virus. *World J. Virol.* 2017; 6(1):1–8. DOI: 10.5501/wjv.v6.i1.1.
- Sikka V., Chattu V.K., Popli R.K., Galwankar S.C., Kelkar D., Sawicki S.G., Stawicki S.P., Papadimos T.J. The Emergence of Zika Virus as a Global Health Security Threat: A Review and a Consensus Statement of the INDUSEM Joint Working Group (JWG). *J. Glob. Infect. Dis.* 2016; 8(1):3–15. DOI: 10.4103/0974-777X.176140.
- Bearcroft W.G. Zika virus infection experimentally induced in a human volunteer. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1956; 50(5):442–8. PubMed PMID: 13380987.
- Lanciotti R.S., Kosoy O.L., Laven J.J., Velez J.O., Lambert A.J., Johnson A.J., Stanfield S.M., Duffy M.R. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(8):1232–9. DOI: 10.3201/eid1408.080287.
- Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Toporkov A.V., Viktorov D.V., Smelyansky V.P., Zhukov K.V., Boroday N.V., Shpak I.M., Kulichenko A.N., Mikheev V.N., Maleev V.V., Shipulin A.G. Zika fever: the current state of the issue. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 1:5–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-5-12.
- Acosta-Reyes J., Navarro E., Herrera M.J., Goenaga E., Ospina M.L., Parra E., Mercado M., Chaparro P., Beltran M., Gunturiz M.L., Pardo L., Valencia C., Huertas S., Rodriguez J., Ruiz G., Valencia D., Haddad L.B., Tinker S.C., Moore C.A., Baquero H. Severe Neurologic Disorders in 2 Fetuses with Zika Virus Infection, Colombia. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(6):982–4. DOI: 10.3201/eid2306.161702.
- Waggoner J.J., Pinsky B.A. Zika Virus: Diagnostics for an Emerging Pandemic Threat. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54(4):860–7. DOI: 10.1128/JCM.00279-16.
- Nicastri E., Castilletti C., Balestra P., Galgani S., Ippolito G. Zika Virus Infection in the Central Nervous System and Female Genital Tract. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(12):2228–30. DOI: 10.3201/eid2212.161280.
- Allard A., Althouse B.M., Hébert-Dufresne L., Scarpino S.V. The risk of sustained sexual transmission of Zika is underestimated. *PLoS Pathog.* 2017; 13(9):e1006633. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006633.
- Vorona G.A., Lanni S.M. Fetal Magnetic Resonance Imaging Evaluation of a 21-Week Fetus With Zika Virus Infection. *Pediatr.*

- Neurol. 2016; 65:98–9. DOI: 10.1016/j.pediatrneurol.2016.07.014.
11. Sanin-Blair J.E., Gutiérrez-Márquez C., Herrera D.A., Vossough A. Fetal Magnetic Resonance Imaging Findings in Prenatal Zika Virus Infection. *Fetal. Diagn. Ther.* 2017; 42(2):153–7. DOI: 10.1159/000454860.
12. Linden V.V., Linden H.V. Junior, Leal M.C., Rolim E.L. Filho, Linden A.V., Araújo M.F.V.V., Brainer-Lima A.M., Cruz D.D.C.S., Ventura L.O., Florêncio T.L.T., Cordeiro M.T., Caudas S.D.S. Neto, Ramos R.C. Discordant clinical outcomes of congenital Zika virus infection in twin pregnancies. *Arg. Neuropsiquiatr.* 2017; 75(6):381–6. DOI: 10.1590/0004-282X20170066.
13. de Araújo T.V., Martelli C.T., de Souza W.V. Zika virus and microcephaly – Authors' reply. *Lancet. Infect. Dis.* 2016; 16(12):1332. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30457-1.
14. Schwartzmann P.V., Ramalho L.N., Neder L., Vilar F.C., Ayub-Ferreira S.M., Romeiro M.F., Takayanagui O.M., Dos Santos A.C., Schmidt A., Figueiredo L.T., Arena R., Simões M.V. Zika Virus Meningoencephalitis in an Immunocompromised Patient. *Mayo Clin. Proc.* 2017; 92(3):460–6. DOI: 10.1016/j.mayocp.2016.12.019.
15. Wijedicks E.F., Klein C.J. Guillain-Barré Syndrome. *Mayo Clin. Proc.* 2017; 92(3):467–479. DOI: 10.1016/j.mayocp.2016.12.002.
16. Edupuganti S., Natrajan M.S., Roupheal N., Lai L., Xu Y., Feldhammer M., Hill C., Patel S.M., Johnson S.J., Bower M., Gorchakov R., Berry R., Murray K.O., Mulligan M.J. Biphasic Zika Illness With Rash and Joint Pain. *Open Forum Infect. Dis.* 2017; 4(3):ofx133. DOI: 10.1093/ofid/ofx133.
17. Priyamvada L., Quicke K.M., Hudson W.H., Onlamoon N., Sewatanon J., Edupuganti S., Pattanapanyasat K., Chokephaibulkit K., Mulligan M.J., Wilson P.C., Ahmed R., Suthar M.S., Wrammert J. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2016; 113(28):7852–7. DOI: 10.1073/pnas.1607931113.
18. Lum F.M., Couderc T., Chia B.S., Ong R.Y., Her Z., Chow A., Leo Y.S., Kam Y.W., Rénia L., Lecuit M., Ng L.F.P. Antibody-mediated enhancement aggravates chikungunya virus infection and disease severity. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):1860. DOI: 10.1038/s41598-018-20305-4.
19. Rastogi M., Sharma N., Singh S.K. Flavivirus NS1: a multifaceted enigmatic viral protein. *Virology* 2016; 13:131. DOI: 10.1186/s12985-016-0590-7.
20. Chuang Y.C., Lin J., Lin Y.S., Wang S., Yeh T.M. Dengue Virus Nonstructural Protein 1-Induced Antibodies Cross-React with Human Plasminogen and Enhance Its Activation. *J. Immunol.* 2016; 196(3):1218–26. DOI: 10.4049/jimmunol.1500057.
21. Xia H., Luo H., Shan C., Muruato A.E., Nunes B.T.D., Medeiros D.B.A., Zou J., Xie X., Giraldo M.I., Vasconcelos P.F.C., Weaver S.C., Wang T., Rajsbaum R., Shi P.Y. An evolutionary NS1 mutation enhances Zika virus evasion of host interferon induction. *Nat. Commun.* 2018; 9(1):414. DOI: 10.1038/s41467-017-02816-2.
22. Esteves E., Rosa N., Correia M.J., Arrais J.P., Barros M. New Targets for Zika Virus Determined by Human-Viral Interactomic: A Bioinformatics Approach. *Biomed Res. Int.* 2017; 2017:1734151. DOI: 10.1155/2017/1734151.
23. Lin D., Li L., Xie T., Yin Q., Saksena N., Wu R., Li W., Dai G., Ma J., Zhou X., Chen X. Codon usage variation of Zika virus: the potential roles of NS2B and NS4A in its global pandemic. *Virus Res.* 2018; 247:71–83. DOI: 10.1016/j.virusres.2018.01.014.
24. Koma T., Veljkovic V., Anderson D.E., Wang L.F., Rossi S.L., Shan C., Shi P.Y., Beasley D.W., Bukreyeva N., Smith J.N., Hallam S., Huang C., von Messling V., Paessler S. Zika virus infection elicits auto-antibodies to C1q. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):1882. DOI: 10.1038/s41598-018-20185-8.
25. Sheridan M.A., Yunusov D., Balaraman V., Alexenko A.P., Yabe S., Verjovski-Almeida S., Schust D.J., Franz A.W., Sadovsky Y., Ezashi T., Roberts R.M. Vulnerability of primitive human placental trophoblast to Zika virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114(9):E1587–E1596. DOI: 10.1073/pnas.1616097114.
26. Pagani I., Ghezzi S., Ulisse A., Rubio A., Turrini F., Garavaglia E., Candiani M., Castilletti C., Ippolito G., Poli G., Broccoli V., Panina-Bordignon P., Vicenzi E. Human Endometrial Stromal Cells Are Highly Permissive to Productive Infection by Zika Virus. *Sci. Rep.* 2017; 7:44286. DOI: 10.1038/srep44286.
27. Lanko K., Eggermont K., Patel A., Kaptein S., Delang L., Verfaillie C.M., Neyts J. Replication of the Zika virus in different iPSC-derived neuronal cells and implications to assess efficacy of antivirals. *Antiviral Res.* 2017; 145:82–6. DOI: 10.1016/j.antiviral.2017.07.010.
28. Oh Y., Zhang F., Wang Y., Lee E.M., Choi I.Y., Lim H., Mirakhori F., Li R., Huang L., Xu T., Wu H., Li C., Qin C.F., Wen Z., Wu Q.F., Tang H., Xu Z., Jin P., Song H., Ming G.L., Lee G. Zika virus directly infects peripheral neurons and induces cell death. *Nat. Neurosci.* 2017; 20(9):1209–12. DOI: 10.1038/nn.4612.
29. Cairns D.M., Chwalek K., Moore Y.E., Kelley M.R., Abbott R.D., Moss S., Kaplan D.L. Expandable and Rapidly Differentiating Human Induced Neural Stem Cell Lines for Multiple Tissue Engineering Applications. *Stem Cell Reports.* 2016; 7(3):557–570. DOI: 10.1016/j.stemcr.2016.07.017.
30. Chan J.F., Yip C.C., Tsang J.O., Tee K.M., Cai J.P., Chik K.K., Zhu Z., Chan C.C., Choi G.K., Sridhar S., Zhang A.J., Lu G., Chiu K., Lo A.C., Tsao S.W., Kok K.H., Jin D.Y., Chan K.H., Yuen K.Y. Differential cell line susceptibility to the emerging Zika virus: implications for disease pathogenesis, non-vector-borne human transmission and animal reservoirs. *Emerg. Microbes Infect.* 2016; 5:e93. DOI: 10.1038/emi.2016.99.
31. Morrison T.E., Diamond M.S. Animal Models of Zika Virus Infection, Pathogenesis, and Immunity. *J. Virol.* 2017; 91(8):e00009–17. DOI: 10.1128/JVI.00009-17.
32. Newman C.M., Dudley D.M., Aliota M.T., Weiler A.M., Barry G.L., Mohns M.S., Breitbach M.E., Stewart L.M., Buechler C.R., Graham M.E., Post J., Schultz-Darken N., Peterson E., Newton W., Mohr E.L., Capuano S. 3rd, O'Connor D.H., Friedrich T.C. Oropharyngeal mucosal transmission of Zika virus in rhesus macaques. *Nat. Commun.* 2017; 8(1):169. DOI: 10.1038/s41467-017-00246-8.
33. Silveira E.L.V., Rogers K.A., Gumber S., Amancha P., Xiao P., Woollard S.M., Byrareddy S.N., Teixeira M.M., Villinger F. Immune Cell Dynamics in Rhesus Macaques Infected with a Brazilian Strain of Zika Virus. *J. Immunol.* 2017; 199(3):1003–11. DOI: 10.4049/jimmunol.1700256.
34. Carroll T., Lo M., Lanteri M., Dutra J., Zarbock K., Silveira P., Rourke T., Ma Z.M., Fritts L., O'Connor S., Busch M., Miller C.J. Zika virus preferentially replicates in the female reproductive tract after vaginal inoculation of rhesus macaques. *PLoS Pathog.* 2017; 13(7):e1006537. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006537.
35. Mohr E.L., Block L.N., Newman C.M., Stewart L.M., Koenig M., Semler M., Breitbach M.E., Teixeira L.B.C., Zeng X., Weiler A.M., Barry G.L., Thoong T.H., Wiep J.G., Dudley D.M., Simmons H.A., Mejia A., Morgan T.K., Salamat M.S., Kohn S., Antony K.M., Aliota M.T., Mohns M.S., Hayes J.M., Schultz-Darken N., Schotzko M.L., Peterson E., Capuano S. 3rd, Osorio J.E., O'Connor S.L., Friedrich T.C., O'Connor D.H., Golos T.G. Ocular and uteroplacental pathology in a macaque pregnancy with congenital Zika virus infection. *PLoS One.* 2018; 13(1):e0190617. DOI: 10.1371/journal.pone.0190617.
36. Mavigner M., Raper J., Kovacs-Balint Z., Gumber S., O'Neal J.T., Bhaumik S.K., Zhang X., Habib J., Mattingly C., McDonald C.E., Avanzato V., Burke M.W., Magnani D.M., Bailey V.K., Watkins D.I., Vanderford T.H., Fair D., Earl E., Feczko E., Styner M., Jean S.M., Cohen J.K., Silvestri G., Johnson R.P., O'Connor D.H., Wrammert J., Suthar M.S., Sanchez M.M., Alvarado M.C., Chahroudi A. Postnatal Zika virus infection is associated with persistent abnormalities in brain structure, function, and behavior in infant macaques. *Sci. Transl. Med.* 2018; 10(435):eaa06975. DOI: 10.1126/scitranslmed.aao6975.
37. Darbellay J., Lai K., Babiuk S., Berhane Y., Ambagala A., Wheler C., Wilson D., Walker S., Potter A., Gilmour M., Safronetz D., Gerds V., Karnychuk U. Neonatal pigs are susceptible to experimental Zika virus infection. *Emerg. Microbes Infect.* 2017; 6(2):e6. DOI: 10.1038/emi.2016.133.
38. Wichgers Schreur P.J., van Keulen L., Anjema D., Kant J., Kortekaas J. Microcephaly in fetal piglets following in utero inoculation of Zika virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2018; 7(1):42. DOI: 10.1038/s41426-018-0044-y.
39. Winkler C.W., Woods T.A., Rosenke R., Scott D.P., Best S.M., Peterson K.E. Sexual and Vertical Transmission of Zika Virus in anti-interferon receptor-treated Rag1-deficient mice. *Sci. Rep.* 2017; 7(1):7176. DOI: 10.1038/s41598-017-07099-7.
40. Zukor K., Wang H., Siddharthan V., Julander J.G., Morrey J.D. Zika virus-induced acute myelitis and motor deficits in adult interferon $\alpha\beta/\gamma$ receptor knockout mice. *J. Neurovirol.* 2018; 24(3):273–290. DOI: 10.1007/s13365-017-0595-z.
41. Rossi S.L., Tesh R.B., Azar S.R., Muruato A.E., Hanley K.A., Auguste A.J., Langsjoen R.M., Paessler S., Vasilakis N., Weaver S.C. Characterization of a Novel Murine Model to Study Zika Virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2016; 94(6):1362–9. DOI: 10.4269/ajtmh.16-0111.
42. Dowall S.D., Graham V.A., Rayner E., Hunter L., Atkinson B., Pearson G., Dennis M., Hewson R. Lineage-dependent differences in the disease progression of Zika virus infection in type-I interferon receptor knockout (A129) mice. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(7):e0005704. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005704.
43. Secundino N.F.C., Chaves B.A., Orfano A.S., Silveira K.R.D., Rodrigues N.B., Campolina T.B., Nacif-Pimenta R., Villegas L.E.M., Silva B.M., Lacerda M.V.G., Norris D.E., Pimenta P.F.P. Zika virus transmission to mouse ear by mosquito bite: a laboratory model that replicates the natural transmission process. *Parasit. Vectors.* 2017; 10(1):346. DOI: 10.1186/s13071-017-2286-2.
44. Uraki R., Hwang J., Jurado K.A., Householder S., Yockey L.J., Hastings A.K., Homer R.J., Iwasaki A., Fikrig E. Zika virus causes testicular atrophy. *Sci. Adv.* 2017; 3(2):e1602899. DOI: 10.1126/sciadv.1602899.
45. Sheng Z.Y., Gao N., Wang Z.Y., Cui X.Y., Zhou D.S., Fan D.Y., Chen H., Wang P.G., An J. Sertoli Cells Are Susceptible to ZIKV Infection in Mouse Testis. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2017; 7:272. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00272.

46. Shi Y., Li S., Wu Q., Sun L., Zhang J., Pan N., Wang Q., Bi Y., An J., Lu X., Gao G.F., Wang X. Vertical Transmission of the Zika Virus Causes Neurological Disorders in Mouse Offspring. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):3541. DOI: 10.1038/s41598-018-21894-w.
47. Miller L.J., Nasar F., Schellhase C.W., Norris S.L., Kimmel A.E., Valdez S.M., Wollen-Roberts S.E., Shamblin J.D., Sprague T.R., Lugo-Roman L.A., Jarman R.G., Yoon I.K., Alera M.T., Bavari S., Pitt M.L.M., Haddow A.D. Zika Virus Infection in Syrian Golden Hamsters and Strain 13 Guinea Pigs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018; 98(3):864–7. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0686.
48. Goodfellow F.T., Tesla B., Simchick G., Zhao Q., Hodge T., Brindley M.A., Stice S.L. Zika Virus Induced Mortality and Microcephaly in Chicken Embryos. *Stem Cells Dev.* 2016; 25(22):1691–7. DOI: 10.1089/scd.2016.0231.
49. Cairns D.M., Boorgu D.S.S.K., Levin M., Kaplan D.L. Niclosamide rescues microcephaly in a humanized in vivo model of Zika infection using human induced neural stem cells. *Biol. Open.* 2018; 7(1): bio031807. DOI: 10.1242/bio.031807.
50. Chen Q., Wu J., Ye Q., Ma F., Zhu Q., Wu Y., Shan C., Xie X., Li D., Zhan X., Li C., Li X.F., Qin X., Zhao T., Wu H., Shi P.Y., Man J., Qin C.F. Treatment of Human Glioblastoma with a Live

Attenuated Zika Virus Vaccine Candidate. *MBio.* 2018; 9(5):e01683–18. DOI: 10.1128/mBio.01683-18.

Authors:

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

Об авторах:

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

Поступила 05.09.18.

Отправлена на доработку 03.10.18.

Принята к публ. 05.12.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-15-19

УДК 578.883.29

Д.К. Львов, С.В. Альховский

ОТРЯД BUNYAVIRALES

Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация

В 2017 г. Международным комитетом по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) установлен и утвержден новый отряд *Bunyavirales*, который объединил эволюционно связанные вирусы, чей геном представлен сегментированной линейной одноцепочечной РНК отрицательной или амбисенс (ambisense) полярности. В настоящее время отряд *Bunyavirales* включает 10 семейств вирусов, которые инфицируют позвоночных животных, беспозвоночных (членистоногие) и растения. На территории Северной Евразии изолировано не менее 41 зоонозного буньявируса, многие из которых имеют значение в патологии человека. В настоящем обзоре представлен состав семейств, входящих в порядок *Bunyavirales*, и представлен список зоонозных буньявирусов, циркулирующих на территории Северной Евразии с указанием их современного таксономического положения. Большинство из них являются арбовирусами, экологически связанными с разными видами комаров или аргасовых и иксодовых клещей.

Ключевые слова: Буньявирусы, таксономия вирусов, Международный комитет по таксономии вирусов.

Корреспондирующий автор: Львов Дмитрий Константинович, e-mail: dk_lvov@mail.ru.

Для цитирования: Львов Д.К., Альховский С.В. Отряд *Bunyavirales*. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 4:15–19. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-15-19

D.K. Lvov, S.V. Alkhovsky

Bunyavirales Order

D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Center on Microbiology and Epidemiology of Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Abstract. In 2017 the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) established and approved a new order *Bunyavirales* that unite evolutionarily related viruses whose genome is represented by a segmented linear single-stranded RNA of negative or ambisense polarity. Currently, the order *Bunyavirales* includes 10 families that infect vertebrate animals, invertebrates (arthropods), and plants. At least 41 zoonotic bunyaviruses, including pathogenic for human, were isolated on the territory of Northern Eurasia. This review presents the data on the composition of the families belonging to the order *Bunyavirales* and a list of zoonotic bunyaviruses, isolated in Northern Eurasia, indicating their modern taxonomy. Most of them are arboviruses, associated with different species of mosquitoes or ticks.

Key words: bunyaviruses, virus taxonomy, International Committee on Taxonomy of Viruses.

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

Funding: The work was funded by Russian Foundation for Basic Research; research project 18-04-01302a.

Corresponding author: Dmitry K. Lvov, e-mail: dk_lvov@mail.ru.

Citation: Lvov D.K., Alkhovsky S.V. *Bunyavirales* Order. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 4:15–19. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-15-19

Received 30.11.18. Revised 10.12.18. Accepted 13.12.18.

Lvov Dmitry Konstantinovich, dk_lvov@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8176-6582>

Alkhovsky Sergey Vladimirovich, salkh@ya.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6913-5841>

В марте 2017 г. Международным комитетом по таксономии вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) установлен новый отряд *Bunyavirales*, который объединил более 500 эволюционно связанных вирусов, чей геном представлен сегментированной, линейной РНК отрицательной или амбисенс (ambisense) полярности [1]. Отряд *Bunyavirales* сформирован на основе бывшего семейства *Bunyaviridae*, а статус входящих в его состав родов *Orthobunyavirus*, *Nairovirus*, *Phlebovirus*, *Hantavirus* и *Tospovirus* повышен до семейства. Семейства реорганизованы и переименованы в *Peribunyaviridae*, *Nairoviridae*, *Phenuiviridae*, *Hantaviridae* и *Tospoviridae* соответственно. Кроме этого, в состав отряда *Bunyavirales* включены че-

тыре вновь образованных семейства вирусов растений (*Fimoviridae*) и членистоногих (*Feraviridae*, *Jonviridae*, *Phasmaviridae* и *Wupedeviridae*) [1, 2]. Необходимость преобразования семейства *Bunyaviridae* в отряд *Bunyavirales* обусловлена открытием ряда новых вирусов, а также накопленными в последние годы генетическими данными для ранее неклассифицированных буньявирусов. В настоящее время отряд *Bunyavirales* включает 10 семейств вирусов, которые инфицируют позвоночных животных, беспозвоночных (членистоногие) и растения. Вместе с тем, отряд *Bunyavirales* вошел в состав таксонов более высокого ранга, установленных в 2018 г. для вирусов с РНК геномом отрицательной полярности – класс *Ellioviricetes*, подтип

Polyploviricotina, тип *Negarnaviricota* (<https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>). В настоящем обзоре представлены данные о структуре семейств, входящих в отряд *Bunyavirales* (табл. 1).

Семейство *Peribunyaviridae* сформировано путем включения рода *Orthobunyavirus* и вновь образованного рода *Herbivirus*, объединяющего несколько новых видов комариных буньявирусов [3–5]. Вирусы Тягиня, Инко и Хатанга, принадлежащие виду *California encephalitis orthobunyavirus* (*Orthobunyavirus*, *Peribunyaviridae*), широко распространены в России и вызывают спорадические случаи и вспышки гриппоподобных заболеваний с пневмонией и симптомами поражения ЦНС в лесной ландшафтной зоне [6, 7].

Семейство *Nairoviridae* включает единственный род *Orthonairovirus*. К нему принадлежит распространенный на юге России и в Центральной Азии вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки (*Crimean-Congo hemorrhagic fever orthonairovirus*), а также вирусы – возбудители лихорадок Иссык-Куль (*Keterah orthonairovirus*) и Тамды (*Tamdy orthonairovirus*) [7].

Семейство *Phenuiviridae* сформировано путем объединения рода *Phlebovirus*, ранее независимого рода вирусов растений *Tenuivirus* [8] и двух вновь сформированных родов вирусов членистоногих – *Goukovirus* и *Phasivirus* [9]. К *Phlebovirus* принадлежат вирусы москитных лихорадок, циркуляция которых зарегистрирована в субтропической зоне пограничных с Россией государствах Центральной

Азии. Из клещевых флебовирусов, вызывающих заболевания человека, на юге России циркулирует вирус Бханжа (*Bhanja phlebovirus*) [7].

Семейство *Hantaviridae* включает единственный род *Orthohantavirus*, который объединяет несколько видов вирусов, вызывающих геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС) и ряд близкородственных им вирусов, значение которых в патологии человека пока не установлено.

Семейство *Tospoviridae* включает единственный род *Orthotospovirus*, который объединяет 11 видов вирусов растений.

Три новых семейства *Feraviridae*, *Jonviridae* и *Phasmaviridae* (каждый включает по одному роду) сформированы для классификации недавно открытых новых буньявирусов членистоногих [4, 10, 11].

Новое семейство *Fimoviridae* сформировано для включения в состав отряда ранее независимого рода вирусов растений *Emaravirus* [11–15].

Новое семейство *Wupedeviridae* включает род *Wumivirus* с единственным известным видом вируса, обнаруженным у членистоногих [4].

На территории Северной Евразии циркулирует не менее 41 зоонозного буньявируса, многие из которых имеют серьезное значение в патологии человека (табл. 2). Возможную связь с патологией человека многих буньявирусов еще предстоит выяснить.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ, проект № 18-04-01302а.

Таблица 1/Table 1

Структура отряда *Bunyavirales* [1]
The structure of the *Bunyavirales* order [1]

Семейство	Род	Прототипный вид рода	Число видов, утвержденных ICTV*	Хозяева
<i>Feraviridae</i>	<i>Orthoferavirus</i>	<i>Ferac orthoferavirus</i>	1	Членистоногие
<i>Fimoviridae</i>	<i>Emaravirus</i>	<i>European mountain ash ringspot-associated emaravirus</i>	9	Растения
<i>Hantaviridae</i>	<i>Orthohantavirus</i>	<i>Hantaan orthohantavirus</i>	42	Позвоночные (грызуны, насекомоядные, человек)
<i>Jonviridae</i>	<i>Orthojonvirus</i>	<i>Jonchet orthojonvirus</i>	1	Членистоногие
<i>Nairoviridae</i>	<i>Orthonairovirus</i>	<i>Dugbe orthonairovirus</i>	14	Позвоночные (птицы, летучие мыши, человек); членистоногие (клещи)
<i>Peribunyaviridae</i>	<i>Herbivirus</i>	<i>Herbert herbivirus</i>	4	Членистоногие
	<i>Orthobunyavirus</i>	<i>Bunyamwera orthobunyavirus</i>	49	Позвоночные (птицы, приматы, человек и др.); членистоногие (комары, мокрецы)
<i>Phasmaviridae</i>	<i>Orthophasmavirus</i>	<i>Kigluaik phantom orthophasmavirus</i>	6	Членистоногие
<i>Phenuiviridae</i>	<i>Goukovirus</i>	<i>Gouleako goukovirus</i>	3	Членистоногие
	<i>Phasivirus</i>	<i>Badu phasivirus</i>	4	Членистоногие
	<i>Phlebovirus</i>	<i>Rift Valley fever phlebovirus</i>	10	Позвоночные (птицы, обезьяны, человек и др.); членистоногие (комары, клещи, москиты)
	<i>Tenuivirus</i>	<i>Rice stripe tenuivirus</i>	7	Растения
<i>Tospoviridae</i>	<i>Orthotospovirus</i>	<i>Tomato spotted wilt orthotospovirus</i>	11	Растения
<i>Wupedeviridae</i>	<i>Wumivirus</i>	<i>Millipede wumivirus</i>	1	Членистоногие

Примечание: *ICTV – International Committee on Taxonomy of Viruses (Международный комитет по таксономии вирусов).

Таблица 2/Table 2

Вирусы отряда *Bunyavirales*, изолированные на территории Северной Евразии и их современное таксономическое положение
Viruses of the *Bunyavirales* order, isolated in the territory of North Eurasia and their current taxonomy position

Семейство	Род	Вид	Вирус	Номер в GenBank	Экосистема или биоценоз	Патогенность для человека	Переносчик	Ссылка
Hantaviridae	Orthohantavirus	Amga orthohantavirus	Артыбаш (ARTV)	EU424339-40	Насекомоядные	?	-	[16]
			Seewis (SWSV)	KY651022-24		?	-	
		Dobrava-Belgrade orthohantavirus	Добрава (DOBV)	NC_005233-35	Грызуны	+	-	[7, 17–19]
			Сочи	JF920148-50		+	-	
		Seoul orthohantavirus	Сеул (SEOV)	NC_005236-38	Грызуны	+	-	
		Tula orthohantavirus	Адлер (ADLV)	KP013572, KP013580	Грызуны	?	-	
			Тула (TULV)	NC_005226-28		?	-	
		Puumala orthohantavirus	Пуумала (PUUV)	NC_005223-25	Грызуны	+	-	
			Уфа (UFAV)	AB29765-67		?	-	
		Hantaan orthohantavirus	Хантаан (HTNV)	NC_00518-21	Грызуны	+	-	
			Амур (AMRV)	AB620028-30		+	-	
		Khabarovsk orthohantavirus	Хабаровск (KHAV)	NC_034518-19, NC_034527	Грызуны	+	-	
			Топографов (TOPV)	AJ011646-47, AL011649		-	-	
Nairoviridae	Orthonairovirus	Artashat orthonairovirus	Арташат (ARTSV)	KP792744-46	Сухие субтропики; норы грызунов	-	Аргасовые клещи	[7, 20]
		Keterah orthonairovirus	Иссык-Куль (ISKV)	KF892055-57	Летучие мыши	+	Аргасовые клещи	[7]
			Узун-Агач (UZAV)	KP792741-43		-		
		Qalyub orthonairovirus	Геран (GRNV)	KP792714-16	Сухие субтропики; норы грызунов	-	Аргасовые клещи	[7, 20]
		Chim orthonairovirus	Чим (CHIMV)	KP792711-13	Сухие субтропики; норы грызунов	-	Аргасовые клещи	[7, 20]
		Crimean-Congo hemorrhagic fever orthonairovirus	Крымской-Конго геморрагической лихорадки (CCHFV)	NC005300-02	Сухая степь; пастбища	+	Иксодовые клещи	[7]
		Hughes orthonairovirus	Каспий (CASV)	KP792708-10	Субарктика; гнездовья колониальных морских птиц	-	Аргасовые клещи	[7, 20]
		Sakhalin orthonairovirus	Сахалин (SAKV)	KP792720-22	Субарктика; гнездовья колониальных морских птиц	-	Иксодовые клещи	[7, 20]
			Парамушир (PMRV)	KP792717-19		-		
		Tamdy orthonairovirus	Тамды (TAMV)	KP792726-28	Сухая степь; пастбища	+	Иксодовые клещи	[7, 20]
			Бурана (BURV)	KP792705-07		-		
Peribunyaviridae	Orthobunyavirus	Bunyamwera orthobunyavirus	Анадырь (ANADV)	KM496335-37	Тайга, смешанные и лиственные леса, лесостепь	-	Комары	[7, 21]
			Батаи (BATV)	JX846595-97		+		
		California encephalitis orthobunyavirus	Инко (INKV)	KT288269-71		+	Комары	[6]
			Тягиня (TAHV)	HM036208-10				
			Хатанга (KHTV)	KT288293-95				
		Неклассифицированные				Хурдун (KHURV)	KF981633-35	Дельта Волги
Phenuiviridae	Phlebovirus	Uukuniemi phlebovirus	Уукуниеми (UUKV)	NC_005220-21, NC_005214	Тайга	-	Иксодовые клещи	[7, 23]
			Залив Терпени (ZTV)	KF892040-42	Субарктика; гнездовья колониальных морских птиц	-		
		Sandfly fever Naples phlebovirus	Москитная лихорадка Неаполь (SFNV)	HM566169-71	Субтропики	+	москиты	[7, 24]
			Москитная лихорадка Сицилия (SFSV)	NC_006318-20				
		Bhanja phlebovirus*	Бханжа (BHAV)	NC_027142	Субтропики; пастбища	+	Иксодовые клещи	[7, 25]
			Раздан (RAZV)	KC335496-98		-		
		Manawa phlebovirus*	Командоры (COMV)	KF892049-51	Субарктика; гнездовья колониальных морских птиц	-	Иксодовые клещи	[7]
		Grand Arbou phlebovirus*	Гиссар (GISV)	KJ425423-25	Гнездовья птиц	-	Аргасовые клещи	[7]
		Kaisodi phlebovirus*	Хасан (KHAV)	KF8922046-8	Тайга	-	Иксодовые клещи	[7]

Примечание: *Виды, в настоящее время не утвержденные ICTV; **Синоним: вирус Ахтуба; н.д. – нет данных.

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

Список литературы

- Calisher C.H., Charrel R.N., Choi I.R., Clegg C.S., de la Torre J.C., Delwart E., DeRisi J.L., Di Bello P.L., Di Serio F., Digiaro M., Dolja V.V., Drosten C., Druciarek T.Z., Du J., Ebihara H., Elbeaino T., Gergerich R.C., Gillis A.N., Gonzalez J.J., Haenni A.L., Hepojoki J., Hetzel U., Ho T., Hong N., Jain R.K., Jansen van Vuren P., Jin Q., Jonson M.G., Junglen S., Keller K.E., Kemp A., Kipar A., Kondov N.O., Koonin E.V., Kormelink R., Korzyukov Y., Krupovic M., Lambert A.J., Laney A.G., LeBreton M., Lukashevich I.S., Marklewitz M., Markotter W., Martelli G.P., Martin R.R., Mielke-Ehret N., Mühlbach H.P., Navarro B., Ng T.F.F., Nunes M.R.T., Palacios G., Paweska J.T., Peters C.J., Plyusnin A., Radoshitzky S.R., Romanowski V., Salmenperä P., Salvato M.S., Sanfaçon H., Sasaya T., Schmaljohn C., Schneider B.S., Shirako Y., Siddell S., Sironen T.A., Stenglein M.D., Storm N., Sudini H., Tesh R.B., Tzanetakis I.E., Uppala M., Vapalahti O., Vasilakis N., Walker P.J., Wang G., Wang L., Wang Y., Wei T., Wiley M.R., Wolf Y.I., Wolfe N.D., Wu Z., Xu W., Yang L., Yang Z., Yeh S.D., Zhang Y.Z., Zheng Y., Zhou X., Zhu C., Zirkel F., Kuhn J.H. Taxonomy of the family Arenaviridae and the order Bunyavirales: update 2018. *Arch Virol.* 2018; 163(8):2295–310. DOI: 10.1007/s00705-018-3843-5.
- Plyusnin A., Beaty B.J., Elliot R.M., Goldbach R., Kormelink R., Lundkvist A. Family Bunyaviridae. In: A.M. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz, eds. *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London: Elsevier; 2012. P. 725–41.
- Marklewitz M., Zirkel F., Rwego I.B., Heidemann H., Trippner P., Kurth A., Kallies R., Briese T., Lipkin W.I., Drosten C., Gillespie T.R., Junglen S. Discovery of a unique novel clade of mosquito-associated bunyaviruses. *J. Virol.* 2013; 87(23):12850–65. DOI: 10.1128/JVI.01862-13.
- Li C.X., Shi M., Tian J.H., Lin X.D., Kang Y.J., Chen L.J., Qin X.C., Xu J., Holmes E.C., Zhang Y.Z. Unprecedented genomic diversity of RNA viruses in arthropods reveals the ancestry of negative-sense RNA viruses. *Elife.* 2015; 4:e05378. DOI: 10.7554/eLife.05378.
- Jansen van Vuren P., Wiley M.R., Palacios G., Storm N., Markotter W., Birkhead M., Kemp A., Paweska J.T. Isolation of a novel orthobunyavirus from bat flies (*Eucampsipoda africana*). *J. Gen. Virol.* 2017; 98(5):935–45. DOI: 10.1099/jgv.0.000753.
- Лаврентьев М.В., Прилипов А.Г., Львов С.Д., Львов Д.К. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей штаммов вируса Хатанга – нового представителя серокомплекса Калифорнийского энцефалита, изолированных в различных регионах Российской Федерации. *Вопросы вирусологии.* 2008; 53(6):25–9.
- Lvov D.K., Shchelkanov M.Y., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. *Taxonomy and Ecology*. London: Academic Press; 2015. 452 p.
- Shirako Y., Falk B.W., Haenni A.L. Genus – Tenuivirus. In: A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz, eds. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier Academic Press; 2012. P. 771–6.
- Marklewitz M., Handrick S., Grasse W., Kurth A., Lukashev A., Drosten C., Ellerbrok H., Leendertz F.H., Pauli G., Junglen S. Gouléoko virus isolated from West African mosquitoes constitutes a proposed novel genus in the family *Bunyaviridae*. *J. Virol.* 2011; 85(17):9227–34. DOI: 10.1128/JVI.00230-11.
- Ballinger M.J., Bruenn J.A., Hay J., Czechowski D., Taylor D.J. Discovery and evolution of bunyavirids in arctic phantom midges and ancient bunyavirid-like sequences in insect genomes. *J. Virol.* 2014; 88(16):8783–94.
- Mühlbach H.P., Mielke-Ehret N. Genus – Emaravirus. In: A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz, eds. *Virus Taxonomy*. San Diego: Elsevier; 2012. P. 767–69.
- Marklewitz M., Zirkel F., Kurth A., Drosten C., Junglen S. Evolutionary and phenotypic analysis of live virus isolates suggests arthropod origin of a pathogenic RNA virus family. *Proc. Natl Acad Sci USA.* 2015; 112(24):7536–41.
- Di Bello P.L., Laney A.G., Druciarek T., Ho T., Gergerich R.C., Keller K.E., Martin R.R., Tzanetakis I.E. A novel emaravirus is associated with redbud yellow ringspot disease. *Virus Res.* 2016; 222:41–7. DOI: 10.1016/j.virusres.2016.05.027.
- Elbeaino T., Digiaro M., Uppala M., Sudini H. Deep sequencing of dsRNAs recovered from mosaic-diseased pigeonpea reveals the presence of a novel emaravirus: pigeonpea sterility mosaic virus 2. *Arch. Virol.* 2015; 160(8):2019–29.
- Zheng Y., Navarro B., Wang G., Wang Y., Yang Z., Xu W., Zhu C., Wang L., Serio F.D., Hong N. Actinidia chlorotic ringspot-associated virus: a novel emaravirus infecting kiwifruit plants. *Mol. Plant. Pathol.* 2017; 18(4):569–81. DOI: 10.1111/mpp.12421.
- Arai S., Kang H.J., Gu S.H., Ohdachi S.D., Cook J.A., Yashina L.N., Tanaka-Taya K., Abramov S.A., Morikawa S., Okabe N., Oishi K., Yanagihara R. Genetic Diversity of Artybash Virus in the Laxmann's Shrew (*Sorex caecutiens*). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16(7):468–75. DOI: 10.1089/vbz.2015.1903.
- Tkachenko E.A., Witkowski P.T., Radosa L., Dzagurova T.K., Okulova N.M., Yunicheva Y.V., Vasilenko L., Morozov V.G., Malkin G.A., Krüger D.H., Klempa B. Adler hantavirus, a new genetic variant of Tula virus identified in Major's pine voles (*Microtus majori*) sampled in southern European Russia. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 29:156–63. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.11.018.
- Dzagurova T.K., Witkowski P.T., Tkachenko E.A., Klempa B., Morozov V.G., Auste B., Zavara D.L., Yunicheva I.V., Mutnihi E.S., Kruger D.H. Isolation of sochi virus from a fatal case of hantavirus disease with fulminant clinical course. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54(1):e1–4. DOI: 10.1093/cid/cir746.
- Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К., Ткаченко П.Е. Хантавирусы: экология, молекулярная биология, морфология, патогенез и диагностика хантавирусных инфекций. *Молекулярная медицина.* 2009; (5):36–41.
- Alkhovsky S.V., Lvov D.K., Shchetinin A.M., Deriabina P.G., Shchelkanov M.Y., Aristova V.A., Morozova T.N., Gitelman A.K., Palacios G.F., Kuhn J.H. Complete Genome Coding Sequences of Artashat, Burana, Caspiy, Chim, Geran, Tamdy, and Uzun-Agach Viruses (*Bunyavirales: Nairoviridae: Orthonairovirus*). *Genome Announc.* 2017; 5(40):e01098-17. DOI: 10.1128/genomeA.01098-17.
- Щетинин А.М., Львов Д.К., Альховский С.В., Щелканов М.Ю., Аристов В.А., Морозова Т.Н., Гительман А.К., Дерабин П.Г., Ботиков А.Г. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов вируса Батаи (BATV-Batai virus) и нового вируса Анадырь (ANADV – Anadyr virus) группы Буньямвера (*Bunyaviridae, Orthobunyavirus*), выделенных на территории России. *Вопросы вирусологии.* 2014; 59(6):16–22.
- Альховский С.В., Щетинин А.М., Львов Д.К., Щелканов М.Ю., Дерабин П.Г., Львов Д.Н., Самохвалов Е.И., Гительман А.К., Ботиков А.Г. Вирус Хурдун (KHURV): новый вирус рода *Orthobunyavirus* (*Bunyaviridae*). *Вопросы вирусологии.* 2013; 58(4):10–3.
- Palacios G., Savji N., Travassos da Rosa A., Guzman H., Yu X., Desai A., Rosen G.E., Hutchison S., Lipkin W.I., Tesh R. Characterization of the Uukuniemi virus group (*Phlebovirus: Bunyaviridae*): evidence for seven distinct species. *J. Virol.* 2013; 87(6):3187–95. DOI: 10.1128/JVI.02719-12.
- Palacios G., Tesh R.B., Savji N., Travassos da Rosa A.P., Guzman H., Bussetti A.V., Desai A., Ladner J., Sanchez-Seco M., Lipkin W.I. Characterization of the Sandfly fever Naples species complex and description of a new Karimabad species complex (genus *Phlebovirus*, family *Bunyaviridae*). *J. Gen. Virol.* 2014; 95(Pt 2):292–300. DOI: 10.1099/vir.0.056614-0.
- Dilcher M., Alves M.J., Finkelsen D., Hufert F., Weidmann M. Genetic characterization of Bhanja virus and Palma virus, two tick-borne phleboviruses. *Virus Genes.* 2012; 45(2):311–5.

References

- Calisher C.H., Charrel R.N., Choi I.R., Clegg C.S., de la Torre J.C., Delwart E., DeRisi J.L., Di Bello P.L., Di Serio F., Digiaro M., Dolja V.V., Drosten C., Druciarek T.Z., Du J., Ebihara H., Elbeaino T., Gergerich R.C., Gillis A.N., Gonzalez J.J., Haenni A.L., Hepojoki J., Hetzel U., Ho T., Hong N., Jain R.K., Jansen van Vuren P., Jin Q., Jonson M.G., Junglen S., Keller K.E., Kemp A., Kipar A., Kondov N.O., Koonin E.V., Kormelink R., Korzyukov Y., Krupovic M., Lambert A.J., Laney A.G., LeBreton M., Lukashevich I.S., Marklewitz M., Markotter W., Martelli G.P., Martin R.R., Mielke-Ehret N., Mühlbach H.P., Navarro B., Ng T.F.F., Nunes M.R.T., Palacios G., Paweska J.T., Peters C.J., Plyusnin A., Radoshitzky S.R., Romanowski V., Salmenperä P., Salvato M.S., Sanfaçon H., Sasaya T., Schmaljohn C., Schneider B.S., Shirako Y., Siddell S., Sironen T.A., Stenglein M.D., Storm N., Sudini H., Tesh R.B., Tzanetakis I.E., Uppala M., Vapalahti O., Vasilakis N., Walker P.J., Wang G., Wang L., Wang Y., Wei T., Wiley M.R., Wolf Y.I., Wolfe N.D., Wu Z., Xu W., Yang L., Yang Z., Yeh S.D., Zhang Y.Z., Zheng Y., Zhou X., Zhu C., Zirkel F., Kuhn J.H. Taxonomy of the family Arenaviridae and the order Bunyavirales: update 2018. *Arch Virol.* 2018; 163(8):2295–310. DOI: 10.1007/s00705-018-3843-5.
- Plyusnin A., Beaty B.J., Elliot R.M., Goldbach R., Kormelink R., Lundkvist A. Family Bunyaviridae. In: A.M. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz, eds. *Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses: ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London: Elsevier; 2012. P. 725–41.
- Marklewitz M., Zirkel F., Rwego I.B., Heidemann H., Trippner P., Kurth A., Kallies R., Briese T., Lipkin W.I., Drosten C., Gillespie T.R., Junglen S. Discovery of a unique novel clade of mosquito-associated bunyaviruses. *J. Virol.* 2013; 87(23):12850–65. DOI: 10.1128/JVI.01862-13.

4. Li C.X., Shi M., Tian J.H., Lin X.D., Kang Y.J., Chen L.J., Qin X.C., Xu J., Holmes E.C., Zhang Y.Z. Unprecedented genomic diversity of RNA viruses in arthropods reveals the ancestry of negative-sense RNA viruses. *Elife*. 2015; 4:e05378. DOI: 10.7554/eLife.05378.
5. Jansen van Vuren P., Wiley M.R., Palacios G., Storm N., Markotter W., Birkhead M., Kemp A., Paweska J.T. Isolation of a novel orthobunyavirus from bat flies (*Eucampsipoda africana*). *J. Gen. Virol.* 2017; 98(5):935–45. DOI: 10.1099/jgv.0.000753.
6. Lavrent'ev M.V., Prilipov A.G., L'vov S.D., L'vov D.K. Phylogenetic analysis of the nucleotide sequences of Chatanga virus strains, the new representative of California encephalitis serocomplex, isolated in different regions of the Russian Federation. *Voprosy Virusologii*. 2008; 53(6):25–9.
7. L'vov D.K., Shchelkanov M.Y., Alkhovsky S.V., Deryabin P.G. Zoonotic viruses of Northern Eurasia. *Taxonomy and Ecology*. London: Academic Press; 2015. 452 p.
8. Shirako Y., Falk B.W., Haenni A.L. Genus – Tenuivirus. In: A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz, eds. *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Elsevier Academic Press; 2012. P. 771–6.
9. Marklewitz M., Handrick S., Grasse W., Kurth A., Lukashev A., Drosten C., Ellerbrok H., Leendertz F.H., Pauli G., Junglen S. Gouléako virus isolated from West African mosquitoes constitutes a proposed novel genus in the family *Bunyaviridae*. *J. Virol.* 2011; 85(17):9227–34. DOI: 10.1128/JVI.00230-11.
10. Ballinger M.J., Bruenn J.A., Hay J., Czechowski D., Taylor D.J. Discovery and evolution of bunyavirids in arctic phantom midges and ancient bunyavirid-like sequences in insect genomes. *J. Virol.* 2014; 88(16):8783–94.
11. Muhlbach H.P., Mielke-Ehret N. Genus – Emaravirus. In: A.M.Q. King, M.J. Adams, E.B. Carstens, E.J. Lefkowitz, eds. *Virus Taxonomy*. San Diego: Elsevier; 2012. P. 767–69.
12. Marklewitz M., Zirkel F., Kurth A., Drosten C., Junglen S. Evolutionary and phenotypic analysis of live virus isolates suggests arthropod origin of a pathogenic RNA virus family. *Proc. Natl Acad Sci USA*. 2015; 112(24):7536–41.
13. Di Bello P.L., Laney A.G., Druciarek T., Ho T., Gergerich R.C., Keller K.E., Martin R.R., Tzanetakis I.E. A novel emaravirus is associated with redbud yellow ringspot disease. *Virus Res.* 2016; 222:41–7. DOI: 10.1016/j.virusres.2016.05.027.
14. Elbeaino T., Digiario M., Uppala M., Sudini H. Deep sequencing of dsRNAs recovered from mosaic-diseased pigeonpea reveals the presence of a novel emaravirus: pigeonpea sterility mosaic virus 2. *Arch. Virol.* 2015; 160(8):2019–29.
15. Zheng Y., Navarro B., Wang G., Wang Y., Yang Z., Xu W., Zhu C., Wang L., Serio F.D., Hong N. Actinidia chlorotic ringspot-associated virus: a novel emaravirus infecting kiwifruit plants. *Mol. Plant Pathol.* 2017; 18(4):569–81. DOI: 10.1111/mp.12421.
16. Arai S., Kang H.J., Gu S.H., Ohdachi S.D., Cook J.A., Yashina L.N., Tanaka-Taya K., Abramov S.A., Morikawa S., Okabe N., Oishi K., Yanagihara R. Genetic Diversity of Artybash Virus in the Laxmann's Shrew (*Sorex caecutiens*). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16(7):468–75. DOI: 10.1089/vbz.2015.1903.
17. Tkachenko E.A., Witkowski P.T., Radosa L., Dzagurova T.K., Okulova N.M., Yunicheva Y.V., Vasilenko L., Morozov V.G., Malkin G.A., Krüger D.H., Klempa B. Adler hantavirus, a new genetic variant of Tula virus identified in Major's pine voles (*Microtus majori*) sampled in southern European Russia. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 29:156–63. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.11.018.
18. Dzagurova T.K., Witkowski P.T., Tkachenko E.A., Klempa B., Morozov V.G., Auste B., Zavara D.L., Yunicheva I.V., Mutnih E.S., Kruger D.H. Isolation of sochi virus from a fatal case of hantavirus disease with fulminant clinical course. *Clin. Infect. Dis.* 2012; 54(1):e1–4. DOI: 10.1093/cid/cir746.
19. Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Tkachenko P.E. Hantaviruses: ecology, molecular biology, morphology, pathogenesis and diagnostics of hantavirus infections. *Molekulyarnaya meditsina*. 2009; (5):36–41.
20. Alkhovsky S.V., L'vov D.K., Shchetinin A.M., Deriabin P.G., Shchelkanov M.Y., Aristova V.A., Morozova T.N., Gitelman A.K., Palacios G.F., Kuhn J.H. Complete Genome Coding Sequences of Artashat, Burana, Caspiy, Chim, Geran, Tamdy, and Uzun-Agach Viruses (*Bunyavirales: Nairoviridae: Orthonairovirus*). *Genome Announc.* 2017; 5(40):e01098-17. DOI: 10.1128/genomeA.01098-17.
21. Shchetinin A.M., L'vov D.K., Al'kovsky S.V., Shchelkanov M.YU., Aristova V.A., Morozova T.N., Gitel'man A.K., Deryabin P.G., Botikov A.G. Complete genome analysis of the Batai virus (BATV) and the new Anadyr virus (ANADV) of the Bunyamwera group (*Bunyaviridae, Orthobunyavirus*) isolated in Russia. *Voprosy Virusologii*. 2014; 59(6):16–22.
22. Al'kovskhovskii S.V., Shchetinin A.M., L'vov D.K., Shchelkanov M.I., Deriabin P.G., L'vov D.N., Samokhvalov E.I., Gitel'man A.K., Botikov A.G. The Khurdun virus (KHURV): a new representative of the orthobunyavirus (*Bunyaviridae*). *Voprosy virusologii*. 2013; 58(4):10–3.
23. Palacios G., Savji N., Travassos da Rosa A., Guzman H., Yu X., Desai A., Rosen G.E., Hutchison S., Lipkin W.I., Tesh R. Characterization of the Uukuniemi virus group (*Phlebovirus: Bunyaviridae*): evidence for seven distinct species. *J. Virol.* 2013; 87(6):3187–95. DOI: 10.1128/JVI.02719-12.
24. Palacios G., Tesh R.B., Savji N., Travassos da Rosa A.P., Guzman H., Bussetti A.V., Desai A., Ladner J., Sanchez-Seco M., Lipkin W.I. Characterization of the Sandfly fever Naples species complex and description of a new Karimabad species complex (genus *Phlebovirus*, family *Bunyaviridae*). *J. Gen. Virol.* 2014; 95(Pt 2):292–300. DOI: 10.1099/vir.0.056614-0.
25. Dilcher M., Alves M.J., Finkeisen D., Hufert F., Weidmann M. Genetic characterization of Bhanja virus and Palma virus, two tick-borne phleboviruses. *Virus Genes*. 2012; 45(2):311–5.

Authors:

L'vov D.K., Alkhovsky S.V. D.I. Ivanovsky Institute of Virology, N.F. Gamaleya National Research Center on Microbiology and Epidemiology of Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation. E-mail: dk_lvov@mail.ru.

Об авторах:

Львов Д.К., Альховский С.В. Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация. E-mail: dk_lvov@mail.ru.

Поступила 30.11.18.

Отправлена на доработку 10.12.18.

Принята к публ. 13.10.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-20-26

УДК 599.4:616.993(665.2)

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

Среди вирусов, переносимых рукокрылыми, большую опасность для человека представляют филловирусы, лиссавирусы, хенипавирусы и коронавирусы. Представленный обзор посвящен анализу результатов изучения роли африканских рукокрылых в поддержании циркуляции этих вирусов. Приведены хронология исследований по поиску природного резервуара филловирусов и доказательства участия рукокрылых в их циркуляции. Представлена обобщенная информация по вовлечению рукокрылых в циркуляцию лиссавирусов на Африканском континенте. Приводятся данные по участию африканских видов рукокрылых в циркуляции хенипавирусов – опасных для человека вирусов семейства Paramyxoviridae, ассоциированных с рукокрылыми Юго-Восточной Азии. Рассматривается возможность циркуляции SARS- и MERS-подобных коронавирусов в популяциях некоторых видов африканских рукокрылых. Оценивается также участие рукокрылых Гвинейской Республики в поддержании циркуляции вышеперечисленных вирусов в потенциальных природных очагах на территории этой страны и возможность возникновения вспышек опасных заболеваний человека. Обосновывается необходимость изучения роли рукокрылых в качестве носителей этих вирусов с целью прояснения текущей эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по этим вирусным патогенам в Гвинейской Республике.

Ключевые слова: рукокрылые, филловирусы, лиссавирусы, вирус Нипах, MERS, SARS, Гвинейская Республика.

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

Для цитирования: Поршаков А.М., Кононова Ю.В., Локтев В.Б., Boiro М.И. Рукокрылые как возможный резервуар опасных для человека вирусов на территории Гвинейской Республики. Часть 2. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 4:20–26. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-20-26

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

Abstract. Among the viruses transmitted by Chiroptera, filoviruses, lissaviruses, henipaviruses, and coronaviruses pose the major threat to humans. The featured review is devoted to the analysis of the results of studies on the role of African Chiropterans in the circulation sustenance of the viruses. Chronology of investigations on the search of natural reservoir of Filoviruses and the evidence of Chiroptera participation in their circulation are described in the paper. Presented are summarized data on the involvement of chiropterans in the circulation of lissaviruses on the African continent. Given is the information concerning the role of African species of Chiroptera in the circulation of henipaviruses – dangerous for humans viruses of Paramyxoviridae family, associated with chiropterans of South-Eastern Asia. Considered is the possibility of SARS and MERS-like coronaviruses circulation in the populations of certain species of African Chiroptera. Engagement of the Chiroptera from Guinean Republic in maintenance of circulation of the mentioned above viruses in potential natural foci in the territory of the country and possibility of occurrence of dangerous human infection outbreaks is also assessed. The necessity for further investigation of the role of Chiroptera as carriers of the stated viruses to clarify the current epidemiological and epizootiological situation on the viral pathogens in the Republic of Guinea is substantiated.

Key words: chiropterans, Filoviruses, lissaviruses, Nipah virus, MERS, SARS, Republic of Guinea.

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

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

Citation: Porshakov A.M., Kononova Yu.V., Loktev V.B., Boiro M.I. Chiroptera as a Potential Reservoir of Dangerous for Humans Viruses in the Territory of the Republic of Guinea. Part 2. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 4:20–26. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-20-26

Received 18.01.18. Accepted 31.01.18.

В 2013–2016 гг. в нескольких странах Западной Африки (Гвинейская Республика, Сьерра-Леоне, Либерия) среди населения имела место вспышка болезни, вызванной вирусом Эбола, подтипом Заир, эпицентром которой стала Гвинейская Республика [1]. Комплексные полевые исследования, проведен-

ные весной 2014 г. А. Marí Saéz *et al.* в этом районе не выявили РНК эболавируса Заир у обследованных рукокрылых, в том числе у представителей видов, считающихся природным резервуаром этого вируса [2]. В настоящее время мало изучена роль рукокрылых в поддержании циркуляции не только филловирусов,

но и лиссавирусов, хенипавирусов и коронавирусов, представляющих высокие риски для общественного здравоохранения. С целью прояснения текущей эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по этим вирусным патогенам в Гвинейской Республике необходимо изучение рукокрылых как носителей вирусов с учетом особенностей их циркуляции.

Филовирусы. Принято считать, что на Африканском континенте циркулируют филовирусы (*Filoviridae*), относящиеся к роду Эболавирус (*Ebolavirus*, виды – Заир, Судан, Тай Форест, Бундибугио) и Марбургвирус (*Marburgvirus*, Марбург марбургвирус). С момента первых случаев заболевания людей, вызванных африканскими филовирусами, предпринимались многократные попытки выявить их природный резервуар и определить факторы, способствовавшие развитию эпидемий.

В период с 1967 (ФРГ, Югославия, первая вспышка) по 1998 год (крупная вспышка в Демократической Республике Конго, ДРК) среди людей зарегистрировано всего три спорадических случая болезни, вызванных Марбургвирусом, с количеством заболевших не более трех в каждом случае. Все заболевшие были туристами, что позволило установить эпидемиологический анамнез и сузить список видов животных, предполагаемых в качестве природного резервуара Марбургвируса. Однако анализ членистоногих, образцов тканей рукокрылых, а также сывороток диких и домашних животных, проведенный с помощью доступных на тот момент времени лабораторных тестов, не дал положительных результатов [3]. Значительно позже, в ходе расследования крупной вспышки болезни, вызванной Марбургвирусом у рабочих золотого рудника в ДРК в 1998–2000 гг., R. Swanepoel *et al.* при исследовании фауны рудника обнаружили РНК Марбургвируса у рукокрылых, относящихся к видам камерунский длиннокрыл (*Miniopterus inflatus*), угандийский подковонос (*Rhinolophus eloquens*) и египетская летучая собака (*Rousettus aegyptiacus*), что позволило считать эти виды рукокрылых природным резервуаром Марбургвируса [4]. Позже антитела к Марбургвирусу находили у представителей четырех видов крыланов – крылана Франке (*Epomops franqueti*), молотоголового (*Hypsignathus monstrosus*), карликового эполетового (*Micropteropus pusillus*) и пальмового (*Eidolon helvum*), а B.R. Amman *et al.* получили несколько изолятов Марбургвируса из РНК-позитивных образцов внутренних органов египетских летучих собак [5, 6, 7]. Изоляция Марбургвируса и обнаружение его маркеров (РНК, антитела) у рукокрылых отмечены в ДРК, Уганде, Республике Конго, Габоне, Кении и Замбии [6, 8, 9].

В отличие от Марбургвируса, маркеры эболавируса спорадически выявлялись у мелких млекопитающих (РНК), горилл, шимпанзе (РНК, антиген, антитела), лесных дукеров (РНК), приматов семейства мартышковых (антитела) и домашних собак (антитела) в эндемичных по эболавирусам африканских странах [3]. РНК и антиген эболавируса находили,

как правило, у погибших горилл, шимпанзе и дукеров, что позволило предположить их чувствительность к развитию эболавирусной инфекции и исключить из рассмотрения как предполагаемый природный резервуар эболавирусов. Наличие антител у разных видов приматов и собак свидетельствует только о контакте этих животных с эболавирусом и не является следствием вирусоносительства. Первая гипотеза о возможном участии рукокрылых в поддержании циркуляции эболавируса Судан высказана А.А. Arata и В. Johnson после вспышки геморрагической лихорадки в 1976 г. в Южном Судане, где первый заболевший работал на текстильной фабрике, в рабочих помещениях которой обнаружены места дневных убежищ складчатогуба Тревова (*Mops trevori*), контаминированные экскрементами [10]. При расследовании повторной вспышки там же в 1979 г. R.C. Baron *et al.* установлено, что первый заболевший также являлся работником этой фабрики [11]. Обследования рукокрылых на наличие антигена эболавируса в обоих случаях не проводилось, их участие в распространении вируса осталось недоказанным. В 2003 г. в Республике Конго (РК) E.M. Leroy *et al.* впервые обнаружили РНК эболавируса Заир и антитела к нему у трех видов крылановых – Франке, молотоголового и ошейникового крыланов (*Myonycteris torquata* (sp. *leptodon*)) [12]. Позже E.M. Leroy *et al.* в ходе эпидемиологического расследования вспышки болезни Эбола у людей в ДРК в 2007 г. впервые установлено, что ее причиной стало инфицирование эболавирусом людей при контакте с кровью во время охоты на крыланов в период их массовой сезонной миграции [13]. X. Pourrut *et al.* при обследовании рукокрылых в Габоне обнаружили антитела к эболавирусу Заир у крыланов тех же видов, что и E.M. Leroy *et al.*, а также у карликового эполетового крылана, египетских летучих собак и одного вида насекомоядных рукокрылых – ангольского складчатогуба (*Mops condylurus*) [7]. H. Ogawa *et al.* при обследовании большой выборки пальмовых крыланов в Замбии (ареал вида ограничен территорией южнее Сахары) обнаружили у этих животных антитела ко всем эболавирусам, включая Рестон, циркулирующий исключительно в Азии [6]. Этот факт свидетельствует о недостаточном на текущий момент понимании циркуляции эболавирусов в популяциях африканских рукокрылых. В целом, по результатам многолетних исследований, РНК и антитела к эболавирусу Заир у рукокрылых находили в Габоне, РК, Гане и Замбии [6, 12, 14]. Относительно недавно Goldstein *et al.* в образцах от насекомоядных рукокрылых карликового (*Chaerephon pumilus*) и ангольского (*Mops condylurus*) складчатогубов, отловленных в Сьерра Леоне в начале постэпидемического периода (март–сентябрь 2016 г.), обнаружен генетический материал эболавируса, предположительно относящегося к новому виду – эболавирус Бомбали (BOMV) [15].

С учетом совокупности данных о распространении видов рукокрылых, считающихся резервуарами

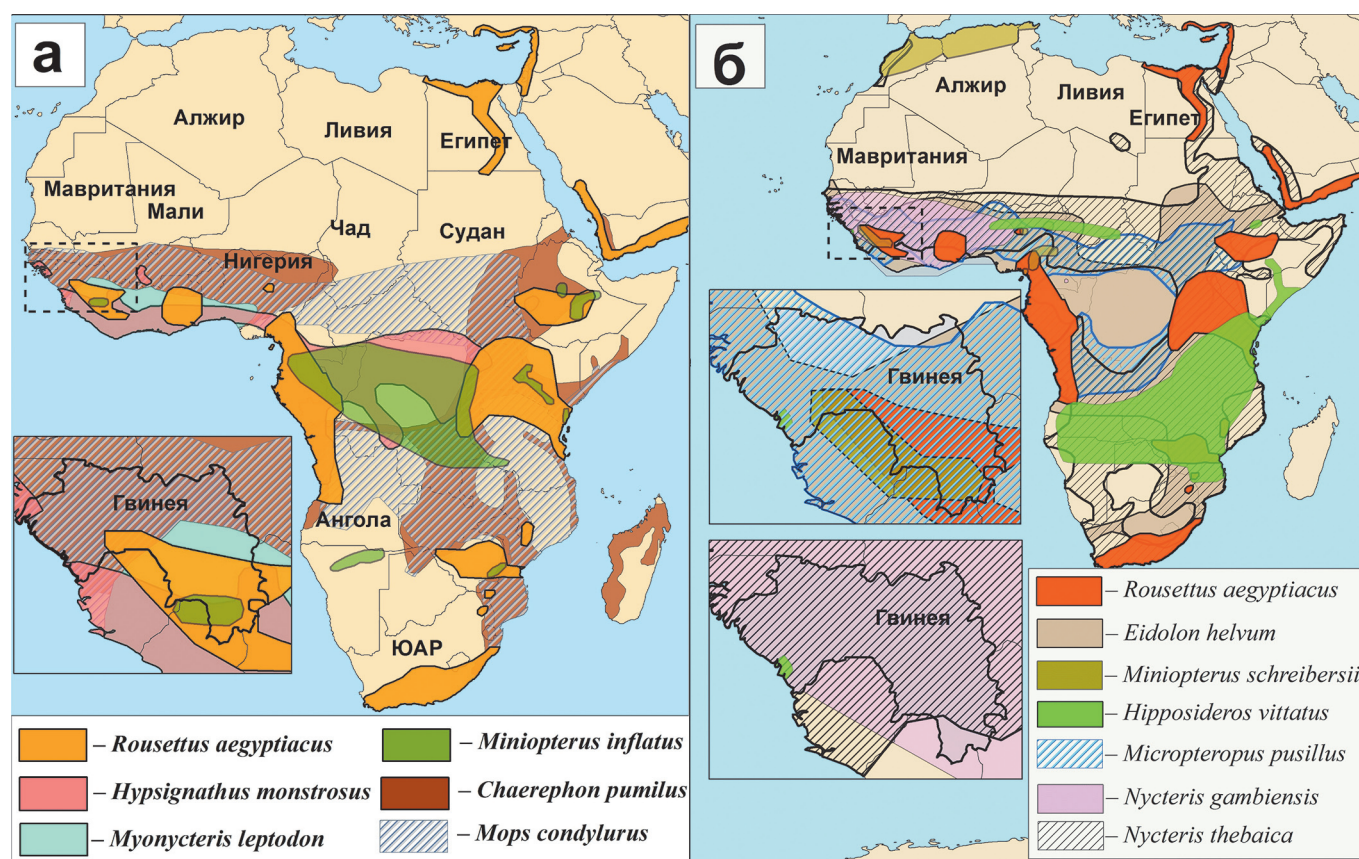


Рис. 1. Ареалы видов рукокрылых, носителей филовирусов (а) и лиссавирусов (б) (выявление вирусной РНК и изоляция вируса). В рамке показано местонахождение Гвинейской Республики. Карта составлена на основании данных сайта IUCN www.iucnredlist.org

Fig. 1. Areal of chiroptera species – carriers of Filoviruses (a) and Lissaviruses (b) (detection of viral DNA and isolation of the virus). In the framed fragments the location of the Republic of Guinea is shown. The map is charted on the basis of IUCN web-site content www.iucnredlist.org

филовирусов, рукокрылые Гвинейской Республики также могут быть вовлечены в поддержание циркуляции данных вирусов (рис. 1 а), в связи с чем становится актуальным систематическое обследование этих животных на наличие маркеров филовирусов.

Лиссавирусы. Лиссавирусы представляют один из 18 родов семейства Рабдовирусов (*Rhabdoviridae*), включающих в себя 16 видов и несколько неклассифицированных вирусов [16]. От рукокрылых изолированы все известные лиссавирусы, за исключением лиссавирусов Мокола и Икома; рукокрылые также являются носителями вируса бешенства в Северной и Южной Америке [17]. Филогенетический анализ нескольких десятков изолятов лиссавирусов из разных регионов мира и определение скорости эволюции позволили выдвинуть гипотезу о существовании лиссавирусов рукокрылых задолго до появления вируса бешенства, и именно эти животные могут рассматриваться как природный резервуар всех лиссавирусов [18].

На Африканском континенте циркулируют 6 из 16 видов лиссавирусов – вирус бешенства, Лагос бат, Дювенхейдж, Мокола, Икома и Шимони бат лиссавирусы [17]. По данным ВОЗ, бешенство является актуальной проблемой для здравоохранения большинства африканских стран, где существует высо-

кий риск инфицирования людей [19]. За все время наблюдения не обнаружено случаев изоляции вируса бешенства от африканских рукокрылых, хотя имеются сообщения о выявлении антител к нему у пальмовых крыланов в Нигерии [20] и египетских летучих собак в Кении [21]. Лиссавирусы Мокола и Дювенхейдж также являются патогенными для человека. Лиссавирус Мокола впервые изолирован в 1968–1969 гг. в Нигерии из пула органов гигантской белозубки (*Crocidura flavescens manni*). Позже вирус выделяли от грызунов, не вакцинированных и вакцинированных против бешенства собак и кошек, а также от людей [22]. Несмотря на изоляцию этого вируса от диких и домашних животных, его природный резервуар в настоящее время не определен [23]. Антитела к лиссавирусу Мокола обнаружены у пальмовых и молотоголовых крыланов в Гане [24] и египетских летучих собак в Кении [21]. Лиссавирус Дювенхейдж впервые изолирован в Южной Африке в 1970 г. из головного мозга человека, умершего от заболевания, клинически схожего с бешенством, после укуса летучей мыши. Позже вирус также выделен в Южной Африке от насекомоядных рукокрылых – обыкновенного длиннокрыла (*Miniopterus schreibersii*, 1980 г.)¹ и египетского щелеморда

¹В настоящее время *M. natalensis*. Источник: www.iucnredlist.org.

(*Nycteris thebaica*, 1986 г.) [25]. Возможно, у рукокрылых вирус не вызывает заболевания и гибели, т.к. серологическое обследование нескольких колоний египетского шлеморда в Свазиленде выявило высокую долю серопозитивных животных (15–41 %), при этом выявлены высокоспецифические антитела к лиссавирусу Дювенхейдж без перекрестной реактивности с антигенами вируса бешенства [26].

Лиссавирус Лагос бат впервые изолирован в 1956 г. из пула фрагментов головного мозга пальмовых крыланов с острова Лагос в Нигерии. Кроме Нигерии находки лиссавируса Лагос бат сделаны в Центрально-Африканской Республике, Южной Африке, Сенегале, Гвинейской Республике, Зимбабве, Эфиопии и Кении. Описан случай инфекции у египетских летучих собак во Франции, завезенных предположительно из Египта или Того. Кроме пальмового крылана, вирус Лагос бат изолирован еще от нескольких видов плоядных и насекомоядных рукокрылых – карликового эплетового крылана, крылана Вальберга (*Epomophorus wahlbergi*), гамбийского шлеморда (*Nycteris gambiensis*), египетской летучей собаки, а также от других животных – кошек, собак, мангустов [21]. У рукокрылых лиссавирус Лагос бат может вызывать заболевание, приводящее к гибели [27]. За все время наблюдения не зарегистрировано ни одного случая заболевания, вызванного этим вирусом, у людей, однако А.В. Ogunkoya *et al.* находили антитела к нему у людей в Нигерии [28], что позволяет предполагать его потенциальную патогенность для человека.

В 2009 г. в Африке изолировано два новых лиссавируса – Шимони бат лиссавирус от листоноса Коммерсона *Hipposideros commersoni* в Кении [29] и Икома лиссавирус от африканской циветты (*Civetictis civetta*) в Танзании [30]. Вероятнее всего, лиссавирус Шимони бат изолирован от *Hipposideros vittatus*, ранее считавшимся подвидом *H. commersoni*. По последним данным, *H. commersoni* рассматривается как эндемик о. Мадагаскар, и его ареал не распространяется за границы острова. В настоящее время остается неясным, какие животные вовлечены в циркуляцию этих вирусов, а также их возможная взаимосвязь с заболеваниями людей.

Таким образом, с учетом изоляции лиссавирусов, обнаружения их РНК или антител к ним, рукокрылые на Африканском континенте вовлечены в циркуляцию вирусов бешенства, Мокола, Дювенхейдж, Лагос бат и Шимони бат (рис. 1 б), что требует проведения дополнительных исследований, особенно в части изучения возможности передачи рукокрылыми этих вирусов домашним животным и человеку.

Хенипавирусы. Род хенипавирусы (*Henipavirus*, *Paramyxoviridae*) включает в себя пять видов вирусов – Хендра, Нипах, Седар, Ghanaian bat henipavirus и Моджанг. Природным резервуаром всех хенипавирусов, за исключением Моджанг хенипавируса, являются рукокрылые семейства крылановых (*Pteropodidae*), главным образом представители рода летучих лисиц (*Pteropus*). Циркуляция хенипавирусов

(за исключением Ghanaian bat henipavirus) отмечена в Австралии и некоторых странах Юго-Восточной Азии [31]. Хенипавирусы Хендра и Нипах являются высокопатогенными для человека, клиническая картина вызываемого ими заболевания варьируется от тяжелой пневмонии до энцефалита, с уровнем смертности более 50 и 40–70 % соответственно [32, 33]. По результатам анализа вспышек, вызванных вирусом Нипах у людей, показана возможность непосредственного инфицирования людей при употреблении пальмового сока, контаминированного экскрементами летучих лисиц-вирусоносителей [34]. Этот факт свидетельствует о возможности инфицирования человека непосредственно от рукокрылых без участия промежуточных хозяев.

В 2003–2005 гг. впервые за пределами Австралии и Юго-Восточной Азии обнаружены антитела, в том числе вируснейтрализующие, к вирусам Нипах и Хендра у трех видов крылановых на Мадагаскаре. Эти рукокрылые принадлежали видам, представленным только на Мадагаскаре – мадагаскарскому крылану (*Eidolon dupreanum*), рыжей летучей лисице (*Pteropus rufus*) и мадагаскарской летучей собаке (*Rousettus madagascariensis*). При этом доля серопозитивных к хенипавирусам животных составила всего около 2 % среди летучих лисиц, но у крыланов и летучих собак она была в 10 раз выше, что указывает на способность других видов крылановых участвовать в поддержании циркуляции хенипавирусов [35]. Впервые у рукокрылых континентальной Африки антитела к вирусу Хендра выявлены в 2007 г. у пальмовых крыланов, антитела к вирусу Нипах – у пальмовых крыланов, а также у больших эплетовых крыланов (*Epomophorus gambianus*) и молотоголовых крыланов, отловленных в разных районах Ганы [36]. В Камеруне антитела к хенипавирусам обнаружены у 3–4 % населения, преимущественно связанного с охотой и продажей крыланов. У людей антитела обладали перекрестной и вируснейтрализующей активностью в отношении вирусов Хендра и Нипах [37].

Начиная с 2008 г. РНК хенипавирусов выявлялась в разном биоматериале от представителей шести видов крылановых в Гане, РК, ДРК, Габоне и Центрально-Африканской Республике. По результатам филогенетического анализа фрагмента L-гена вирусного генома (РНК-зависимой РНК-полимеразы) выделено 23 вирусных клады. На основании данных минимального генетического расстояния между вирусами Хендра и Нипах (7 % по анализу L-гена) последовательности африканских хенипавирусов могут быть отнесены к 19 видам этого рода. Показано, что РНК-зависимая РНК-полимераза африканских хенипавирусов содержит высококонсервативный каталитический мотив аминокислот GDNQ, типичный для всего порядка Mononegavirales, в то время как вирусы Хендра и Нипах имеют атипичный мотив GDNE. Этот мотив обнаружен в небольшой доле африканских хенипавирусов, что позволяет предполагать существование общего GDNE-содержащего

предшественника именно на Африканском континенте [38].

Несмотря на многократное выявление генетического материала хенипавирусов, пока не удалось получить африканские вирусные изоляты. В настоящее время существует единственный прототипный изолят африканского хенипавируса Ghanaian bat henipavirus – Kumasi virus (KV-GH-M74a, HQ660129), полученный из образцов селезенки пальмового крылана, отловленного в Гане, для которого определена нуклеотидная последовательность полного генома. Остается открытым вопрос о патогенности африканских хенипавирусов для человека. Высказываются предположения, что хенипавирусы могут быть причиной вспышек у людей энцефалита, ошибочно диагностируемого как малярийный [39].

На территории Гвинейской Республики встречаются виды рукокрылых, потенциальных носителей хенипавирусов (рис. 2 а), что делает актуальным и значимым изучение молекулярной эпидемиологии хенипавирусов как среди рукокрылых, так и у людей.

Коронавирусы. Коронавирусы могут вызывать гепатиты, респираторные, кишечные и неврологические заболевания у различных видов животных и человека [40]. Для человека высокопатогенными являются коронавирусы SARS (Severe Acute Respiratory

Syndrome, вспышка 2002–2003 гг. Китай, Гонконг, всего 29 стран) и MERS (Middle East Respiratory Syndrome, вспышки 2012 г. в Саудовской Аравии, 2015 г. в Республике Корея), относящиеся к роду бетакоронавирус и являющиеся причиной тяжелых пневмоний с уровнем смертности 10 и 36 % соответственно. Заражение людей происходило от инфицированных верблюдов [41, 42].

Предполагается, что рукокрылые являются основными хозяевами альфа- и бетакоронавирусов и играют важную роль в эволюции этих вирусов и их передаче другим видам животных. От рукокрылых также изолированы SARS- и MERS-подобные коронавирусы в разных регионах мира [43]. Находки РНК SARS-подобного коронавируса и антител к нему у большого подковоноса (*Rhinolophus ferrumequinum*), длинноухого подковоноса (*Rhinolophus macrotis*) и подковоноса Пирсона (*Rhinolophus pearsonii*) в Китае позволили предположить, что именно рукокрылые являются природным резервуаром коронавируса SARS [44]. Для коронавируса MERS природный резервуар в настоящее время не установлен, хотя предполагается его происхождение от рукокрылых. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей вирусов, выделенных от заболевших людей и верблюдов, показал уровень гомологии более 99,5 %. Вместе с тем, для нескольких MERS-

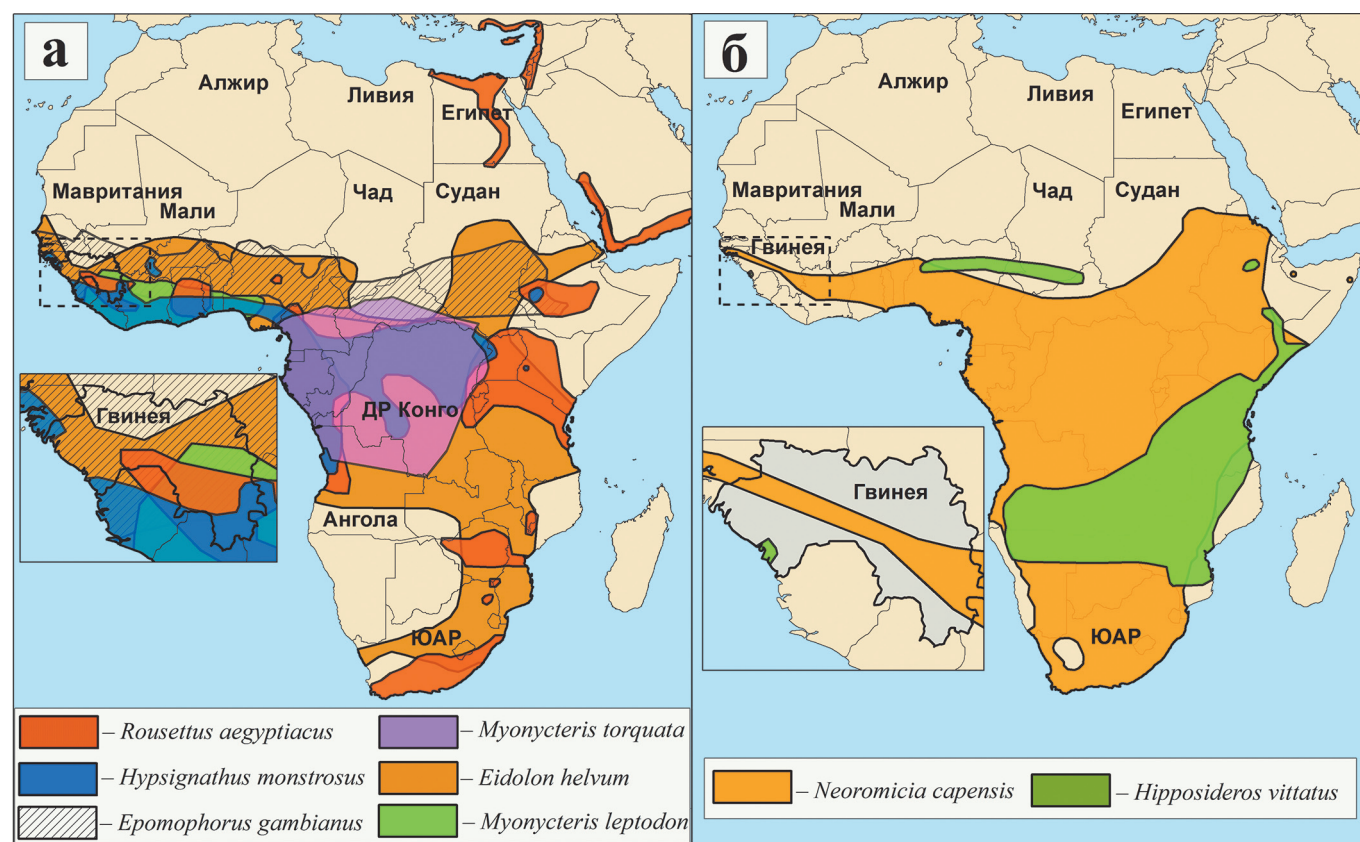


Рис. 2. Ареалы видов рукокрылых, носителей хенипавирусов (а) и коронавирусов (б) (выявление вирусной РНК). В рамке показано местонахождение Гвинейской Республики. Карта составлена на основании данных сайта IUCN www.iucnredlist.org

Fig. 2. Areal of chiroptera species – carriers of henipaviruses (a) and coronaviruses (b) (detection of viral DNA). In the framed fragments the location of the Republic of Guinea is shown. The map is charted on the basis of IUCN web-site content www.iucnredlist.org

подобных изолятов от рукокрылых, нуклеотидная идентичность с MERS-коронавирусом по результатам филогенетического анализа полного генома составила 69–85 % [43].

Первые находки антител к коронавирусам, реагирующих с антигеном SARS-коронавируса, у африканских рукокрылых сделаны при ретроспективном анализе сывороток крови, собранных в 1986–1989 гг. в Южной Африке и в 1995–1999 гг. в ДРК. Наличие антител подтверждено двумя методами – ИФА и Вестерн-блот как у насекомоядных, так и плодоядных рукокрылых [45]. Позже РНК SARS-подобного коронавируса обнаружена у представителей рода малых складчатогубов (*Chaerephon*) в Кении, листоноса Коммерсона в Нигерии и у представителей рода подковогубов (*Hipposideros*) в Гане [46, 47, 48].

Циркуляция MERS-коронавируса на Африканском континенте имела место задолго до вспышки 2012 г., что подтверждает ретроспективный анализ сывороток верблюдов [49]. РНК MERS-подобного коронавируса с высоким уровнем гомологии с MERS-коронавирусом обнаружена в фекалиях капского кожана (*Neoromicia capensis*), собранных в 2011 г. в Южной Африке. По результатам филогенетического анализа полного генома изолята NeoCoV показано, что он относится к тому же виду, что MERS-коронавирус от людей и верблюдов [50]. Этот изолят считается наиболее вероятным предшественником MERS-коронавируса, вызвавшего вспышку 2012 г. Предполагается, что интродукция самого недавнего предшественника MERS-коронавируса произошла от рукокрылых к верблюдам в Африке примерно 20 лет назад, и через верблюдов этот вирус попал на Аравийский полуостров [43]. С учетом особой роли рукокрылых в эволюции коронавирусов, в том числе SARS- и MERS-подобных, обследование рукокрылых в Гвинейской Республике позволит прояснить их участие в поддержании циркуляции коронавирусов на этой территории (рис. 2 б).

Таким образом, большое биологическое разнообразие представителей отряда рукокрылых, их практически повсеместное распространение и возможность участия в передаче и циркуляции вирусных инфекций, обуславливают важность и актуальность их исследования в странах Западной Африки и на других территориях обитания этого отряда. Более широкое использование современных методов метагеномики, биоинформатики в сочетании с традиционными вирусологическими методами призвано обеспечить дальнейший прогресс в изучении вирусов, в циркуляции которых принимают участие различные виды рукокрылых. Все это является основой разработки комплекса мер для установления контроля над вирусными инфекциями в природных очагах Гвинейской Республики и других странах Западной Африки.

Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания ГЗ-23/16.

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

Список литературы / References

1. Ebola Situation Report, WHO. Ebola virus disease outbreak. [Internet] (cited 31 Oct 2017). Available from: <http://apps.who.int/ebola/current-situation/ebola-situation-report-30-march-2016>.
2. Mari Saéz A., Weiss S., Nowak K., Lapeyre V., Zimmermann F., Dux A., Kühl H.S., Kaba M., Regnaut S., Merkel K., Sachse A., Thiesen U., Villányi L., Boesch C., Dabrowski P.W., Radonić A., Nitsche A., Leendertz S.A., Petterson S., Becker S., Krähling V., Couacy-Hymann E., Akoua-Koffi C., Weber N., Schaade L., Fahr J., Borchert M., Gogarten J.F., Calvignac-Spencer S., Leendertz F.H. Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO Mol. Med.* 2015; 7(1):17–23. DOI: 10.15252/emmm.201404792.
3. Amman B.R., Swanepoel R., Nichol S.T., Towner J.S. Ecology of Filoviruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2017; 411:23–61. DOI: 10.1007/82 2017 10.
4. Swanepoel R., Smit S.B., Rollin P.E., Formenty P., Leman P.A., Kemp A., Burt F.J., Grobbelaar A.A., Croft J., Bausch D.G., Zeller H., Leirs H., Braack L.E., Libande M.L., Zaki S., Nichol S.T., Ksiazek T.G., Paweska J.T. International Scientific and Technical Committee for Marburg Hemorrhagic Fever Control in the Democratic Republic of Congo. Studies of reservoir hosts for Marburg virus. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(12):1847–51. DOI: 10.3201/eid1312.071115.
5. Amman B.R., Carroll S.A., Reed Z.D., Sealy T.K., Balinandi S., Swanepoel R., Kemp A., Erickson B.R., Comer J.A., Campbell S., Cannon D.L., Khristova M.L., Atimmedi P., Paddock C.D., Crockett R.J., Flietstra T.D., Warfield K.L., Unfer R., Katongole-Mbidde E., Downing R., Tappero J.W., Zaki S.R., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Nichol S.T., Towner J.S. Seasonal pulses of Marburg virus circulation in juvenile *Rousettus aegyptiacus* bats coincide with periods of increased risk of human infection. *PLoS Pathog.* 2012; 8(10):e1002877. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002877.
6. Ogawa H., Miyamoto H., Nakayama E., Yoshida R., Nakamura I., Sawa H., Ishii A., Thomas Y., Nakagawa E., Matsuno K., Kajihara M., Maruyama J., Nao N., Muramatsu M., Kuroda M., Simulundu E., Changula K., Hang'ombe B., Namangala B., Nambota A., Katampji J., Igarashi M., Ito K., Feldmann H., Sugimoto C., Moonga L., Mweene A., Takada A. Seroepidemiological Prevalence of Multiple Species of Filoviruses in Fruit Bats (*Eidolon helvum*) Migrating in Africa. *J. Infect. Dis.* 2015; 212(Suppl. 2):S101–8. DOI: 10.1093/infdis/jiv063.
7. Pourrut X., Souris M., Towner J.S., Rollin P.E., Nichol S.T., Gonzalez J.P., Leroy E. Large serological survey showing cocirculation of Ebola and Marburg viruses in Gabonese bat populations, and a high seroprevalence of both viruses in *Rousettus aegyptiacus*. *BMC Infect. Dis.* 2009; 28(9):159. DOI: 10.1186/1471-2334-9-159.
8. Kuzmin I.V., Niezgodna M., Franka R., Agwanda B., Markotter W., Breiman R.F., Shieh W.J., Zaki S.R., Rupprecht C.E. Marburg virus in fruit bat, Kenya. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(2):352–4. DOI: 10.3201/eid1602.091269.
9. Pigott D.M., Golding N., Mylne A., Huang Z., Weiss D.J., Brady O.J., Kraemer M.U.G., Hay S.I. Mapping the zoonotic niche of Marburg virus disease in Africa. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2015; 109(6):366–78. DOI:10.1093/trstmh/trv024.
10. Pattyn S.R., editor. Ebola virus haemorrhagic fever. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press; 1978. P. 134–9.
11. Baron R.C., McCormick J.B., Zubeir O.A. Ebola virus disease in Southern Sudan: hospital dissemination and intrafamilial spread. *Bull. World Health Organ.* 1983; 61(6):997–1003.
12. Leroy E.M., Kumulungui B., Pourrut X., Rouquet P., Hassanin A., Yaba P., Delicat A., Paweska J.T., Gonzalez J.P., Swanepoel R. Fruit bats as reservoirs of Ebola virus. *Nature.* 2005; 438(7068):575–6. DOI: 10.1038/438575a.
13. Leroy E.M., Epelboin A., Mondonge V., Pourrut X., Gonzalez J.P., Muyembe-Tamfum J.J., Formenty P. Human Ebola outbreak resulting from direct exposure to fruit bats in Luebo, Democratic Republic of Congo, 2007. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9(6):723–8. DOI: 10.1089/vbz.2008.0167.
14. Hayman D.T., Yu M., Crameri G., Wang L.F., Suu-Ire R., Wood J.L., Cunningham A.A. Ebola virus antibodies in fruit bats, Ghana, West Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(7):1207–9. DOI: 10.3201/eid1807.111654.
15. Goldstein T., Anthony S.J., Gbakima A., Bird B.H., Bangura J., Tremeau-Bravard A., Belaganahalli M.N., Wells H.L., Dhanota J.K., Liang E., Grodus M., Jangra R.K., DeJesus V.A., Lasso G., Smith B.R., Jambai A., Kamara B.O., Kamara S., Bangura W., Monagin C., Shapira S., Johnson C.K., Saylors K., Rubin E.M., Chandran K., Lipkin W.I., Mazet J.A.K. The discovery of Bombali virus adds further support for bats as hosts of ebolaviruses. *Nat. Microbiol.* 2018; 3(10):1084–9. DOI: 10.1038/s41564-018-0227-2.
16. Taxonomy Browser. [Internet] (cited 31 Oct 2017). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=11286>.
17. Hayman D.T., Fooks A.R., Marston D.A., Garcia-R. J.C. The Global Phylogeography of Lyssaviruses – Challenging the “Out

- of Africa" Hypothesis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(12):e0005266. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005266.
18. Badrane H., Tordo N. Host switching in *Lyssavirus* history from the Chiroptera to the Carnivora orders. *J. Virol.* 2001; 75(17):8096–104. DOI: 10.1128/JVI.75.17.8096-8104.2001.
19. Human rabies: 2016 updates and call for data. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2017; 92(7):77–86.
20. Aghomo H.O., Ako-Nai A.K., Oduye O.O., Tomori O., Rupprecht C.E. Detection of rabies virus antibodies in fruit bats (*Eidolon helvum*) from Nigeria. *J. Wildl. Dis.* 1990; 26(2):258–61. DOI: 10.7589/0090-3558-26.2.258.
21. Kuzmin I.V., Niezgoda M., Franka R., Agwanda B., Markotter W., Beagley J.C., Urazova O.Y., Breiman R.F., Rupprecht C.E. Lagos Bat Virus in Kenya. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(4):1451–61. DOI: 10.1128/JCM.00016-08.
22. Kgaladi J., Wright N., Coertse J., Markotter W., Marston D., Fooks A.R., Freuling C.M., Müller T.F., Sabeta C.T., Nel L.H. Diversity and Epidemiology of Mokola Virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(10):e2511. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002511.
23. Banyard A.C., Evans J.S., Luo T.R., Fooks A.R. Lyssaviruses and Bats: Emergence and Zoonotic Threat. *Viruses.* 2014; 6:2974–90. DOI: 10.3390/v6082974.
24. Wright E., Hayman D.T.S., Vaughan A., Temperton N.J., Wood J.L.N., Cunningham A.A., Suu-Ire R., Weiss R.A., Fooks A.R. Virus neutralising activity of African fruit bat (*Eidolon helvum*) sera against emerging lyssaviruses. *Virology.* 2010; 408(2):183–9. DOI: 10.1016/j.virol.2010.09.014.
25. Moratelli R., Calisher C.H. Bats and zoonotic viruses: can we confidently link bats with emerging deadly viruses? *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2015; 110(1):1–22. DOI: 10.1590/0074-02760150048.
26. Markotter W., Monadjem A., Nel L.H. Antibodies against Duvenhage virus in insectivorous bats in Swaziland. *J. Wildl. Dis.* 2013; 49(4):1000–3. DOI: 10.7589/2012-10-257.
27. Markotter W., Randles J., Rupprecht C.E., Sabeta C.T., Taylor P.J., Wandeler A.I., Nel L.H. Lagos bat virus, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(3):504–6. DOI: 10.3201/eid1205.051306.
28. Ogunkoya A.B., Beran G.W., Umoh J.U., Gomwalk N.E., Abdulkadir I.A. Serological evidence of infection of dogs and man in Nigeria by lyssaviruses (family Rhabdoviridae). *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1990; 84(6):842–5.
29. Kuzmin I.V., Mayer A.E., Niezgoda M., Markotter W., Agwanda B., Breiman R.F., Rupprecht C.E. Shimoni bat virus, a new representative of the *Lyssavirus* genus. *Viruses.* 2010; 149(2):197–210. DOI: 10.1016/j.viruses.2010.01.018.
30. Marston D.A., Horton D.L., Ngeleja C., Hampson K., McElhinney L.M., Ashley C., Banyard, Daniel Haydon, Sarah Cleaveland, Charles E. Rupprecht, Bigambo M., Fooks A.R., Lembo T. Ikoma Lyssavirus, Highly Divergent Novel Lyssavirus in an African Civet. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(4):664–7. DOI: 10.3201/eid1804.111553.
31. Weatherman S., Feldmann H., de Wit E. Transmission of henipaviruses. *Curr. Opin. Virol.* 2017; 28:7–11. DOI: 10.1016/j.coviro.2017.09.004.
32. Angeletti S., Lo Presti A., Cella E., Ciccozzi M. Molecular epidemiology and phylogeny of Nipah virus infection: A mini review. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 2016; 9(7):630–4. DOI: 10.1016/j.apjtm.2016.05.012.
33. Middleton D. Hendra virus. *Vet. Clin. North. Am. Equine. Pract.* 2014; 30(3):579–89. DOI: 10.1016/j.cveq.2014.08.004.
34. Gurley E.S., Hegde S.T., Hossain K., Sazzad H.M.S., Hossain M.J., Rahman M., Sharker M.A.Y., Salje H., Islam M.S., Epstein J.H., Khan S.U., Kilpatrick A.M., Daszak P., Luby S.P. Convergence of Humans, Bats, Trees, and Culture in Nipah Virus Transmission, Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(9):1446–53. DOI: 10.3201/eid2309.161922.
35. Iehlé C., Razafitrimo G., Razainirina J., Andriaholinirina N., Goodman S.M., Faure C., Georges-Courbot M.C., Rousset D., Reynes J.M. Henipavirus and Tioman virus antibodies in pteropodid bats, Madagascar. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(1):159–61. DOI: 10.3201/eid1301.060791.
36. Hayman D.T., Suu-Ire R., Breed A.C., McEachern J.A., Wang L., Wood J.L., Cunningham A.A. Evidence of henipavirus infection in West African fruit bats. *PLoS One.* 2008; 3(7):e2739. DOI: 10.1371/journal.pone.0002739.
37. Pernet O., Schneider B.S., Beaty S.M., LeBreton M., Yun T.E., Park A., Zachariah T.T., Bowden T.A., Hitchens P., Ramirez C.M., Daszak P., Mazet J., Freiberg A.N., Wolfe N.D., Lee B. Evidence for henipavirus spillover into human populations in Africa. *Nat. Commun.* 2014; 5:5342. DOI: 10.1038/ncomms6342.
38. Drexler J.F., Corman V.M., Müller M.A., Maganga G.D., Vallo P., Binger T., Gloza-Rausch F., Cottontail V.M., Rasche A., Yordanov S., Seebens A., Knörnschild M., Oppong S., Adu Sarkodie Y., Pongombo C., Lukashev A.N., Schmidt-Chanasit J., Stöcker A., Carneiro A.J., Erbar S., Maisner A., Fronhoffs F., Buettner R., Kalko E.K., Kruppa T., Franke C.R., Kallies R., Yandoko E.R., Herrler G., Reusken C., Hassanin A., Krüger D.H., Matthee S., Ulrich R.G., Leroy E.M., Drosten C. Bats host major mammalian paramyxoviruses. *Nat. Commun.* 2012; 24(3):796. DOI: 10.1038/ncomms1796.
39. Lee B., Pernet O., Ahmed A.A., Zeltina A., Beaty S.M., Bowden T.A. Molecular recognition of human ephrinB2 cell surface receptor by an emergent African henipavirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2015; 112(17):E2156–65. DOI: 10.1073/pnas.1501690112.
40. Woo P.C., Lau S.K., Lam C.S., Lau C.C., Tsang A.K., Lau J.H., Bai R., Teng J.L., Tsang C.C., Wang M., Zheng B.J., Chan K.H., Yuen K.Y. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus deltacoronavirus supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavirus. *J. Virol.* 2012; 86(7):3995–4008. DOI: 10.1128/JVI.06540-11.
41. Memish Z.A., Cotten M., Meyer B., Watson S.J., Alshafi A.J., Al Rabeeah A.A., Corman V.M., Sieberg A., Makhdoom H.Q., Assiri A., Al Masri M., Aldabbagh S., Bosch B.J., Beer M., Müller M.A., Kellam P., Drosten C. Human infection with MERS coronavirus after exposure to infected camels, Saudi Arabia, 2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(6):1012–5. DOI: 10.3201/eid2006.140402.
42. Weiss S.R., Navas-Martin S. Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2005; 69(4):635–64. DOI: 10.1128/MMBR.69.4.635-664.2005.
43. Hu B., Ge X., Wang L.-F., Shi Z. Bat origin of human coronaviruses. *Virol. J.* 2015; 12:221. DOI: 10.1186/s12985-015-0422-1.
44. Li W., Shi Z., Yu M., Ren W., Smith C., Epstein J.H., Wang H., Crameri G., Hu Z., Zhang H., Zhang J., McEachern J., Field H., Daszak P., Eaton B.T., Zhang S., Wang L.F. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science.* 2005; 310(5748):676–9. DOI: 10.1126/science.1118391.
45. Müller M.A., Paweska J.T., Leman P.A., Drosten C., Grywna K., Kemp A., Braack L., Sonnenberg K., Niedrig M., Swanepoel R. Coronavirus antibodies in African bat species. *Emerg. Infect. Dis.* 2007; 13(9):1367–70. DOI: 10.3201/eid1309.070342.
46. Pfefferle S., Oppong S., Drexler J.F., Gloza-Rausch F., Ipsen A., Seebens A., Müller M.A., Annan A., Vallo P., Adu-Sarkodie Y., Kruppa T.F., Drosten C. Distant Relatives of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus and Close Relatives of Human Coronavirus 229E in Bats, Ghana. *Emerg. Infect. Diseases.* 2009; 15(9):1377–84. DOI: 10.3201/eid1509.090224.
47. Quan P.-L., Firth C., Street C., Henriquez J.A., Petrosov A., Tashmukhamedova A., Hutchison S.K., Egholm M., Osinubi M.O.V., Niezgoda M., Ogunkoya A.B., Briese T., Rupprecht C.E., Lipkin W.I. Identification of a Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-Like Virus in a Leaf-Nosed Bat in Nigeria. *MBio.* 2010; 1(4):e00208–10. DOI: 10.1128/mBio.00208-10.
48. Tong S., Conrardy C., Ruone S., Kuzmin I.V., Guo X., Tao Y., Niezgoda M., Haynes L., Agwanda B., Breiman R.F., Anderson L.J., Rupprecht C.E. Detection of novel SARS-like and other coronaviruses in bats from Kenya. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(3):482–5. DOI: 10.3201/eid1503.081013.
49. Müller M.A., Corman V.M., Jores J., Meyer B., Younan M., Liljander A., Bosch B.J., Lattwein E., Hilali M., Musa B.E., Bornstein S., Drosten C. MERS coronavirus neutralizing antibodies in camels, Eastern Africa, 1983–1997. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(12):2093–5. DOI: 10.3201/eid2012.141026.
50. Corman V.M., Ithete N.L., Richards L.R., Schoeman M.C., Preiser W., Drosten C., Drexler J.F. Rooting the phylogenetic tree of middle East respiratory syndrome coronavirus by characterization of a conspecific virus from an African bat. *J. Virol.* 2014; 88(19):11297–303. DOI: 10.1128/JVI.01498-14.

Authors:

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

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

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

Об авторах:

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

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

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

Поступила 18.01.18.

Принята к публ. 31.01.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-27-32

УДК 614.38(470.41)

Л.О. Борисова¹, Л.Г. Авдонина¹, М.А. Пяташина^{1,2}

ОПЫТ РАБОТЫ УПРАВЛЕНИЯ РОСПОТРЕБНАДЗОРА ПО РЕСПУБЛИКЕ ТАТАРСТАН ПО ПРОФИЛАКТИКЕ ВНУТРЕННИХ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ В ПЕРИОД ПОДГОТОВКИ И ПРОВЕДЕНИЯ ЧЕМПИОНАТА МИРА ПО ФУТБОЛУ 2018 г.

¹Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан, Казань, Российская Федерация; ²ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Российская Федерация

Цель работы – провести анализ и обобщить опыт организации эпидемиологического надзора за внутренними рисками, связанными с активизацией природно-очаговых болезней в Республике Татарстан, и комплекса профилактических мероприятий в зонах эпидемиологического риска при подготовке и проведении Чемпионата мира по футболу FIFA-2018. **Материалы и методы.** Для анализа использованы эпизоотологические и эпидемиологические данные, представленные ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» за 2015–2018 гг. **Результаты и выводы.** Природные условия Республики Татарстан благоприятны для циркуляции возбудителей некоторых природно-очаговых заболеваний, носителями которых являются млекопитающие (в первую очередь мелкие грызуны) и птицы, переносчиками – кровососущие членистоногие (иксодовые клещи, комары). Результаты мониторинга циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней позволили сделать вывод, что в период проведения Чемпионата мира 2018 г. сохранится высокая потенциальная эпидемиологическая опасность возникновения случаев заболеваний среди участников и гостей международного спортивного мероприятия. Учитывая существующие и прогнозируемые внутренние риски, определены приоритетные направления при организации комплекса профилактических мероприятий, направленные на минимизацию эпидемиологических рисков в отношении природно-очаговых инфекций в период подготовки и проведения Чемпионата мира по футболу FIFA-2018. Выбранная стратегия и тактика профилактических мероприятий позволила не допустить случаев заражения природно-очаговыми инфекционными болезнями и обеспечить стабильную эпидемиологическую ситуацию в период проведения Чемпионата мира по футболу 2018 г.

Ключевые слова: внутренние эпидемиологические риски, природно-очаговая заболеваемость, профилактические мероприятия.

Корреспондирующий автор: Борисова Луиза Олеговна, e-mail: org@16.rospotrebnadzor.ru.

Для цитирования: Борисова Л.О., Авдонина Л.Г., Пяташина М.А. Опыт работы управления Роспотребнадзора по Республике Татарстан по профилактике внутренних эпидемиологических рисков в период подготовки и проведения чемпионата мира по футболу 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 4:27–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-27-32

L.O. Borisova¹, L.G. Avdonina², M.A. Patyashina^{1,2}

Experience of the Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan in the Prevention of Internal Epidemiological Risks During the Preparation and Holding of the FIFA World Cup-2018

¹Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan, Kazan, Russian Federation; ²Kazan State Medical Academy Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was to describe the organization of epidemiological surveillance over internal risks associated with the intensification of natural-focal diseases in the Republic of Tatarstan, analysis of the measures taken to prevent natural focal diseases during the preparation and holding of the FIFA World Cup-2018. **Materials and methods.** The data from surveys and forecasts as regards the numbers of small mouse-like rodents as carriers and arthropod vectors of natural-focal diseases, epizootic and epidemiological situation reports in the Republic of Tatarstan and information on infectious and parasitic disease morbidity rates in the Republic of Tatarstan, presented by the Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan over 2015–2018 were utilized for analysis. **Results and conclusions.** The natural conditions of the Republic of Tatarstan are favorable for the circulation of pathogens of natural-focal diseases, which carriers are mammals (primarily small rodents) and birds, and vectors – blood-sucking arthropods: Ixodidae ticks, mosquitoes. The results of circulation monitoring of natural focal infection pathogens in the ambient environment made it possible to conclude that during the FIFA World Cup-2018, the epidemic risk of occurrence of natural-focal diseases would remain high. Considering the existing and forecasted internal risks, priorities were identified in the organization of preventive measures aimed at minimizing epidemiological risks in relation to natural-focal infections during the preparation and holding of the FIFA World Cup 2018. The chosen preventive strategy made it possible to prevent the infection with natural-focal infectious diseases among the population and ensure a stable epidemiological situation during the FIFA World Cup-2018.

Keywords: internal epidemiological risks, natural-focal morbidity, preventive measures.

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

Corresponding author: Louisa O. Borisova, e-mail: org@16.rospotrebnadzor.ru.

Citation: Borisova L.O., Avdonina L.G., Palyashina M.A. Experience of the Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan in the Prevention of Internal Epidemiological Risks During the Preparation and Holding of the FIFA World Cup-2018. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 4:27–32. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-27-32

Received 26.11.18. *Accepted* 05.12.18.

С 14 июня по 15 июля 2018 г. на территории 11 субъектов Российской Федерации, включая Республику Татарстан, прошли финальные матчи XXI Чемпионата мира по футболу (далее Чемпионат). В Казани состоялось 6 матчей Чемпионата: 16, 20, 24, 27, 30 июня, 6 июля 2018 г., в которых приняли участие 12 команд общей численностью 806 человек (Австралия, Франция, Иран, Испания, Япония, Колумбия, Польша, Южная Корея, Германия, Аргентина, Бразилия, Бельгия). Столицу Республики Татарстан во время матчей мирового первенства по футболу посетили более 100 тыс. иностранных туристов и болельщиков из 26 стран мира. Подготовка к международному массовому мероприятию такого масштаба потребовала тщательного анализа возможных эпидемиологических опасностей и разработки адекватного комплекса мер противодействия им [1, 2, 3].

Цель работы – анализ и обобщение опыта организации эпидемиологического надзора за внутренними рисками, связанными с активизацией природно-очаговых болезней в Республике Татарстан, и комплекса профилактических мероприятий в период подготовки и проведения Чемпионата мира по футболу FIFA-2018.

Материалы и методы

Использованы данные обзоров и прогнозов состояния численности мелких мышевидных грызунов-носителей и членистоногих-переносчиков природно-очаговых болезней, эпизоотической и эпидемиологической обстановки в Республике Татарстан и сведения об инфекционной и паразитарной заболеваемости в Республике Татарстан, представленные ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» за 2015–2018 гг. В целях изучения состояния коллективного иммунитета населения республики к клещевому вирусному энцефалиту (КВЭ), иксодовым клещевым боррелиозам (ИКБ), лихорадке Западного Нила (ЛЗН), геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС) на территории Республики Татарстан обследовано 600 сывороток крови. Исследования сывороток крови проведены на базе ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии». Мероприятия по обеспечению государственного санитарно-эпидемиологического надзора и санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий осуществлялись в соответствии с требованиями действующих нормативных документов, комплексными и оперативными планами.

Результаты и обсуждение

Характеристика эпизоотической и эпидемиологической ситуации по природно-очаговым инфекциям в Республике Татарстан. На протяжении последних десяти лет на территории Республики Татарстан продолжает сохраняться напряженная эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым инфекционным болезням бактериальной, риккетсиозной и вирусной этиологии. Основными причинами сохранения высокой потенциальной опасности риска заражения населения в первую очередь являются формирование сочетанных природно-антропоургических и антропоургических очагов инфекционных болезней, заметная активизация различных контактов населения с природными биоценоотическими комплексами, изменение климата, способствующее расширению ареалов переносчиков ряда природно-очаговых инфекционных болезней [4, 5].

Общая инфекционная заболеваемость в Республике Татарстан составляет ежегодно в среднем 20052 на 100 тыс. населения. Средняя многолетняя заболеваемость природно-очаговыми инфекционными болезнями за последние 10 лет составила 14,7 на 100 тыс. населения, достигая в отдельные годы до 32,8 на 100 тыс. населения.

Природные условия Республики Татарстан благоприятны для циркуляции возбудителей некоторых природно-очаговых заболеваний, носителями которых являются млекопитающие (в первую очередь мелкие грызуны) и птицы, переносчиками – кровососущие членистоногие (иксодовые клещи, комары). Наиболее актуальными природно-очаговыми инфекционными заболеваниями в Республике Татарстан являются геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, иксодовые клещевые боррелиозы, клещевой вирусный энцефалит, иерсиниозы, лептоспироз, туляремия, кроме того существуют предпосылки для возникновения очагов лихорадки Западного Нила, малярии с местной передачей, бешенства [6].

В лесной зоне Татарстана в качестве носителей возбудителей природно-очаговых болезней выступают 10 видов мелких млекопитающих (ММП), из которых доминирует рыжая полевка – основной носитель возбудителя ГЛПС (60–75 %), содоминантами выступают малая лесная и желтогорлая мыши. Эти млекопитающие являются также прокормителями иксодовых клещей [7].

В лесной и лесостепной зонах республики численность грызунов относительно стабильна: весной средний многолетний показатель составляет 7,6 % попадания в давилки, осенью – 15,2 %.

По результатам ежегодно проводимого монито-

ринга численности и инфицированности грызунов в республике, с 2012 г. отмечается увеличение процента инфицированности ММП возбудителем ГЛПС (в 2017 г. в весенний период с 8,9 до 23 %, в осенний период с 7,9 до 9,5 %). В 2017 г. обнаружены инфицированные вирусом ГЛПС грызуны в Чистопольском, Буинском, Верхне-Услонском, Лаишевском, Высокогорском, Альметьевском, Лениногорском, Мамадышском, Нижнекамском, Зеленодольском, Пестречинском, Тукаевском районах и Казани.

Обилие водоемов и концентрация населенных пунктов на их берегах способствуют также формированию устойчивых популяций синантропных грызунов – серой крысы и домового мыши, в поселениях которых также циркулируют возбудители многих болезней.

Отмечалось увеличение доли положительных находок возбудителей лептоспироза в материале от грызунов, отловленных в весенний и осенний периоды 2017 г. – 22 и 9 % соответственно. Инфицированность грызунов возбудителем туляремии составила в весенний и осенний периоды 3 и 5,3 %.

Иксодофауна Республики Татарстан представлена 4 видами: *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*, *Dermacentor marginatus*. В пик активности она составляет в среднем 10,8 экз. на 1 флаго/км. По данным многолетнего изучения сообществ иксодовых клещей на территории Среднего Поволжья происходит сокращение ареала таежного клеща *I. persulcatus* и экспансия освобожденных территорий экологически близким видом – лесным клещем *I. ricinus*, сокращение численности и снижение воспроизводства популяций таежного и лесного клещей в границах их современных ареалов, экспансия лесных территорий ксерофильными видами клещей рода *Dermacentor*, стабильное снижение вирусофорности у *I. persulcatus* и *I. ricinus* [8]. Вирусоформность клещей, снятых с людей возбудителем КВЭ в 2017 г. составила 0,16 %, боррелиями – 17,2 %, что на 6,8 и 14 % ниже средне-многолетнего уровня соответственно. В природных очагах из 414 исследованных клещей – возбудители боррелиоза обнаружены в 18 (4,3 %), маркеры вируса клещевого вирусного энцефалита не обнаружены, показатели на уровне аналогичного периода прошлого года.

Комплекс кровососущих комаров на территории Республики Татарстан представлен следующими видами: *Aedes behningi*, *Aedes caspius dorsalis*, *Aedes cinereus*, *Aedes communis*, *Aedes excrucians*, *Aedes flavescens*, *Aedes sticticus*, *Aedes vexans*, *Culex pipiens pipiens*, *Culex pipiens molestus*, *Culex modestus*, *Anopheles maculipennis*, *Anopheles hyrcanus*, *Anopheles claviger* [9]. Среднемноголетняя численность имаго на дневках – 3,6 на 1 м², личинок в водоемах – 3,1 на 1 м².

В Республике Татарстан отмечается спорадическая заболеваемость лихорадкой Западного Нила. В 2011 г. в Казани зарегистрировано 4 случая ЛЗН,

в 2012 г. – 3, с 2013 г. случаи ЛЗН в Республике Татарстан не регистрировались.

По результатам изучения состояния коллективного иммунитета к группе природно-очаговых инфекций населения Республики Татарстан в 2017 г. процент серопозитивных сывороток к вирусу КВЭ составил 3,4 % (17 сывороток из 600 исследуемых), что в 2 раза выше показателя 2016 г. (1,3 %, 7 сывороток из 523), к возбудителю ИКБ – 4,8 % (24 сыворотки из 600), что ниже показателя 2016 г. в 1,2 раза (5,7 %, 30 положительных сывороток из 523). Наличие антител к возбудителю ГЛПС выявлено в 57 сыворотках из 994 исследуемых (9,2 %), что 1,5 раза больше, чем в 2016 г. (6 %, 38 сывороток из 624), к вирусу ЛЗН выявлено 2,5 % серопозитивных сывороток, исследованных от населения (5 из 200).

На протяжении ряда лет показатель поврежденных, нанесенных безнадзорными животными, в республике остается высоким: в пределах 305–350 на 100 тыс. населения.

В 2017 г. в Казани уровень обращаемости жителей остался на уровне 2016 г. (303,54 на 100 тыс. населения), показатель обращений жителей по поводу повреждений от безнадзорных животных увеличился на 8,5 % (с 147,0 до 159,4) и превысил республиканский показатель (134,18) на 18,8 %. Удельный вес пострадавших от неизвестных животных в Казани в сравнении с предыдущим годом также возрос на 4 % (с 49 до 53 %) и на 7 % превысил республиканское значение (46 %).

В 2017 г. зарегистрировано 18 лабораторно подтвержденных случаев бешенства животных, что на 11 % ниже аналогичного показателя 2016 г. (20 случаев).

Результаты мониторинга циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекций во внешней среде позволили сделать вывод, что в период проведения Чемпионата сохраняется высокая эпидемическая опасность возникновения случаев заболеваний природно-очаговыми инфекциями как на территориях, находящихся на границе с Казанью (Лаишевский, Высокогорский, Зеленодольский районы), являющихся местами туристских маршрутов, природными биотопами, примыкающими к спортивным объектам и объектам проживания участников и гостей, так и на лесопарковых территориях города в местах проведения спортивных матчей.

Организация и проведение профилактических мероприятий. На основании проведенного анализа эпидемиологической ситуации и прогноза рисков, дифференциации очаговых территорий по степени потенциальной эпидемической опасности Управлением были определены объемы профилактических обработок в период подготовки к Чемпионату.

В 2017 г. за счет средств бюджета Республики Татарстан и проведены запланированные дератизационные мероприятия на открытой территории Казани (сплошная и барьерная дератизация) на пло-

щади 1499,1 га; противоклещевые обработки лесопарковых зон, мест массового отдыха населения – на площади 130 га; противочичночные обработки анофелогенных водоемов – на площади 600 га, финансовые затраты составили 4,7 млн руб. Таким образом, за счет субвенций обработано 78 % всех площадей, подлежащих профилактическим обработкам в Казани.

Вместе с тем, для обеспечения эпидемиологического благополучия по природно-очаговым инфекционным болезням на территориях проведения ЧМ-2018 возникла необходимость проведения в 2018 г. дератизации, дезинсекции и дезинфекции на участках высокого риска заражения в окрестностях населенных пунктов, зонах рекреации и местах временного пребывания участников и гостей ЧМ, а также в местах концентрации населения из групп повышенного риска заражения опасными природно-очаговыми инфекционными болезнями, особенно при проведении массовых мероприятий.

Эти условия потребовали скорректировать объемы планируемых на 2018 г. профилактических и противоэпидемических мероприятий в части определения площади профилактических обработок территорий с учетом задействования их как мест проживания участников и гостей, расположения туристических маршрутов и мест проведения массовых культурных мероприятий.

Управлением на 2018 г. перераспределены суммы основных субвенций в части увеличения сумм на проведение дератизационных обработок в Казани на 48 % (2017 г. – 2311,4 тыс. руб., 2018 г. – 3441,7 тыс. руб.), акарицидных – на 86 % (2017 г. – 767 тыс. руб., 2018 г. – 1428,1 тыс. руб.), ларвицидных – на 5,6 % (2017 г. – 1619 тыс. руб., 2018 г. – 1710,2 тыс. руб.).

Однако проведенный расчет достаточности выделенных на обработки субвенций показал, что на выделенные 6,5 млн руб. будет обработано лишь 69 % площадей, подлежащих дератизации (3100 га), 32 % подлежащих территориям – против клещей (742 га) и 100 % анофелогенных водоемов (600,0 га, 147 водоемов), что не позволит снизить уровень численности грызунов до безопасного уровня и минимизировать риски возникновения заболеваний.

В связи с этим Управлением проведена целенаправленная работа (заседания оперативных штабов по подготовке к ЧМ, направлены письма в заинтересованные ведомства, в том числе в Министерство финансов Республики Татарстан) по обоснованию проведенных расчетов и необходимости выделения дополнительно из средств бюджета республики 9,1 млн руб., которые распоряжением Кабинета Министров Республики Татарстан от 14.03.2018 г. № 528-р выделены на финансовое обеспечение выполнения муниципального задания МБУ «Дезинфекционная станция города Казани» по профилактике природно-очаговых заболеваний в период проведения ЧМ. Все выделенные денежные средства освоены, обработки проведены в полном объеме. В

итоге профилактические обработки проведены на 100 % подлежащих площадей (дератизационные – 3102,5 га, акарицидные – 742 га, объем ларвицидных обработок составил 773,6 га).

Наиболее значимую эпидемическую опасность в период проведения Чемпионата представляли мелкие млекопитающие, обитающие в лесопарковых насаждениях города, расположенных в непосредственной близости от жилых домов и мест отдыха горожан (лесопарки, центр Казани, объекты Чемпионата) [7].

На дополнительные средства в первую очередь обработаны территории вокруг спортивных объектов: Стадион «Казань-Арена» (53000 м²), Центральный стадион, Стадион «Рубин» (6000 м²), стадион «Свияга» (12000 м²), тренировочная база «Татнефть – Ак Барс» (7600 м²) и др., площадка проведения Фестиваля болельщиков FIFA (5 га).

Кроме того обработками от грызунов и насекомых охвачены территории прилегающие к аэропорту, гостиницам, местам размещения спортсменов и приданных сил (дератизационная обработка проведена на площади 420 га, акарицидная обработка – на площади 114,02 га). Дератизационными и акарицидными обработками также охвачены 186 парков и скверов Казани на площади 3301 и 772 га соответственно.

Оценка эффективности обработок в соответствии с регламентированными сроками завершена на всех площадях. По результатам контроля эффективности повторно охвачены акарицидными и противоклещевыми обработками территории на площади 24,5 и 6,5 га соответственно.

На территориях проведения туристических маршрутов в 6 муниципальных районах республики (Алексеевский, Зеленодольский, Спасский, Чистопольский, Елабужский районы и г. Набережные Челны) проведены профилактические мероприятия, включающие постоянный эпизоотологический мониторинг и проведение дератизационных, акарицидных и комариоистребительных мероприятий (2300 га – дератизация, 383 га – акарицидная обработка, 508 га – ларвицидная обработка).

По предписанию Управления энтомологии ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» перед каждым спортивным матчем проводились энтомологические обследования стадиона «Казань – Арена», площадки проведения Фестиваля болельщиков FIFA и прилегающей территории на наличие личинок, а также крылатых стадий комаров, мошек и других насекомых. По результатам обследований дезинсекционные обработки проведены 21.06., 27.06. и 06.07.2018 г. на общей площади 5,7 га.

В структуре заблаговременных профилактических мероприятий в природных, природно-антропоургических и антропоургических очагах опасных инфекционных болезней, расположенных в зоне проведения массовых мероприятий, значительное внимание уделено проведению санитарно-

гигиенических, санитарно-технических, агролесотехнических мероприятий, направленных на уничтожение и создание неблагоприятных условий жизни для грызунов и кровососущих членистоногих [1, 6]. Благоустройство и очистка территорий и объектов, своевременный вывоз отходов, уничтожение сорняков и бурьянистой растительности, ликвидация ветхих строений и сооружений, санитарная рубка в зеленых зонах населенных пунктов, глубокая вспашка земли и другие мероприятия лишают носителей и переносчиков возбудителей опасных инфекционных болезней благоприятных мест для укрытия, питания и размножения.

В целях предотвращения случаев нападения на людей безнадзорных животных, а также недопущения случаев заражения бешенством участников, гостей и жителей республики, в период проведения Чемпионата мира по футболу, по инициативе Управления, совместно с Исполнительным Комитетом муниципального образования г. Казань рассчитаны дополнительные средства на мероприятия по регулированию численности безнадзорных животных. Распоряжением Кабинета Министров Республики Татарстан № 528-р от 14.03.2018 г. Исполнительному комитету муниципального образования г. Казани выделены дополнительные финансирование на регулирование численности безнадзорных животных на сумму 2824,222 тыс. руб. Управлением определены места постоянного мониторинга численности безнадзорных животных (территория вокруг стадиона «Казань – Арена» и прилегающая к площадке проведения Фестиваля болельщиков FIFA), на которых ООО «Ветдом» оперативно проводило мероприятия по регулированию численности безнадзорных животных в период проведения Чемпионата: всего отловлено 2033 безнадзорных животных.

Выбранная стратегия по необходимости усиления мониторинга объектов окружающей среды, обоснованности пересмотра объемов проводимых профилактических мероприятий позволила не допустить реализацию внутренних эпидемиологических рисков и обеспечить стабильную эпидемиологическую ситуацию в период проведения Чемпионата мира по футболу 2018 г.

Таким образом, принципиально важной составляющей на этапе планирования массовых мероприятий является проведение заблаговременной оценки эпидемиологических рисков, которая позволяет целенаправленно определить и выбрать силы и средства профилактики и предупреждения эпидемиологических осложнений и меры по контролю чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера международного значения. Системный подход к профилактике сочетанных очагов, в которых возбудители разной этиологии имеют общих носителей и переносчиков, предусматривает разработку единой системы оздоровления территорий, направленных на снижение спорадической, предупре-

ждений групповой и вспышечной заболеваемости.

В результате своевременного, до начала Чемпионата мира 2018 г., проведения комплекса профилактических мероприятий, основанных на данных мониторинга и прогнозе рисков, в период проведения спортивных матчей в Казани не допущено осложнения эпидемиологической ситуации по природно-очаговым инфекциям.

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

Список литературы

1. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. XXVII Всемирная летняя Универсиада 2013 года в Казани. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия. Тверь: ООО «Издательство «Триада»; 2013. 528 с.
2. Онищенко Г.Г., Топорков А.В., Пяташина М.А., Удовиченко С.К., Топорков В.П., Кутырев В.В. Предупреждение и контроль чрезвычайных ситуаций биологического характера в условиях массовых международных мероприятий. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2016; 1(14):81–8.
3. Удовиченко С.К., Иванова А.В., Топорков В.П., Куклев Е.В., Кузнецов А.А., Тарасов М.А., Слудский А.А., Бойко А.В. Комплексная оценка рисков осложнения эпидемиологической обстановки по природно-очаговым инфекционным болезням при проведении XXI Чемпионата мира по футболу в Российской Федерации в 2018 г. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2018; 13(3):496–9. DOI:10.14300/mnnc.2018.13088.
4. Трифонов В.А., Бойко В.А., Потапов В.С., Фассахов Р.С., Кутыркин А.В. Основные эпидемиологические закономерности заболеваемости некоторыми природно-очаговыми инфекциями в Республике Татарстан. *Дезинфекционное дело*. 2009; 3:39–42.
5. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Санитарная охрана территории Российской Федерации в современных условиях. ООО «Буква»; 2014. 460 с.
6. Удовиченко С.К., Топорков А.В., Сафронов В.А., Карнаузов И.Г., Попов Н.В., Топорков В.П., Кутырев В.В. Совершенствование профилактических мероприятий при подготовке и проведении Универсиады-2013 в Казани на основе комплексной оценки эпидемиологического риска по природно-очаговым инфекционным болезням. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; (4):42–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-42-47.
7. Чекашов В.Н., Пяташина М.А., Яковлев С.А., Красовская Т.Ю., Шилов М.М., Захаров К.С., Шарова И.Н., Попов Н.В., Зиятдинов В.Б., Садреева Л.Ф., Гайнуллин А.А., Сайфуллина Г.Ш. Организация и проведение эпизоотологического обследования в условиях массовых мероприятий (на примере XXVII Всемирной летней универсиады 2013 г. в Казани). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; (2):37–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-2-37-40.
8. Борисова В.И., Назарова И.В. Эктопаразиты мелких млекопитающих в естественных и трансформированных экосистемах Среднего Поволжья. Горький; 1990. 427 с. (Рукопись, деп. в ВИНИТИ. № 2 928 890).
9. Заречная С.Н. Избранные лекции по медицинской энтомологии. Учебное пособие. М.: Национальная организация дезинфекционистов; 2010. 168 с.

References

1. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [XXVII World Summer Universiade-2013 in Kazan. Provision of Sanitary-Epidemiological Welfare of the Population]. Tver: "Triada" Ltd.; 2013. 528 p.
2. Onishchenko G.G., Toporkov A.V., Pityashina M.A., Udovichenko S.K., Toporkov V.P., Kutyrev V.V. [Prevention and control of emergency situations of biological character under international mass events]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obucheniye*. 2016; 1(14):81–8.
3. Udovichenko S.K., Ivanova A.V., Toporkov V.P., Kouklev E.V., Kuznetsov A.A., Tarasov M.A., Sludsky A.A., Boiko A.V. [Complex assessment of risks of epidemiological situation aggravation as regards natural-focal infectious diseases during XXI FIFA World Cup-2018 in the Russian Federation]. *Meditsinsky Vestnik Severnogo Kavkaza*. 2018; 13(3):496–9. DOI:10.14300/mnnc.2018.13088.
4. Trifonov V.A., Boiko V.A., Potapov V.S., Fassakhov R.S.,

Kutyркин А.В. [Basic epidemiological regularities of some natural-focal infection incidence in the Republic of Tatarstan]. *Dezinfektsionnoe Delo*. 2009; 3:39–42.

5. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Sanitary Protection of the Territory of the Russian Federation under Current Conditions]. Saratov: "Bukva" Ltd.; 2014. 460 p.

6. Udovichenko S.K., Toporkov A.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Popov N.V., Toporkov V.P., Kutyrev V.V. [Improvement of the preventive measures for managing Universiade-2013 held in Kazan, based on comprehensive evaluation of epidemiological risks as regards natural-focal infectious diseases]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (4):42–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-42-47.

7. Chekashov V.N., Patyashina M.A., Yakovlev S.A., Krasovskaya T.Yu., Shilov M.M., Zakharov K.S., Sharova I.N., Popov N.V., Ziatdinov V.B., Sadreeva L.F., Gainullin A.A., Saifullina G.Sh. [Management of epizootiological investigation in the context of mass event (by the example of the XXVII Worldwide Summer Universiade in Kazan, 2013)]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; (2):37–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-2-37-40.

8. Borisova V.I., Nazarova I.V. [Ectoparasites of small mammals in natural and transformed eco-systems of the Central Volga-River Region]. Gorky; 1990. 427 p. (Manuscript deposited into All-Union Institute of Scientific and Technical Information, No 2 928 890).

9. Zarechnaya S.N. [Selected Lectures on Medical Entomology. Text Book]. M.: National Organization of Infectious Disease Specialists; 2010. 168 p.

Authors:

Borisova L.O., Avdonina L.G.. Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan. 30, B. Krasnaya St., Kazan, 420111, Russian Federation. E-mail: org@16.rospotrebnadzor.ru.

Patyashina M.A. Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan; 30, B. Krasnaya St., Kazan, 420111, Russian Federation. E-mail: org@16.rospotrebnadzor.ru. Kazan State Medical Academy Ministry of Health of the Russian Federation; Kazan, Russian Federation.

Об авторах:

Борисова Л.О., Авдонина Л.Г. Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан. Российская Федерация, 420111, Казань, ул. Б. Красная, 30. E-mail: org@16.rospotrebnadzor.ru.

Патяшина М.А. Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан; Российская Федерация, 420111, Казань, ул. Б. Красная, 30. E-mail: org@16.rospotrebnadzor.ru. Казанская государственная медицинская академия; Российская Федерация, Казань.

Поступила 26.11.18.

Принята к публ. 05.12.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-33-38

УДК 57.083.223

В.Г. Германчук, А.П. Семакова, Н.Ю. Шавина

ЭТИЧЕСКИЕ ПРИНЦИПЫ ПРИ ОБРАЩЕНИИ С ЛАБОРАТОРНЫМИ ЖИВОТНЫМИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ С ПАТОГЕННЫМИ БИОЛОГИЧЕСКИМИ АГЕНТАМИ I–II ГРУПП*ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация*

Существующие международные и основная часть национальных документов, регламентирующих проведение экспериментов на лабораторных животных, изложены в биоэтической концепции 3«R». На сегодняшний день этот принцип остается актуальным и является общепринятым мировым стандартом. **Цель** исследования – проведение анализа соблюдения сотрудниками института в работе этических принципов и правил биологической безопасности при обращении с лабораторными животными, зараженными патогенными биологическими агентами (ПБА) I–II групп при проведении диагностических, экспериментальных и производственных работ. **Результаты и обсуждение.** Проведенный анализ реализации этических принципов в лаборатории при обращении с биомоделями, зараженными патогенными биологическими агентами I–II группы при проведении экспериментальных и производственных работ показывает, что программа соответствует требованиям биологической безопасности и нормам этического кодекса, а также международным стандартам гуманного отношения к животным в биомедицинских исследованиях. **Выводы** – работа в институте с лабораторными животными, зараженными ПБА I–II групп, соответствует требованиям биологической безопасности и нормам этического кодекса. Эксперименты на лабораторных животных направлены на получение новых научных знаний, сохранение и улучшение здоровья человека, а также на проведение мониторинга территории природных очагов особо опасных инфекций, с соблюдением биоэтической концепции 3«R».

Ключевые слова: этические принципы, биологическая безопасность, патогенные биологические агенты I–II групп, лабораторные животные.

Корреспондирующий автор: Германчук Валерий Геннадьевич, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Германчук В.Г., Семакова А.П., Шавина Н.Ю. Этические принципы при обращении с лабораторными животными в эксперименте с патогенными биологическими агентами I–II групп. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 4:33–38. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-33-38

V.G. Germanchuk, A.P. Semakova, N.Yu. Shavina

Ethical Principles for Handling Laboratory Animals in an Experiment with Pathogenic Biological Agents of the I–II Groups*Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation*

Abstract. Current international and major part of national documents, regulating experiments on laboratory animals, is set out in Bioethics Convention 3“R”. Presently this 3“R” principle is still relevant and commonly accepted global standard. **Objective** of the study was to verify the compliance of the staff at the institute with the ethical principles of biological safety when handling laboratory animals infected with pathogenic biological agents (PBA) of the I–II groups, performing diagnostic, experimental, and manufacturing activities. **Results and discussion.** Carried out analysis of ethical principle implementation, when working with biomodels infected with pathogenic biological agents of the I–II groups, performing scientific and manufacturing activities shows that operational procedures comply with the requirements of biological safety and regulations of ethical code, as well as international standards for humane treatment to animals in biomedical investigations. **Conclusions.** The work with laboratory animals infected with PBA of the I–II groups at the premises of RusRAPI “Microbe” meets the requirements of biological safety and norms of ethical code. Experiments on animals are aimed at obtainment of new scientific knowledge, preservation and improvement of human health, and also monitoring of natural foci of particularly dangerous infections following the rules of 3“R” bioethical concept.

Key words: ethical principles, biological safety, pathogenic biological agents of I–II groups, laboratory animals.

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

Corresponding author: Valery G. Germanchuk, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Germanchuk V.G., Semakova A.P., Shavina N.Yu. Ethical Principles for Handling Laboratory Animals in an Experiment with Pathogenic Biological Agents of the I–II Groups. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2018; 4:33–38. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-33-38

Received 11.07.18. Accepted 16.08.18.

Экспериментаторы с древнейших времен использовали животных в своих исследованиях. Однако как самостоятельное направление метод научного экспериментирования на лабораторных животных оформился во второй половине XX в. [1]. Эксперименты с использованием биомodelей занимают место одного из ведущих методов познания в современных медико-

биологических исследованиях.

По данным разных авторов, ежегодно в мире в научно-исследовательских работах используется более 100 млн лабораторных животных, из которых до 65 % – фармакологами при создании лекарственных средств [2]. Совершенно очевидно, что без экспериментов на лабораторных животных ни в одной стра-

не мира не будет допущено использование в медицине современных средств или медицинской аппаратуры. При создании новых лечебно-профилактических и биологических препаратов против возбудителей инфекционных болезней, в том числе особо опасных (патогенные биологические агенты (ПБА) I–II групп), использование лабораторных животных остается обязательным.

При работе с ПБА I–II групп важное значение имеет проблема биологической безопасности (ББ), которая сохраняет свою актуальность на протяжении многих лет [3, 4]. Биологическая безопасность в лаборатории при выполнении диагностической, производственной и экспериментальной работы, представляет собой систему организационных, медико-биологических и инженерно-технических мероприятий и средств, направленных на защиту работающего персонала, населения и среды обитания человека от воздействия ПБА [5, 6, 7, 8].

Вместе с тем, в настоящее время господствующим является мнение, что эксперименты на биомоделях должны проводиться с соблюдением определенных нравственных норм.

Впервые термин «биоэтика» ввел американский биохимик Р.В. Поттер в 1971 г. Биоэтика – это философско-прикладная область знания, охватывающая моральные, юридические и социальные проблемы, такие как отношение человека к диким и домашним животным, а также проблемы, возникшие в связи с бурным развитием биотехнологии и биомедицинских исследований. Использование лабораторных животных в медицинских исследованиях – одна из важнейших и фундаментальных проблем биоэтики. [9, 10, 11, 12].

В 1959 г. английские ученые У. Рассел и Р. Берч впервые разработали биоэтическую концепцию 3«R», в которой изложена четкая зависимость между гуманностью проводимого эксперимента и его научной эффективностью; и в настоящее время принцип 3«R» является общепринятой мировой моделью, на которой строятся существующие международные и большинство национальных документов [13].

Концепция 3«R» предусматривает:

1. *Refinement* – усовершенствование, модернизация забора биоматериала, улучшение условий работы с животными и их содержания.

2. *Reduction* – сокращение количества используемых лабораторных животных в эксперименте за счет усовершенствования методики проведения эксперимента и контроля вариации, улучшение статистической обработки материала.

3. *Replacement* – замещение высших животных в биотестировании на беспозвоночных животных, клеточные и молекулярно-биологические тесты.

Основные этические принципы проведения экспериментов на животных изложены в «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18 марта 1986 г.).

Целью работы стало проведение анализа соблюдения сотрудниками института в работе этических принципов и правил биологической безопасности при обращении с лабораторными животными, зараженными патогенными биологическими агентами I–II групп при проведении диагностических, экспериментальных и производственных работ.

В институте при проведении диагностических, экспериментальных и производственных работ с применением ПБА I–II групп предусматриваются манипуляции, которые невозможно провести без использования лабораторных животных. Это и заражение биомоделей в рамках клинических испытаний медицинских изделий, и проведение мероприятий по эпизоотологическому мониторингу территории Российской Федерации, и оперативная работа в очагах чумы. Кроме того, на биомоделях проводят испытание вакцин, используемых для специфической профилактики особо опасных инфекций по таким показателям как иммуногенность, токсичность, контролируют иммунологическую эффективность производственных вакцинных штаммов, ставят контроль на пирогенность производственных серий препаратов; определяют активность сухих полуфабрикатов – компонентов вакцин, оценивают иммуногенные и вирулентные свойства возбудителя; ставят биопробы на сибирскую язву, чуму и другие особо опасные инфекции для подтверждения наличия возбудителя в объектах окружающей среды.

Проведение экспериментов с биомоделями, связанных с этапами использования возбудителей особо опасных инфекций, требуют особого подхода и подготовки экспериментаторов, жесткого соблюдения правил биологической безопасности. Однако этические принципы при обращении с лабораторными животными остаются весьма актуальными.

Биоэтика при работе с лабораторными животными, инфицированными ПБА I–II групп, складывается из множества факторов, которые в совокупности и создают гуманизацию проведения эксперимента.

Работа по выполнению этических принципов при обращении с лабораторными животными начинается прежде всего с биоэтической комиссии, существование которой обязательно для сертификации подразделений и проведения контроля за соблюдением правил этического и гуманного отношения к биомоделям, находящимся в эксперименте, и их рациональным использованием в пределах учреждения.

Комиссия по биоэтике является независимым экспертно-консультативным органом. Целью ее работы является создание условий для решения биоэтических проблем, на основе имеющегося международного стандарта надлежащего проведения лабораторных исследований.

В состав комиссии в обязательном порядке входят специалисты по биологии, генетике, медицине, ветеринарии, опытный экспериментатор, имеющий большой опыт работы, юрист и лицо незаинтересованное в работе комиссии (независимый эксперт).

Деятельность комиссии строиться в плане гуманного отношения к животным и экологии (охрана окружающей среды для сотрудников, работающих с животными, и природы).

В своей деятельности Комиссия по биоэтике руководствуется:

1. «Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 18 марта 1986 г.), ETS N 123.

2. «Международными рекомендациями (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных», разработанными и опубликованными в 1985 г. Советом международных научных организаций.

3. «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Приложением к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755.

4. «Положением о контроле качества лабораторных животных, питомников и экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утвержденными Российской Академией медицинских наук и Министерством здравоохранения РФ 22.08.2003 г.

5. Приказом № 742 Министерства высшего и среднего специального образования СССР «Об утверждении Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» от 13.11.1984 г.

6. Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 2.2.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)», утвержденными Постановлением Главного государственного санитарного врача № 51 от 29.08.2014 г.

7. Санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)», утвержденными Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.11.2013 г. № 64.

8. Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199Н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики» от 01.04.2016 г.

При планировании научно-исследовательских работ или утверждении регламента производства медицинских иммунобиологических препаратов на Ученом Совете института заблаговременно в Комиссию по биоэтике представляется заявка на проведение экспертизы необходимой программы работы с животными. Проведя независимую биоэтическую экспертизу всех работ с применением лабораторных животных, выдается заключение из протокола заседания комиссии для утверждения материалов на Ученом Совете института. Без положительного заключения Комиссии по биоэтике экспериментальная часть работы с лабораторными животными запрещена. Результаты экспериментов, в которых животным

причинялись излишние страдания, не могут быть представлены ни в научных журналах, ни на научных конференциях и съездах.

В вопросах усовершенствования гуманизации проведения эксперимента, значимое место занимают условия содержания животных в виварии. Выращивание лабораторных животных в неестественной для них среде вызывает ряд отклонений в их естественном поведении, появление негативных стереотипов, что также отрицательно сказывается на их здоровье. Поэтому важнейшей задачей лабораторного животноводства является организация их производства и содержания, обеспечивающих необходимое качество и стандартность животных. В лабораторию животные поступают из современного, оборудованного высокотехнологичным оборудованием питомника, в котором постоянно происходит обновление поголовья и выполняются все санитарные нормы и правила по содержанию, кормлению и выращиванию лабораторных животных [11].

При транспортировке лабораторных животных из питомника учитываются нормы размещения при перевозках, что позволяет избежать физических травм и контаминации. Уменьшение времени пребывания в дороге позволяет снизить стресс у животных. Для физиологической, психологической и метаболической адаптации предоставляется определенное время до использования биомоделей в эксперименте [11].

В лаборатории при работе с животными, зараженными ПБА I–II групп, значительно возрастает биологическая опасность, увеличивается риск заражения экспериментатора и контаминации окружающей среды. В процессе оценки риска при работе с биомоделями учитываются данные о распространении ПБА в их выделениях (слюне, моче или фекалиях). Полученная информация является основополагающей при выборе соответствующих уровней ББ, практических приемов, защитного оборудования и защиты помещений.

В соответствии с принципами биологической безопасности в лаборатории создаются факторы, определяющие безопасность работы с животными, зараженными ПБА. К ним относятся первичные и вторичные барьеры.

Первичные барьеры – средства индивидуальной защиты [14], использование современного специального оборудования, которое гарантирует безопасную работу персонала лаборатории, использование стандартных операционных процедур и внутренних инструкций по обеспечению биологической безопасности. Вторичные барьеры защищают окружающую среду от воздействия ПБА, а обеспечивает их технологическая конструкция лаборатории.

Лаборатория для работы с биомоделями, зараженными ПБА I–II групп, размещается в современном здании, оснащенном высокотехнологичным оборудованием в соответствии с нормативными документами, предъявляемыми к лабораториям, работающим с зараженными животными [6, 7].

Комнаты для содержания животных оборудованы современными вентиляционными системами Bio A.S., вентилируемыми шкафами UNI-PROTECT. Правильно подобранные размеры клеток способствуют более комфортному размещению животных, соблюдению санитарных норм и успешному выполнению экспериментов. В клетках автоматически поддерживаются необходимые контролируемые и регулируемые параметры обитаемости (расход воздуха, температура, влажность, давление, воздухообмен). Системы и шкафы подключены к приточно-вытяжной вентиляции надежно защищающей животных от перекрестной инфекции, а персонал – от контаминации патогенными биологическими агентами.

Для качественного и безопасного выполнения манипуляций с лабораторными животными, согласно утвержденным стандартным операционным процедурам, используются открытый передвижной ламинар Esco VDA-4A1, функционирующий как классический бокс биологической безопасности второго класса типа B2, и ламинарная станция для ухода за животными и чистки клеток Esco VBD [15].

Кормление лабораторных животных осуществляется гранулированным кормом. Состав компонентов строго дозирован, имеет сбалансированный витаминный, макро- и микроэлементный состав. В данных кормах отсутствуют антибиотики, гормоны, ферменты, стимуляторы роста и прочие компоненты, которые могут исказить общую картину эксперимента. Использование гранулированного питания снижает вероятность распространения инфекции аэрозольным распылением.

В настоящее время вместо обычной грануляции используется более современная технология – термопластическая экструзия, специальный технологический процесс, при котором повышается питательность корма. Более доступными для пищеварительных ферментов становятся белки и клетчатка, за счет чего животные нуждаются в меньшем объеме корма.

В качестве подстилочного материала используются древесные опилки (стружка из лиственных сортов деревьев), они обладают множеством достоинств и по праву претендуют на роль идеального наполнителя. Древесные опилки прекрасно впитывают жидкость, хорошо удерживают запахи, являются отличным теплоизолирующим материалом. В последнее время к опилкам добавляется гранулированный древесный наполнитель. Таким образом, для животных, находящихся в эксперименте, создаются все условия, удовлетворяющие их физиологические потребности.

Очень важным моментом при планировании эксперимента на животных является морально обоснованная необходимость использования животных в биомедицинских исследованиях. Все экспериментаторы должны придерживаться принципов разумного использования животных в своих исследованиях и гуманного обращения с ними.

Все исследования на животных, тесно связанные с болью или стрессом, должны проводиться с применением средств седации, анальгезии или проведения анестезии в зависимости от степени причиняемой боли. Исследователи должны понимать, что те процедуры, которые вызывают боль и дистресс у человека, могут вызвать это и у животных.

В случае, если болезненные процедуры должны быть проведены без применения анестетиков, анальгетиков или транквилизаторов, поскольку они могут повлиять на результат эксперимента, то такие эксперименты должны научно обосновываться и утверждаться комиссией по биоэтике института, а также проводится под личным контролем ответственного исполнителя.

При проведении экспериментов следует избегать дистресса и боли у лабораторных животных, не причинять длительного ущерба их здоровью и облегчать страдания. Всякое болевое раздражение вызывает глубокую перестройку многих функций эндокринной и сосудистой систем, что влияет на получаемые в опыте результаты и не учитывается в подавляющем большинстве случаев экспериментаторами. Это является дополнительным основанием для обязательного анестезирования животных перед экспериментом и в процессе при необходимости [16, 17].

На сегодняшний день в экспериментах на лабораторных животных, предусматривающих хирургическое вмешательство, а также сопровождающихся болью и стрессом, используют современные ветеринарные препараты для общей анестезии, такие как золетил («Virbac Sante Animale», Франция), ксила (Interchemie, Нидерланды), аерпан («Baxter Healthcare Corporation», США). Для проведения общего наркоза применяется наркозно-дыхательный ветеринарный аппарат «Zoomed Compact» (Канада) с кислородным концентратором «7F-3L Армед» (Россия).

С целью уменьшения страданий биомоделей, вышедших из опыта, используется установка для эвтаназии животных с применением CO₂ – AE 0904 (Красногорск, Россия) и разрешенный в Российской Федерации препарат для ингаляционного наркоза – хлороформ. CO₂-установка защищает окружающую среду, контролирует время экспозиции биомоделей в атмосфере CO₂. Важнейшей особенностью установки CO₂ является отсутствие увеличения статистического давления, что минимизирует стресс лабораторных животных [18, 19].

Уменьшение количества численности животных в эксперименте является важнейшей задачей в реализации концепции 3«R». Повсеместно проводится линия поведения, направленная на сокращение численности животных в эксперименте за счет замены беспородных животных на более стандартные чистые линии. Это в свою очередь является не только проявлением гуманизма, но и значительно экономит средства.

Одним из альтернативных вариантов лабораторным животным является их замена различными

клеточными линиями. Производство иммунобиологических препаратов на некоторых этапах предусматривает использование большого количества животных. На сегодняшний день успешно ведется совершенствование получения более качественного гетерологического антирабического иммуноглобулина в производстве препарата для профилактики бешенства – антирабических вакцин, полученных путем использования штаммов фиксированного вируса бешенства, репродуцированного на культуре животных клеток. Использование клеточных культур в качестве основной системы для репродукции вирусов вполне обосновано возможностью получать стандартизированный препарат антигена, максимально очищенный, с небольшим числом чужеродных антигенов в виде клеточных компонентов [20, 21].

В реализации этических принципов отношения к лабораторным животным и строгом соблюдении принципов биологической безопасности важным компонентом является профессиональная подготовка сотрудников. Эксперименты на биомоделях должны проводить квалифицированные исследователи, которые знакомы с правилами биоэтики и строго соблюдают правила биологической безопасности. Поэтому профессиональная подготовка, опыт, знание выполнения стандартных операционных процедур, осторожность, внимательность – это те условия для персонала лаборатории, позволяющие уменьшить страдания лабораторных животных.

Таким образом, проведенный анализ показывает, что в институте программа работы с лабораторными животными, зараженными ПБА I–II групп, соответствует требованиям биологической безопасности и нормам этического кодекса, а также международным стандартам биоэтики при работе с биомоделями. Эксперименты на животных проводятся только в тех случаях, когда они направлены на получение новых научных знаний, сохранение и улучшение здоровья человека, а также при проведении мониторинга территории природных очагов особо опасных инфекций, придерживаясь биоэтической концепции 3«R».

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

Список литературы

1. Копаладзе Р.А. Работа с лабораторными животными в контексте биоэтики – история, современность, перспективы. *Успехи физиологических наук*. 2004; 35(2):92–109.
2. Курзанов А.Н. Биоэтические аспекты исследовательской и образовательной деятельности в медицинских НИИ и вузах. *Фундаментальные исследования*. 2009; 2:92–3.
3. Ляпин М.Н., Кутырев В.В. Актуальные проблемы биобезопасности. *Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунологии*. 2013; 1:97–102.
4. Blaine J.W. Establishing a National Biological Laboratory Safety and Security Monitoring Program. *Biosecur. Bioterror*. 2012; 10(4):396–400. DOI: 10.1089/bsp.2012.0054.
5. Онищенко Г.Г., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков В.П., Топорков А.В., Ляпин М.Н., Кутырев В.В. Концептуальные основы биологической безопасности. Часть I. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2013; 68(10):4–13. <https://doi.org/10.15690/vramn.v68i10.781>.
6. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21–1112. Atlanta, GA: CDC;

2009. 360 p.
7. Laboratory Biosafety Guidelines. 3-rd Edition. Canada; 2004. 113 p.
8. Pastorino B., de Lamballerie X., Charrel R. Biosafety and Biosecurity in European Containment Level 3 Laboratories: Focus on French Recent Progress and Essential Requirements. *Front. Public Health*. 2017; 5:121. DOI: 10.3389/fpubh.2017.00121.
9. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В., редакторы. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. М.: Профиль; 2010. 358 с.
10. Каркищенко Н.Н. Основы биомоделирования. М.: ВПК; 2005. 608 с.
11. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington: National Academy Press; 2010. 326 p.
12. Richard D. Ryder. Animal Revolution: Changing Attitudes Towards Speciesism. Berg; 2000. P. 49.
13. Russell W.M.S., Birch R.L. The principles of humane experimental technique. Methuen, London; 1959. 258 p.
14. Курьелина А.Ф., Семакова А.П., Брандзишевский Ю.В. Основы безопасности работы с зараженными животными. *Биозащита и биобезопасность*. 2013; 5(3):23–8.
15. Германчук В.Г., Морозов К.М., Семакова А.П., Шавина Н.Ю. Обеспечение биологической безопасности в лаборатории для работы с зараженными животными. *Здоровье населения и среда обитания*. 2016; 12:44–8.
16. Beetz N., Harrison M.D., Brede M., Zong X., Urbanski M.J., Sietmann A., Kaufling J., Lorkowski S., Barrot M., Seeliger M.W., Vieira-Coelho M.A., Hamet P., Gaudet D., Seda O., Tremblay J., Kotchen T.A., Kaldunski M., Nüsing R., Szabo B., Jacob H.J., Cowley A.W. Jr., Biel M., Stoll M., Lohse M.J., Broeckel U., Hein L. Phosducin influences sympathetic activity and prevents stress-induced hypertension in humans and mice. *J. Clin. Invest*. 2009; 119(12):3597–612. DOI: 10.1172/JCI38433.
17. Borkowski R., Karas A.Z. Sedation and anesthesia of pet rabbits. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 1999; 14(1):44–9. DOI: 10.1016/S1096-2867(99)80026-7.
18. Pavlovic D., Spassov A., Lehmann C. Euthanasia: in defense of a good, ancient word. *J. Clin. Res. Bioeth.* 2011; 2:1. DOI: 10.4172/2155-9627.1000105.
19. Rollin B.E. Annual meeting keynote address: Animal agriculture and emerging social ethics for animals. *J. Anim. Sci.* 2004; 82(3):955–64. DOI: 10.2527/2004.823955x.
20. Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М., Лобовикова О.А., Свинцов Р.А., Комиссаров А.В., Киреев М.Н., Никифоров А.К. Культуральный антиген в технологии получения антирабического иммуноглобулина из сыворотки крови лошади. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 4:65–9. DOI: 10.21055/0307-1069-2012-4-65-69.
21. Ситник Н.П., Загидуллин Н.В., Ибрафиллов А.Г., Еникеева Л.Ф., Мухачева А.В., Шафеева Р.С., Кунцевич Ю.Г., Петрова И.И. Способ получения высокоспецифичной гетерологичной антирабической сыворотки. Патент РФ № 2322503, опубл. 27.08.2008 г. Бюл. № 11.

References

1. Kopaladze R.A. [Work with laboratory animals in the context of bioethics – history, modern times, and prospects]. *Uspekhi Fiziolozhicheskikh Nauk*. 2004; 35(2):92–109.
2. Kurzanov A.N. [Bioethical aspects of scientific and educational activities in medical research and higher educational institutions]. *Fundamental'nye Issledovaniya*. 2009; 2:92–3.
3. Lyapin M.N., Kutyrev V.V. [Relevant issues of biological safety]. *Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii*. 2013; 1:97–102.
4. Blaine J.W. Establishing a National Biological Laboratory Safety and Security Monitoring Program. *Biosecur. Bioterror*. 2012; 10(4):396–400. DOI: 10.1089/bsp.2012.0054.
5. Onishchenko G.G., Smolenskii V.Y., Ezhlova E.B., Demina Y.V., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Lyapin M.N., Kutyrev V.V. Conceptual bases of biological safety. Part 1. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2013; 68(10):4–13. (In Russ.) <https://doi.org/10.15690/vramn.v68i10.781>.
6. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21–1112. Atlanta, GA: CDC; 2009. 360 p.
7. Laboratory Biosafety Guidelines. 3-rd Edition. Canada; 2004. 113 p.
8. Pastorino B., de Lamballerie X., Charrel R. Biosafety and Biosecurity in European Containment Level 3 Laboratories: Focus on French Recent Progress and Essential Requirements. *Front. Public Health*. 2017; 5:121. DOI: 10.3389/fpubh.2017.00121.
9. Karkishchenko N. N., Grachev S.V., editors. [Guidelines on laboratory animals and alternative models in biomedical technologies]. M.: “Profil”; 2010; 358 p.
10. Karkishchenko N. N. [Fundamental Principles of Biomodeling]. M.: “VPK”; 2005. 608 p.

11. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington: National Academy Press; 2010. 326 p.
12. Richard D. Ryder. Animal Revolution: Changing Attitudes Towards Speciesism. Berg; 2000. P. 49.
13. Russell W.M.S., Birch R.L. The principles of humane experimental technique. Methuen, London; 1959. 258 p.
14. Kurylina A.F., Semakova A.P., Brandzishvsky Yu.V. [Fundamental principles of safety work with infected animals]. *Biozashchita i biobezopasnost'*. 2013; 5(3): 23–8.
15. Germanchuk V.G., Morozov K.M., Semakova A.P., Shavina N.Yu. [Provision of biological safety in the laboratories for work with infected animals]. *Zdorov'e naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2016; 12:44–8.
16. Beetz N., Harrison M.D., Brede M., Zong X., Urbanski M.J., Sietmann A., Kaufing J., Lorkowski S., Barrot M., Seeliger M.W., Vieira-Coelho M.A., Hamet P., Gaudet D., Seda O., Tremblay J., Kotchen T.A., Kaldunski M., Nüsing R., Szabo B., Jacob H.J., Cowley A.W. Jr., Biel M., Stoll M., Lohse M.J., Broeckel U., Hein L. Phosducin influences sympathetic activity and prevents stress-induced hypertension in humans and mice. *J. Clin. Invest.* 2009; 119(12):3597–612. DOI: 10.1172/JCI38433.
17. Borkowski R., Karas A.Z. Sedation and anesthesia of pet rabbits. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 1999; 14(1):44–9. DOI: 10.1016/S1096-2867(99)80026-7.
18. Pavlovic D., Spasov A., Lehmann C. Euthanasia: in defense of a good, ancient word. *J. Clin. Res. Bioeth.* 2011; 2:1. DOI:10.4172/2155-9627.1000105.
19. Rollin B.E. Annual meeting keynote address: Animal agriculture and emerging social ethics for animals. *J. Anim. Sci.* 2004; 82(3):955–64. DOI: 10.2527/2004.823955x.
20. Generalov S. V., Abramova E. G., Matveeva Zh. V., Gulidov I. M., Nikiforov A. K., Lobovikova O. A., Svintsov A. R., Razzhivin A. V., Savitskaya L. V., Galkin M. V., Mikheeva T. A., Komissarov A. V., Kireev M. N. [Cultural antigen in the technology for anti-rabies immunoglobulin obtainment from equine blood serum]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; 4:65–9. DOI: 10.21055/0307-1069-2012-4-65-69.
21. Sitnik N.P., Zagidullin N.V., Israfilov A.G., Enikeeva L.F., Mukhacheva A.V., Shafieva R.S., Kuntsevich Yu.G., Petrova I.I. [Method for manufacturing of highly specific heterologous anti-rabies serum]. RF Patent 2322503. International Patent Classification (IPC) S12R 21/00, A61K 39/42. 2008.

Authors:

Germanchuk V.G., Semakova A.P., Shavina N.Yu. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Германчук В.Г., Семакова А.П., Шавина Н.Ю. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Поступила 11.07.18.

Принята к публ. 16.08.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-39-47

УДК 578.2

В.Г. Дедков¹, М.В. Сафонова², Е.В. Найденова³, N.F. Magassouba⁴, А.А. Айгинин⁵, B. Soropogui⁴,
F. Kourouma⁴, A.B. Camara⁴, J. Camara⁴, А.А. Крицкий³, М.Ю. Щелканов⁶, В.В. Малеев⁵

РАЗРАБОТКА И ИСПЫТАНИЕ МЕТОДА ВЫЯВЛЕНИЯ РНК ВИРУСА ЛАССА НА ОСНОВЕ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ С ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПЦИЕЙ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

¹ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ⁴Университет им. Гамаль Абдель Насера, Конакри, Гвинейская Республика; ⁵ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва, Российская Федерация; ⁶Дальневосточный Федеральный университет, Владивосток, Российская Федерация

Цель. Разработка метода выявления и количественного анализа (ОТ-ПЦР в реальном времени) для выявления генетических маркеров вируса Ласса – LASV-FI. **Материалы и методы.** Для работы взяты все доступные в базе данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) последовательности вируса Ласса, которые были выровнены для идентификации консервативных сайтов с использованием программного пакета BioEdit 7.2.5 (IbisBiosciences, США). Для апробации разработанного ПЦР-набора была использована контрольная панель РНК вируса Ласса и псевдовиральных частиц, 27 вирусных штаммов, относящихся к различным семействам, а также 37 образцов сывороток крови от пациентов с лихорадочными заболеваниями, отобранных в лечебных учреждениях Республики Гвинея в 2016–2018 гг. и 55 проб суспензий органов от многососковых мышей. **Результаты и обсуждение.** Аналитическая чувствительность метода варьировала от 10³ до 10⁵ копий/мл и имела 96,4 % диагностическую чувствительность, тогда как аналитическая и диагностическая специфичность составляли 100 %. Показано, что разработанная методика может быть успешно применена на практике для обнаружения вируса Ласса в Гвинейской Республике, с использованием различных типов материала от мелких млекопитающих, включая цельную кровь и суспензии органов *M. natalensis*, а также образцы сывороток крови людей, собранных через 3–7 дней после начала заболевания. Сделано также предположение, что данный метод может быть использован для штаммов вируса Ласса, распространенных не только в Гвинее, но и на других эндемичных территориях, но данный факт необходимо подтвердить в дальнейших исследованиях.

Ключевые слова: вирус Ласса, лихорадка Ласса, ОТ-ПЦР в реальном времени, Гвинейская Республика.

Корреспондирующий автор: Дедков Владимир Георгиевич, e-mail: vgdedkov@yandex.ru.

Для цитирования: Дедков В.Г., Сафонова М.В., Найденова Е.В., Magassouba N.F., Айгинин А.А., Soropogui B., Kourouma F., Camara A.B., Camara J., Крицкий А.А., Щелканов М.Ю., Малеев В.В. Разработка и испытание метода выявления РНК вируса Ласса на основе полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 4:39–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-39-47

V.G. Dedkov¹, M.V. Safonova², E.V. Naidenova³, N.F. Magassouba⁴, A.A. Ayginin⁵, B. Soropogui⁴,
F. Kourouma⁴, A.B. Camara⁴, J. Camara⁴, A.A. Kritsky³, M.Yu. Shchelkanov⁶, V.V. Maleev⁵

Development and Testing of the Method for the Detection of Lassa Virus RNA, Based on Real-Time Polymerase Chain Reaction with Reverse Transcription

¹Saint-Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Saint-Petersburg, Russian Federation; ²Plague Control Center, Moscow, Russian Federation; ³Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation; ⁴Gamal Abdel Naser University, Conakry, Republic of Guinea; ⁵Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation; ⁶Far East Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was the development of a method for the detection and quantitative analysis (real-time RT-PCR) to identify genetic markers of Lassa virus – LASV-FI. **Materials and methods.** We utilized all the available in the GenBank database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) Lassa virus sequences that have been aligned to identify conservative sites applying the BioEdit 7.2.5 software package (IbisBiosciences, USA). To test the developed PCR kit, the control panel of Lassa virus RNA and pseudo-viral particles, 27 viral strains belonging to different families, as well as 37 serum samples from patients with feverish diseases selected in medical institutions of the Republic of Guinea in 2016–2018 and 55 samples of organ suspensions from multi-spiked mice were used. **Results and discussion.** The analytical sensitivity of the method varied from 10³ copies/ml to 10⁵ copies/ml and had 96.4 % diagnostic sensitivity, while the analytical and diagnostic specificity was 100 %. It is shown that the developed technique can be successfully introduced into practice for the detection of Lassa virus in the Republic of Guinea, using various types of material from small mammals, including whole blood and organ suspensions of *M. natalensis*, as well as samples of human blood sera collected 3–7 days after the onset of the disease. It is also suggested that this method can be used for strains of Lassa virus, common not only in Guinea but also in other endemic areas, but this fact must be confirmed in further studies.

Keywords: Lassa virus, Lassa fever, real-time RT-PCR, Republic of Guinea.

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

Corresponding author: Vladimir G. Dedkov, e-mail: vgdedkov@yandex.ru.

Citation: Dedkov V.G., Safonova M.V., Naidenova E.V., Magassouba N.F., Ayginin A.A., Soropogui B., Kourouma F., Camara A.B., Camara J., Kritsky A.A.,

Shchelkanov M.Yu., Maleev V.V. Development and Testing of the Method for the Detection of Lassa Virus RNA, Based on Real-Time Polymerase Chain Reaction with Reverse Transcription. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 4:39–47. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-39-47

Received 03.12.18. Accepted 10.12.18.

Вирус Ласса (LASV) представляет собой одноцепочечный вирус с амбивалентной РНК, принадлежащий к семейству *Arenaviridae*. Известно, что данный возбудитель вызывает у людей острую геморрагическую лихорадку (лихорадка Ласса), которая характеризуется повышением температуры, миалгией, тошнотой, рвотой, болью в груди и брюшной полости [1, 2]. Не является редкостью мягкое проявление лихорадки Ласса и бессимптомное течение инфекции [3, 4]. Естественные хозяева вируса в природе – многососковые мыши (*Mastomys natalensis*). Эти грызуны повсеместно распространены на Африканском континенте [5, 6], но лихорадка Ласса является эндемичной только для стран Западной Африки, включая Нигерию, Сьерра-Леоне, Либерию, Гвинею, Бенин, Мали и Кот-д’Ивуар [3, 7]. Годовая заболеваемость варьирует от 300000 до 500000 случаев, каждый год умирает около 5000 человек [2]. Чаще всего заражение происходит при вдыхании или проглатывании испражнений зараженных грызунов. Болезнь также может развиваться при употреблении в пищу *M. natalensis*, поскольку они являются деликатесом в Западно-Африканском регионе [8]. Сообщалось также о передаче инфекции от человека человеку, особенно в условиях медицинских стационаров [9].

Лихорадка Ласса, учитывая высокую заболеваемость и смертность, является большой проблемой для регионального здравоохранения в Западной Африке. Более того, данная инфекционная болезнь является одной из наиболее частых импортируемых экзотических лихорадок [10], в связи с чем очень важна разработка быстрых и чувствительных методов для выявления ее возбудителя.

Традиционно диагностика лихорадки Ласса осуществляется с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), иммунохроматографическим методом (ИХА) и методом иммуноферментного анализа (ИФА), однако на ранней стадии заболевания ОТ-ПЦР является наиболее эффективной [11]. Таким образом, разработка методов для выявления РНК вируса Ласса – важный этап для улучшения диагностики вызываемого им заболевания, а также для наблюдения и эпидемиологического контроля данной инфекционной болезни [12].

Целью настоящей работы стало создание и испытание одношагового количественного метода, основанного на ОТ-ПЦР в режиме реального времени, для выявления РНК вируса Ласса. Данная методика позволяет выявлять разные генетические варианты возбудителя.

Материалы и методы

Образцы, использованные в исследовании. Образцы цельной крови от *M. natalensis* (20 индиви-

дуальных образцов, 8 пулов из 3 животных), а также сыворотки крови людей (37 образцов) предоставлены для исследования сотрудниками вирусологической лаборатории Университета им. Гамаль Абдель Насера (г. Конакри, Гвинейская Республика). Другая часть биологических образцов (суспензия легкого и селезенки) от *M. natalensis* (27 экземпляров) взята специалистами Российско-Гвинейского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. Сбор материала и подготовку проб проводили в соответствии с общепринятыми методиками.

Вирусную РНК из цельной крови *M. natalensis* экстрагировали с использованием набора QIAmp (Qiagen, Германия) согласно инструкциям производителя. Экстракцию нуклеиновых кислот из остальных образцов проводили с использованием комплекта реагентов для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп» (AmpliSens, Россия).

Идентификация консервативных участков. Для работы были взяты все доступные в базе данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) последовательности вируса Ласса, которые были выровнены для идентификации консервативных сайтов с использованием программного пакета BioEdit 7.2.5 (IbisBiosciences, США). В качестве мишени для амплификации с помощью программы PLOTCON (<http://emboss.bioinformatics.nl/cgi-bin/emboss/plotcon>) выбран фрагмент L-гена размером 119 н.п. (позиция 106-225 в контрольной последовательности вируса Ласса, штамм *Josiah*, JN650518) [13, 14, 15].

Реакционная смесь и режим амплификации. Реакцию ОТ-ПЦР в режиме реального времени проводили в объеме 25 мкл, из которых: 10 мкл – образец выделенной РНК; 0,2 мкМ каждого праймера и зондов (LVL-forw1, LVL-forw2, LVL-rev1, LVL-rev2, LVL-prb1a, lvl-prb1b, lvl-prb1c) и 0,12 мкМ каждого IC-forwA, IC-revA, IC-prbA, 2,5 мкл dNTP; 5 мкл RT-PCRmix2 FEP/FRT; 0,25 мкл обратной транскриптазы MMLV; 0,25 мкл RTG-mix2 и 0,5 мкл полимеразы TaqF. В работе использованы реактивы производства компании «AmpliSens» Россия.

Параметры амплификации следующие: 50 °C в течение 15 мин, 95 °C – 15 мин, а затем 95 °C – 10 с, 55 °C – 20 с – 42 цикла. Флуоресценция наблюдалась при 55 °C. Результаты реакции считались положительными, если был пересечен пороговый уровень флуоресценции.

Для контроля ПЦР и реакции обратной транскрипции сконструированы положительные контрольные образцы (К+) и (ПКО). Для мониторинга экстракции РНК использовали коммерческий внутренний контроль IC-F1 (AmpliSens, Россия). Кроме того, для исключения ложноположительных результатов предусмотрен отрицательный контроль ПЦР

(К-) и отрицательный контроль выделения (ОКО).

Создание положительных контрольных образцов. Фрагмент кДНК (126 п.о.), эквивалентный последовательности L-гена вируса Ласса (штамм *Josiah*), включающий последовательности праймеров и флуоресцентных зондов, получен с использованием ступенчатой амплификации по методике, описанной ранее [16]. Конечный продукт ПЦР очищали с использованием набора для экстракции из геля MinElute (Qiagen, Германия), лигировали в плазмидный вектор pGEM-T (Promega, США) и трансформировали в *Escherichia coli* (штамм XL1-Blue) [17]. Рекombинантные плазмиды из отдельных клонов выделяли с набором PlasmidMiniprep (Axugen, США), ориентацию и отсутствие мутаций в клонированном фрагменте ПЦР определяли секвенированием по методу Сэнгера. Растворенные плазмиды известных концентраций использовали в качестве положительного контроля для оценки эффективности стадии ПЦР.

Та же область кДНК применялась и для получения ПКО на основе ранее описанной процедуры для защищенных псевдовиральных частиц на основе MS2-фага [2] с некоторыми незначительными модификациями [18, 19]. Таким образом, фрагмент ПЦР, содержащий область мишени и дополнительные фланкирующие нуклеотиды, лигировали в линейаризованный плазмидный вектор, содержащий ген белка оболочки MS2. После проверки полученную рекомбинантную плазмиду трансформировали в *E. coli* (штамм B21) и экспрессию белка индуцировали изопропил-L-тио-D-галактопиранозидом (IPTG). После индукции клетки собирали, лизировали, используя способ, включающий обработку лизоцимом и замораживание-оттаивание, обрабатывали ДНКазой I и РНКазой А (Fermentas, США). Затем дериват очищали с помощью центрифугирования в градиенте CsCl, определяли количественно и разбавляли в стабилизирующем растворе (Life Technologies, США). Отсутствие остаточной ДНК в обработанном образце проверяли с использованием разработанного метода ПЦР в реальном времени без стадии обратной транскрипции. Концентрации К+ и ПКО измеряли с помощью системы QX100 с использованием набора PCM Supermix для зондов и одноступенчатого набора ddPCR Supermix для зондов (Bio-Rad, США), специфических праймеров и соответствующих зондов, согласно инструкциям изготовителя.

Внутренний контрольный образец. Для оценки эффективности экстракции РНК к смеси реагентов добавлен экзогенный внутренний контроль IC-FI (AmpliSens, Россия), представляющий искусственную последовательность РНК (150–170 п.о., содержание GC – 50 %), окруженную полученным на основе MS2 фага защитным белковым слоем.

Аналитическая чувствительность. Для проведения работы использовали штамм *Josiah* вируса Ласса. Инактивацию и оценку концентрации вирусных частиц проводили в Центре вирусологии и био-

технологии «Вектор» (Кольцово, Новосибирская область). Защищенные псевдовиральные частицы синтезированы в Центральном научно-исследовательском институте эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва).

Аналитическую чувствительность оценивали с использованием серии 10-кратных разведений псевдовиральных частиц и штамма *Josiah* вируса Ласса, для чего к известным разведениям добавляли интактную человеческую сыворотку до конечного объема 100 мкл, экстрагировали с использованием набора для экстракции «Рибо-преп» (AmpliSens, Россия), а затем проверяли в трех повторах с использованием разработанной методики, чтобы определить стандартные кривые и пределы детекции [20].

Аналитическая специфичность. Потенциальную перекрестную реактивность оценивали с использованием высокотитражных растворов вирусной РНК и ДНК представителей 27 видов вирусов, принадлежащих к 13 семействам, которые входят в коллекцию ЦНИИЭ Роспотребнадзора.

Диагностическая чувствительность и специфичность. Чувствительность и специфичность метода определяли с использованием образцов сыворотки от пациентов с клиническими симптомами лихорадки, которые были определены как Ласса-позитивные (18), а также изучены отрицательные на вирус Ласса образцы (19) и дополнительно образцы цельной крови и тканей от *M. natalensis* (37 положительных и 18 отрицательных).

Статистический анализ. Оценку 95 % доверительного интервала (ДИ) значений аналитической специфичности и диагностической чувствительности оценивали по методике, описанной R. Newcombe и изложенной E.B. Wilson в 1927 г. [21, 22].

Результаты и обсуждение

Лабораторная диагностика лихорадки Ласса осуществляется с использованием вирусологических, иммуносерологических и молекулярно-генетических методов. Вирусный антиген может быть обнаружен с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием специфических антител [23–25]. Однако этот метод имеет относительно низкую чувствительность (от 10^2 до 10^5 ФОЕ/мл) [26]. Эта особенность ограничивает его использование, особенно на ранней стадии заболевания, из-за низкой вирусной нагрузки в биологических жидкостях пациентов. Метод ИФА, основанный на обнаружении специфических антител, также не может быть использован в первые дни после начала заболевания, поскольку значительная концентрация антител класса IgM к возбудителю проявляется через 7–10 дней. Таким образом, метод ОТ-ПЦР наиболее подходит для выявления вируса Ласса в первые дни болезни и является необходимым для быстрой и ранней диагностики из-за высокой чувствительности и простоты реализации [27]. В этой парадигме

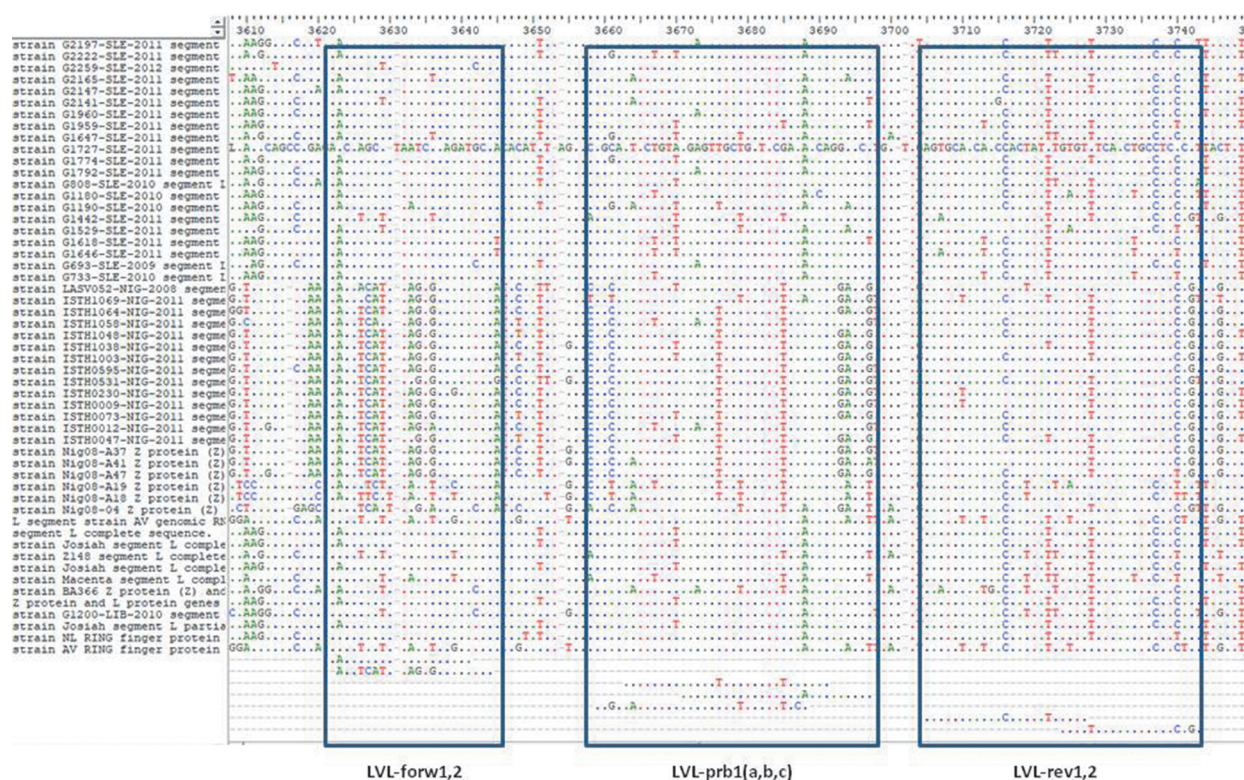


Рис. 1. Частичное выравнивание последовательностей L-гена вируса Ласса, использованных для дизайна праймеров и зондов

Fig. 1. Partial alignment of Lassa L-gene-virus sequences used for primers and probes designing

разработан и оценен ряд ОТ-ПЦР-методов для выявления РНК вируса Ласса. Большинство из них нацелены на S-сегмент, кодирующий предшественник гликопротеина (GPC) и нуклеопротеин (NP) [28, 29]. Это связано с ограниченной информацией о генетических последовательностях вируса Ласса. Однако, как выяснилось в последние годы, некоторые штаммы данного вируса не выявлялись разработанными ОТ-ПЦР методами [30]. По мере появления новой информации о последовательностях S-сегмента стало очевидным, что Ласса является вирусом с высокой генетической изменчивостью, и разработка надежных специфических праймеров и зондов является проблемой [28]. Появление достаточного количества последовательностей L-генов позволило разработать методику, которая могла бы быть более надежной для обнаружения маркеров вируса Ласса, поскольку РНК-полимеразы, которые кодируются L-геном, имеют консервативные аминокислотные мотивы даже между различными представителями семейства аренавирусов [31–33]. За последние десять лет секвенировано множество полных геномов вируса, и практика показала, что L-генные последовательности возбудителя также демонстрируют высокую генетическую изменчивость, даже в пределах одной генетической линии. Таким образом, генетическое разнообразие вируса Ласса является естественной особенностью, которая, скорее всего, будет являться ограничением для использования ОТ-ПЦР в диагностике вызываемого им заболевания.

Множественные выравнивания (рис. 1) вирус-

ных последовательностей, доступных в GenBank, позволили идентифицировать высоко консервативные области, необходимые для дизайна специфических праймеров и соответствующих зондов. На основании данных секвенирования были разработаны и синтезированы олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентные зонды, а также разработан специфический метод для выявления РНК вируса Ласса методом ОТ-ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени. Разработанная методика включала все компоненты, необходимые для проведения реакции, что позволило контролировать все этапы анализа, включая экстракцию РНК, обратную транскрипцию и ПЦР. За счет использования ОКО и К- риск ложноположительных результатов также был сведен к минимуму. Аналитическая чувствительность, оцененная с использованием разведений ПКО, была в диапазоне 10^3 – 10^5 копий/мл, а чувствительность, проверенная со штаммом *Josiah* вируса Ласса, составила 10 ФОЕ/мл (табл. 1, 2). Стандартная детекция была линейной в диапазоне от 10^6 копий/мл (пороговое значение реакции (Ct) составило 25,5–28,1) до $5 \cdot 10^2$ – 10^2 копий/мл (Ct 37,9–38,4) LASVПКО ($R^2 = 0,97$ – $0,99$) (рис. 2). Потенциал перекрестных реакций оценивали с использованием панели образцов высокотитражной РНК/ДНК представителей 27 вирусов. Ни один из образцов не зарегистрирован как положительный (табл. 3). Следовательно, оцененная аналитическая специфичность составила 100 % (85–100 %, при 95 % ДИ).

В общей сложности с использованием разра-

Таблица 1/Table 1

Псевдовирусные частицы, использованные для оценки аналитической чувствительности метода
Pseudo-viral particles utilized for evaluation of analytical sensitivity of the method

Название	Штамм	Номер в GenBank	Источник изоляции	Дата изоляции	Страна	Линия	Предел детекции, копий/мл
LVL1	ISTH-2358-NIG-2012	KM821995	<i>H. sapiens</i>	2012	Nigeria	н.д.	10 ³
LVL2	LASV046-NIG-2009	KM822009	<i>H. sapiens</i>	2009	Nigeria	н.д.	10 ³
LVL3	LASV274-NIG-2010	KM822056	<i>H. sapiens</i>	2010	Nigeria	н.д.	10 ³
LVL4	LASV975-NIG-2009	KM822075	<i>H. sapiens</i>	2009	Nigeria	н.д.	10 ⁴
LVL5	G3151-SLE-2013	KM821893	<i>H. sapiens</i>	2013	Sierra-Leone	IV	5·10 ⁴
LVL6	Josiah	JN650518	<i>H. sapiens</i>	1976	Sierra-Leone	IV	10 ³
LVL7	G3148-SLE-2013	KM821891	<i>H. sapiens</i>	2013	Sierra-Leone	IV	10 ⁵
LVL8	LM765-SLE-2012	KM822116	<i>H. sapiens</i>	2012	Sierra-Leone	IV	10 ⁴

Примечание: н.д. – нет данных.

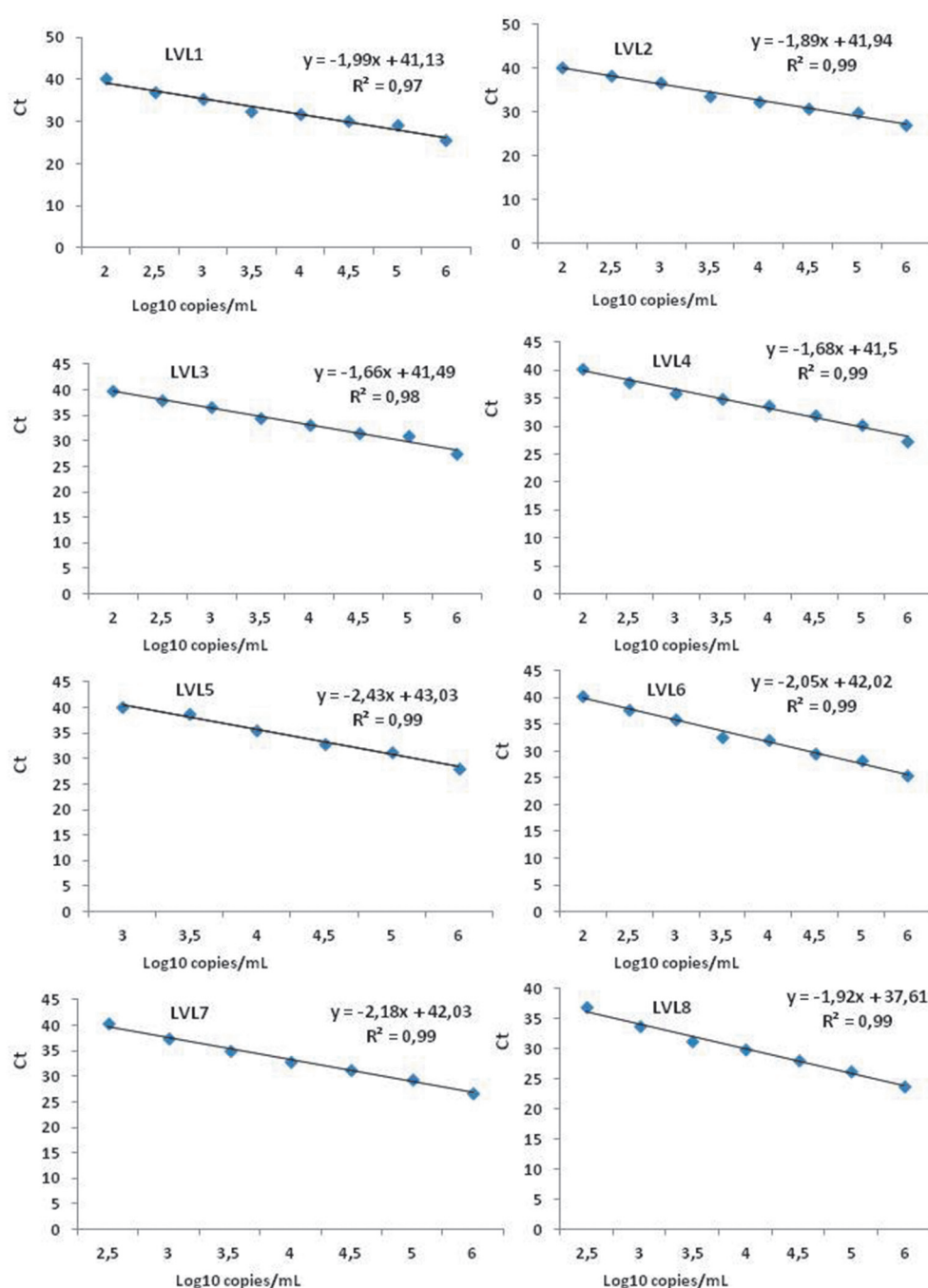


Рис. 2. Оценка аналитической чувствительности разработанного метода с помощью псевдовирусных частиц

Fig. 2. Evaluation of analytical sensitivity of the developed method, using pseudo-viral particles

Таблица 2/Table 2

Аналитическая чувствительность метода, оцененная с помощью разведений штамма *Josiah* вируса Ласса

Analytical sensitivity of the method, assessed using Lassa virus *Josiah* strain solutions

Концентрация, ФОЕ/мл	Повторы		
	Ct	Ct	Ct
10 ⁴	28,2	29,0	28,6
10 ³	32,0	31,9	31,7
10 ²	35,8	36,1	35,9
10 ¹	39,5	39,8	39,1
5	40,4	N/D	N/D

ботанного метода в лаборатории вирусологии геморрагических лихорадок Университета им. Гамаль Абдель Насера (г. Конакри, Гвинея) и Российско-Гвинейском центре эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней (Киндия, Гвинея) проведено исследование 92 биологических образцов, причем 53 образца детектированы как положительные и 38 – как отрицательные (табл. 4, 5). Значения Ct

положительных образцов находились в диапазоне 21,9–39,2 циклов. Таким образом, диагностическая чувствительность разработанного метода выявления РНК вируса Ласса составляла 86–99 %, при 95 % ДИ, а диагностическая специфичность – 100 %.

Таким образом, разработанная методика успешно применялась на практике для обнаружения вируса Ласса в Гвинейской Республике, используя различные типы материала от мелких млекопитающих, включая цельную кровь и суспензии органов *M. natalensis*, а также образцы сывороток крови людей, собранных через 3–7 дней после начала заболевания. Сделано предположение, что данный метод может быть использован для штаммов вируса Ласса, распространенных не только в Гвинее, но и на других эндемичных территориях, но данный факт необходимо подтвердить в дальнейших исследованиях.

Исследование выполнялось в рамках Распоряжения Правительства РФ от 22 декабря 2017 г. № 2904-р о Российско-Гвинейском научно-техническом сотрудничестве в области эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных

Таблица 3/Table 3

Виды вирусов, использованных для оценки аналитической специфичности

Types of viruses used for analytical specificity evaluation

Вирус	Акроним	Семейство	Род	Тип нуклеиновой кислоты
<i>Zaireebolavirus</i>	EBOV	<i>Filoviridae</i>	<i>Ebolavirus</i>	РНК
<i>Sudanebolavirus</i>	SUDV	<i>Filoviridae</i>	<i>Ebolavirus</i>	РНК
<i>Marburgvirus</i>	MARV	<i>Filoviridae</i>	<i>Marburgvirus</i>	РНК
<i>Tahynavirus</i>	TAHV	<i>Peribunyaviridae</i>	<i>Orthobunyavirus</i>	РНК
<i>Bataivirus</i>	BATV	<i>Peribunyaviridae</i>	<i>Orthobunyavirus</i>	РНК
<i>Inkoovirus</i>	INKV	<i>Peribunyaviridae</i>	<i>Orthobunyavirus</i>	РНК
<i>Crimean-Congo hemorrhagic fever virus</i>	CCHFV	<i>Nairoviridae</i>	<i>Orthonairovirus</i>	РНК
<i>Dhorivirus</i>	DHOV	<i>Orthomyxoviridae</i>	<i>Thogotovirus</i>	РНК
<i>FluA/H1N3</i>	FLUAV(H1N3)	<i>Orthomyxoviridae</i>	<i>Influenzavirus A</i>	РНК
<i>FluA/H3N2</i>	FLUAV(H3N2)	<i>Orthomyxoviridae</i>	<i>Influenzavirus A</i>	РНК
<i>FluB</i>	FLUBV	<i>Orthomyxoviridae</i>	<i>Influenzavirus B</i>	РНК
<i>Yellowfevervirus</i>	YFV	<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	РНК
<i>WestNilevirus</i>	WNV	<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	РНК
<i>Zikavirus</i>	ZIKV	<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	РНК
<i>Tickborneencephalitisvirus</i>	TBEV	<i>Flaviviridae</i>	<i>Flavivirus</i>	РНК
<i>Sindbisvirus</i>	SNDBV	<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	РНК
<i>Chikungunyavirus</i>	CHIKV	<i>Togaviridae</i>	<i>Alphavirus</i>	РНК
<i>Rubellavirus</i>	RUBV	<i>Togaviridae</i>	<i>Rubivirus</i>	РНК
<i>Kemerovovirus, strain 21/10</i>	KEMV-21/10	<i>Reoviridae</i>	<i>Orbivirus</i>	РНК
<i>Tribecvirus, strain Tr19</i>	TRBV-Tr19	<i>Reoviridae</i>	<i>Orbivirus</i>	РНК
<i>HumanRotavirus A</i>	RVA	<i>Reoviridae</i>	<i>Rotavirus</i>	РНК
<i>Enteric Cytopathic Human Orphanvirus 11</i>	ECHO11	<i>Picornaviridae</i>	<i>Enterovirus</i>	РНК
<i>Humanimmunodeficiencyvirus 1</i>	HIV-1	<i>Retroviridae</i>	<i>Lentivirus</i>	РНК
<i>Rabiesvirus</i>	RABV	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Lyssavirus</i>	РНК
<i>HumanCytomegalovirus 5</i>	HCMV-5	<i>Herpesviridae</i>	<i>Cytomegalovirus</i>	ДНК
<i>Humanparvovirus B19</i>	B19	<i>Parvoviridae</i>	<i>Erythroparvovirus</i>	ДНК
<i>Middle East respiratory syndrome coronavirus</i>	MERS	<i>Coronaviridae</i>	<i>Betacoronavirus</i>	РНК

Таблица 4/Table 4

 Образцы биологического материала от *M. natalensis*, использованные для оценки диагностической чувствительности

 Biological samples from *M. natalensis*, used for evaluation of diagnostic sensitivity

ID	Источник	Регион	Тип образца	Ct	Результаты предыдущих исследований
21	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	39,1	положительный
38	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	35,6	положительный
39	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	33,4	положительный
40	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	38,9	положительный
44	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	36,4	положительный
50	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	29,7	положительный
81	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	33,3	положительный
110	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	32,9	положительный
Pool2	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	35,9	положительный
103	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	положительный
104	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	отрицательный
105	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	отрицательный
161	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	32,4	положительный
163	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	отрицательный
173	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	отрицательный
174	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	38,0	положительный
175	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	отрицательный
104dl	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	отрицательный
195	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	отрицательный
106	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	34,8	положительный
108	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	отрицательный
109	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	положительный
111	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	отрицательный	отрицательный
107	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	37,2	положительный
99	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	25,4	положительный
63	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	28,0	положительный
65	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	37,2	положительный
94	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Цельная кровь	33,0	положительный
11276	<i>M. natalensis</i>	Mamou	Суспензия органов	22,6	положительный
11102	<i>M. natalensis</i>	Mamou	Суспензия органов	25,2	положительный
11309	<i>M. natalensis</i>	Mamou	Суспензия органов	24,6	положительный
11092	<i>M. natalensis</i>	Mamou	Суспензия органов	21,8	положительный
11095	<i>M. natalensis</i>	Mamou	Суспензия органов	24,7	положительный
11087	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Суспензия органов	24,2	положительный
11269	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Суспензия органов	27,4	положительный
11098	<i>M. natalensis</i>	Faranah	Суспензия органов	22,7	положительный
12356	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	24,9	положительный
13251	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	отрицательный	отрицательный
13252	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	25,0	положительный
13253	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	26,3	положительный
13254	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	отрицательный	отрицательный
13255	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	23,5	положительный
13256	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	21,9	положительный
13257	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	отрицательный	отрицательный
13258	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	25,1	положительный
13259	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	отрицательный	отрицательный
13260	<i>M. natalensis</i>	Macenta	Суспензия органов	25,7	положительный
13261	<i>M. natalensis</i>	Nzerekore	Суспензия органов	25,2	положительный
13262	<i>M. natalensis</i>	Nzerekore	Суспензия органов	отрицательный	отрицательный
13263	<i>M. natalensis</i>	Nzerekore	Суспензия органов	отрицательный	отрицательный
13283	<i>M. natalensis</i>	Nzerekore	Суспензия органов	отрицательный	отрицательный
13284	<i>M. natalensis</i>	Nzerekore	Суспензия органов	отрицательный	отрицательный
13285	<i>M. natalensis</i>	Nzerekore	Суспензия органов	отрицательный	отрицательный
13280	<i>M. natalensis</i>	Nzerekore	Суспензия органов	26,5	положительный
13286	<i>M. natalensis</i>	Nzerekore	Суспензия органов	24,7	положительный

Таблица 5/Table 5

Образцы сывороток крови людей, использованные для оценки аналитической чувствительности метода

Human blood sera samples used for evaluation of analytical sensitivity of the method

ID	Пол	Возраст	Регион	День от начала заболевания	Ct	Подтверждение
2136	F	40	Kankan	4	28,3	положительный
2137	M	60	Kankan	3	35,4	положительный
2140	M	60	Kankan	5	31,8	положительный
2143	F	42	Kankan	5	25,6	положительный
2144	F	61	Kankan	4	33,0	положительный
3334	M	56	Nzerekore	6	отрицательный	отрицательный
3335	M	36	Nzerekore	7	отрицательный	отрицательный
3336	M	36	Nzerekore	10	39,2	положительный
3337	F	61	Nzerekore	4	34,2	положительный
3338	M	40	Nzerekore	6	отрицательный	отрицательный
3339	M	55	Nzerekore	2	36,9	положительный
3340	M	28	Nzerekore	5	отрицательный	отрицательный
3341	M	28	Nzerekore	6	отрицательный	отрицательный
3342	F	7	Mamou	4	28,3	положительный
3343	M	60	Mamou	3	30,8	положительный
3344	M	7	Mamou	5	27,6	положительный
3345	F	7	Mamou	6	24,3	положительный
3346	M	11	Mamou	7	отрицательный	отрицательный
3347	M	39	Kindia	8	отрицательный	отрицательный
3348	M	32	Kindia	4	отрицательный	отрицательный
3349	M	39	Kindia	3	отрицательный	отрицательный
3350	F	36	Mamou	7	отрицательный	отрицательный
3351	F	25	Kankan	10	38,9	положительный
3352	F	n/a	Kankan	3	отрицательный	отрицательный
3358	M	18	Faranah	5	25,9	положительный
3367	M	23	Faranah	4	36,4	положительный
3369	M	43	Faranah	3	28,6	положительный
3372	M	24	Faranah	5	отрицательный	отрицательный
3373	M	15	Faranah	3	отрицательный	отрицательный
3375	M	23	Faranah	5	27,9	положительный
3378	F	n/a	Faranah	6	26,2	положительный
3391	M	n/a	Faranah	8	отрицательный	отрицательный
3392	M	n/a	Mamou	6	отрицательный	отрицательный
3394	F	26	Mamou	9	отрицательный	отрицательный
3396	F	35	Mamou	11	отрицательный	отрицательный
3398	M	37	Mamou	4	отрицательный	отрицательный
3400	M	41	Mamou	5	отрицательный	отрицательный

и вирусных инфекций в Гвинейской Республике (2018–2020 гг.).

Благодарности. Авторский коллектив выражает свою благодарность Е. Фишет-Кальвет (Институт тропической медицины им. Бернхарда Нохта, Гамбург, Германия) за предоставление данных и образцов, вошедших в исследование.

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

Список литературы / References

1. Virus taxonomy: the classification and nomenclature of viruses: the online (10th) report of the ICTV. [Internet]. (cited 03 Oct 2018). Available from: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/.
2. Ogbu O., Ajuluchukwu E., Uneke C.J. Lassa fever in West African sub-region: an overview. *J. Vector Borne Dis.* 2007; 44(1):1–11. PMID: 17378212.
3. Safronetz D., Lopez J.E., Sogoba N., Traore S.F., Raffel S.J., Fischer E.R., Ebihara H., Branco L., Garry R.F., Schwan T.G., Feldmann H. Detection of Lassa virus, Mali. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(7):1123–6. DOI: 10.3201/eid1607.100146.
4. Ajayi N.A., Nwigwe C.G., Azuogu B.N., Onyire B.N., Nwonwu E.U., Ogbonnaya L.U., Onwe F.I., Ekaete T., Günther

- S., Ukwaja K.N. Containing a Lassa fever epidemic in a resource-limited setting: outbreak description and lessons learned from Abakaliki, Nigeria (January–March 2012). *Int. J. Infect. Dis.* 2013; 17(11):e1011–6. DOI: 10.1016/j.ijid.2013.05.015.
5. Keenlyside R.A., McCormick J.B., Webb P.A., Smith E., Elliott L., Johnson K.M. Case-control study of *Mastomys natalensis* and humans in Lassa virus-infected households in Sierra Leone. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1983; 32: 829–37.
6. Monath T.P., Newhouse V.F., Kemp G.E., Setzer H.W., Cacciapuoti A. Lassa virus isolation from *Mastomys natalensis* rodents during an epidemic in Sierra Leone. *Science*. 1974; 185:263–5. PMID: 4833828.
7. Safronetz D., Sogoba N., Lopez J.E., Maiga O., Dahlstrom E., Zivcec M., Feldmann F., Haddock E., Fischer R.J., Anderson J.M., Munster V.J., Branco L., Garry R., Porcella S.F., Schwan T.G., Feldmann H. Geographic distribution and genetic characterization of Lassa virus in sub-Saharan Mali. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(12):e2582. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002582.
8. Richmond J.K., Baglote D.J. Lassa fever: epidemiology, clinical features, and social consequences. *BMJ*. 2003; 327(7426):1271–5. DOI: 10.1136/bmj.327.7426.1271.
9. Monath T.P., Mertens P.E., Patton R., Moser C.R., Baum J.J., Pinneo L., Gary G.W., Kissling R.E. A hospital epidemic of Lassa fever in Zorvor, Liberia, March–April 1972. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1973; 22(6):773–9. DOI: 10.4269/ajtmh.1973.22.773.
10. Macher A.M., Wolfe M.S. Historical Lassa fever reports and 30-year clinical update. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12:835–7. DOI: 10.3201/eid1205.050052.
11. Asogun D.A., Adomeh D.I., Ehimuan J., Odia I., Hass M., Gabriel M., Olschlager S., Becker-Ziaja B., Folarin O., Phelan E., Ehiane P.E., Ifeh V.E., Uyigwe E.A., Oladapo Y.T., Muebonam E.B., Osunde O., Dongo A., Okokhere P.O., Okogbenin S.A., Momoh M., Alikah S.O., Akhuemokhan O.C., Imomoh P., Odike M.A., Gire S., Andersen K., Sabeti P.C., Happt C.T., Akpede G.O., Günther S. Molecular diagnostics for Lassa fever at Irrua specialist teaching hospital, Nigeria: lessons learnt from two years of laboratory operation. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(9):e1839. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001839.
12. Olschlager S., Lelke M., Emmerich P., Panning M., Drosten C., Hass M., Asogun D., Ehichioya D., Oladapo Y.T., Günther S. Improved Detection of Lassa Virus by Reverse Transcription-PCR Targeting the 5' Region of S RNA. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(6):2009–13. DOI: 10.1128/JCM.02351-09.
13. Tyagi S., Kramer F.R. Molecular beacons: probes that fluoresce upon hybridization. *Nat Biotechnol.* 1996; 14:303–8. DOI: 10.1038/nbt0396-303.
14. Van Pelt-Verkuil E., van Belkum A., Hays J.P. Principles and technical aspects of PCR amplification. NY: Springer Science; 2008. 332 p. DOI: 10.1007/978-1-4020-6241-4.
15. Kibbe W.A. OligoCalc: an online oligonucleotide properties calculator. *Nucleic Acids Res.* 2007; 35(Suppl. 2):W43–46. DOI: 10.1093/nar/gkm234.
16. Dedkov V.G., Magassouba N.F., Safonova M.V., et al. 2016. Development and evaluation of a real-time RT-PCR assay for the detection of Ebola virus (Zaire) during an Ebola outbreak in Guinea in 2014–2015. *J. Virol. Methods*. 2016; 228:26–30. DOI:10.1016/j.jviromet.2015.11.007.
17. Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J. Molecular cloning, a laboratory manual. Cold Spring Harbor laboratory. 2-ed. Cold Spring Harbor Lab. Press; 1989. 1885 p.
18. Cheng Y., Niu J., Zhang Y., Huang J., Li Q. Preparation of his-tagged armored RNA phage particles as a control for real-time reverse transcription-PCR detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44(10):3557–61. DOI: 10.1128/JCM.00713-06.
19. Pasloske B.L., Walkerpeach C.R., Obermoeller R.D., Winkler M., Du Bois D.B. Armored RNA technology for production of ribonuclease-resistant viral RNA controls and standards. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36(12):3590–4. PMID: 9817878.
20. Cherpillod P., Schibler M., Vieille G., Cordey S., Mamin A., Vetter P., Kaiser L. Ebola virus disease diagnosis by real-time RT-PCR: a comparative study of 11 different procedures. *J. Clin. Virol.* 2016; (77):9–14. DOI: 10.1016/j.jcv.2016.01.017.
21. Newcombe R.G. Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods. *Statistics in Medicine*. 1998; 17:857–72.
22. Wilson E.B. Probable Inference, the Law of Succession, and Statistical Inference. *Journal of the American Statistical Association*. 1927; 22:209–12. DOI: 10.1080/01621459.1927.10502953.
23. Bausch D.G., Rollin P.E., Demby A.H., Coulbaly M., Kanu J., Conteh A.S., Wagoner K.D., McMullan L.K., Bowen M.D., Peters C.J., Ksiazek T.G. Diagnosis and clinical virology of Lassa fever as evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay, indirect fluorescent-antibody test, and virus isolation. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38(7):2670–77.
24. Niklasson B.S., Jahrling P.B., Peters C.J. Detection of Lassa virus antigens and Lassa-virus-specific immunoglobulins G and M by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Clin. Microbiol.* 1984; 20(2):239–44. PMID: 6386846.
25. Jahrling P.B., Niklasson B.S., McCormick J.B. Early diagnosis of human Lassa fever by ELISA detection of antigen and antibody. *Lancet*. 1985; 1(8423):250–2. PMID: 2857321.
26. Günther S., Lenz O. Lassa Virus. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2004; 41(4):339–90. DOI: 10.1080/10408360490497456.
27. Drosten C., Götting S., Schilling S., Asper M., Panning M., Schmitz H., Günther S. Rapid detection and quantification of RNA of Ebola and Marburg viruses, Lassa virus, Crimean–Congo hemorrhagic fever virus, Rift valley fever virus, dengue virus, and yellow fever virus by real-time reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40:2323–30. DOI: 10.1128/JCM.40.7.2323-2330.2002.
28. Trappier S.G., Conaty A.L., Farrar B.B., Auperin D.D., McCormick J.B., Fisher-Hoch S.P. Evaluation of the polymerase chain reaction for diagnosis of Lassa virus infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1993; 49(2):214–21. PMID: 8357084.
29. Demby A.H., Chamberlain J., Brown D.W., Clegg C.S. Early diagnosis of Lassa fever by reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32:2898–903. PMID: 7883875.
30. Trombley A.R., Wachter L., Garrison J., Buckley-Beason V.A., Jahrling J., Hensley L.E., Schoep R.J., Norwood D.A., Goba A., Fair J.N., Kulesh D.A. Comprehensive Panel of Real-Time TaqMan™ Polymerase Chain Reaction Assays for Detection and Absolute Quantification of Filoviruses, Arenaviruses, and New World Hantaviruses. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2010; 82(5):954–60. DOI: 10.4269/ajtmh.2010.09-0636.
31. Bowen M.D., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Hustad H.L., Bausch D.G., Demby A.H., Bajani M.D., Peters C.J., Nichol S.T. Genetic Diversity among Lassa Virus Strains. *J. Virol.* 2000; 74(15):6992–7004. PMID: 10888638.
32. Poch O., Blumberg B.M., Bougueleret L., Tordo N. Sequence comparison of five polymerases (L proteins) of unsegmented negative-strand RNA viruses: Theoretical assignment of functional domains. *J. Gen. Virol.* 1990; 71:1153–62. DOI: 10.1099/0022-1317-71-5-1153.
33. Poch O., Sauvaget I., Delarue M., Tordo N. Identification of four conserved motifs among the RNA-dependent polymerase encoding elements. *EMBO J.* 1989; 8:3867–74.

Authors:

Dedkov V.G. Saint-Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 14, Mira St., Saint-Petersburg, 197101, Russian Federation.

Safonova M.V. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nln.ru.

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

Magassouba N.F., Soropogui B., Kourouma F., Camara A.B., Camara J. Gamal Abdel Nasser University. Conakry, Republic of Guinea.

Ayginin A.A., Maleev V.V. Central Research Institute of Epidemiology. 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation. E-mail: cri@pcr.ru.

Shchelkanov M.Yu. Far East Federal University. Vladivostok, Russian Federation.

Об авторах:

Дедков В.Г. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера. Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14. E-mail: vgdedkov@yandex.ru

Сафонова М.В. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nln.ru.

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

Magassouba N.F., Soropogui B., Kourouma F., Camara A.B., Camara J. Университет им. Гамаль Абдель Насера. Гвинейская Республика, Конакри.

Айгинин А.А., Малеев В.В. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а. E-mail: cri@pcr.ru.

Шелканов М.Ю. Дальневосточный Федеральный университет. Российская Федерация, Владивосток.

Поступила 02.12.18.

Принята к публ. 10.12.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-48-53

УДК 616.98:579.842.23(479)

В.М. Дубянский¹, С.И. Матюхин², Ю.М. Евченко¹**ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ ТЕОРИИ ВЕРОЯТНОСТИ ДЛЯ ПЛАНИРОВАНИЯ ПЛОЩАДИ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО ОБСЛЕДОВАНИЯ ЦЕНТРАЛЬНО-КАВКАЗСКОГО ВЫСОКОГОРНОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ**¹ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация;²Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, Российская Федерация

Цель. Предложить на основе вероятностного подхода научно обоснованный критерий исключения части очаговой территории из обследования и, соответственно, из состава очага. **Материалы и методы.** Данные по эпизоотологическому обследованию Центрально-Кавказского природного высокогорного очага чумы с 1987 по 2013 год (28 лет). Для каждого сектора первичного района в очаге посчитана кратность обследования и кратность регистрации эпизоотий. Для статистической обработки использовались непараметрические методы: коэффициент ранговой корреляции Спирмена, квантильный анализ и некоторые понятия теории вероятности. **Результаты и обсуждение.** На примере Центрально-Кавказского природного высокогорного очага чумы представлен метод расчета вероятности появления эпизоотий в секторах очага. Предложен математически обоснованный критерий исключения сектора из очаговой территории. Представлен алгоритм исключения секторов первичных районов из плана обследования при разных уровнях значимости. Ранжирование очага по вероятности выявления эпизоотии в секторе и вероятности обследования сектора может быть использовано, наряду с индексом эпизоотичности, при планировании эпизоотологического обследования очаговой территории.

Ключевые слова: природный очаг чумы, эпизоотии, сектора первичных районов, кратность обследования, вероятность.

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

Для цитирования: Дубянский В.М., Матюхин С.И., Евченко Ю.М. Применение методов теории вероятности для планирования площади эпизоотологического обследования Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 4:48–53. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-48-53

V.M. Dubyansky¹, S.I. Matyukhin², Yu.M. Evchenko¹**Application of the Probability Theory Methods for Scheming the Area of Epizootiological Survey of the Central-Caucasian High-Mountain Natural Plague Focus**¹Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation; ²I.S. Turgenev Orel State University, Orel, Russian Federation

Abstract. It is known that territories of nature plague foci are non-equal by the degree of epizootic situation tension. There are locations (sectors of primary regions) where plague has not been registered or has been registered rarely during all the time of surveillance. In this connection, it is necessary to reestablish the borders of plague focus territory for excluding the sectors without plague manifestations or the areas where plague occurs periodically. However, mathematically reliable criteria to substantiate such decisions are currently unknown to the authors. **Objective** was to propose evidence-based criteria for the exclusion of certain areas from plague focus territory using probabilistic approach. **Material and methods.** Surveillance data on Central-Caucasian natural plague focus for the period of 28 years (1987–2013) were used. For each sector of primary zoning in the focus a multiplicity of surveillances and multiplicity of plague epizooty reports was calculated. Some nonparametric techniques (Spearman correlation, quantile analysis) and concepts of probability theory were used for statistical processing. **Results and discussion.** By the example of Central-Caucasian high-mountain natural plague focus, the method for probability calculation for manifestations of epizooties in the sectors of plague focus is put forward. The evidence-based criteria for the exclusion of certain areas from plague focus territory using probabilistic approach are proposed. Algorithm for excluding the sectors of primary zoning from the surveillance scheme taking into account different levels of significance is presented. The ranking of the focus by the probability of epizooty detection in a sector and probability of surveillance can be utilized alongside the index of frequency of epizooties when planning epizootiological survey of the focal territory.

Key words: natural plague focus, epizooties, multiplicity of surveillance, probability, sectors of primary zoning.

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

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

Citation: Dubyansky V.M., Matyukhin S.I., Evchenko Yu.M. Application of the Probability Theory Methods for Scheming the Area of Epizootiological Survey of the Central-Caucasian High-Mountain Natural Plague Focus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 4:48–53. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-48-53

Received 28.06.18. Accepted 16.08.18.

Известно, что территории природных очагов чумы не равноценны по степени напряженности эпизоотической ситуации. Существуют участки (сектора

первичных районов), где за все время обследования очага эпизоотии чумы либо не регистрировались, либо регистрировались очень редко. При этом в этих

секторах циклически отмечаются носители и переносчики возбудителя чумы. Соответственно, периодически возникает необходимость в ревизии границ очаговой территории с исключением потенциально неочаговых секторов. Однако математически выверенные критерии обоснованности таких решений в настоящее время авторам не известны.

Широко используемый в практике работы противочумных учреждений индекс эпизоотичности (ИЭ) не является достаточно корректным показателем, так как при эпизоотологическом обследовании на чуму не соблюдается главное требование его применения: равномерное по времени, с одинаковой кратностью обследование всех секторов первичных районов в очаге [1]. Нельзя сопоставлять, например, индекс эпизоотичности сектора, обследованного 2–3 раза, с индексом эпизоотичности сектора, обследованного 50–100 раз. Нет возможности математически корректно, т.е. доказательно, ответить на вопрос: если ИЭ сектора за все время обследования очага равен нулю, можно ли считать сектор неэпизоотичным? Поэтому разработка методики вывода очаговой территории из обследования является актуальной задачей.

Цель настоящего исследования – предложить на основе вероятностного подхода научно обоснованный критерий исключения части очаговой территории из обследования и, соответственно, из состава очага.

Для достижения этой цели последовательно решались следующие задачи:

- определение вероятности выявления эпизоотии чумы при каждом последующем обследовании сектора;
- определение по результатам проведенных обследований вероятности возникновения эпизоотии в секторе;
- определение кратности обследования сектора, при котором возможна его выбраковка из обследования в случае, если чума не выявлялась в секторе ни разу за все время обследования или не выявлялась на протяжении долгого периода.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили данные по обследованию Центрально-Кавказского природного высокогорного очага чумы с 1987 по 2013 год (28 лет). За этот период для каждого сектора первичного района в очаге посчитана кратность обследования и кратность регистрации эпизоотий. Кратность подсчитывалась, исходя из того, что интервал между забором полевого материала в секторе составлял не менее месяца, то есть сектор мог быть обследован неоднократно в течение года.

В связи с тем, что характер распределения кратности обследования секторов отличается от нормального, для расчета использовались непараметрические методы, в данном случае коэффициент ранговой корреляции Спирмена и квантильный анализ.

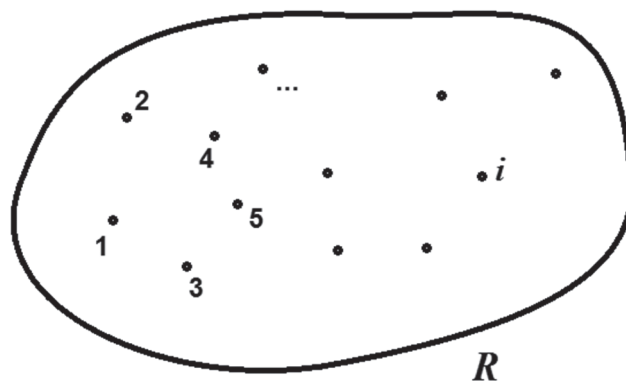
Условно считалось, что события «обследование сектора первичного района» и «выявление эпизоотии чумы» являются случайными. Приближение случайности обследований секторов, в понятиях теории вероятности, является достаточно оправданным, поскольку выбор сектора обследования в реальности определяется большим количеством разноплановых факторов.

Результаты и обсуждение

Проведенные ранее исследования в Прибалхашском автономном очаге чумы показали, что достоверность выявления эпизоотии чумы в секторе первичного района связано с интенсивностью его обследования [2]. Этот факт подтвердился и для Центрально-Кавказского высокогорного природного очага. Между кратностью регистрации эпизоотий чумы в секторе и кратностью обследования сектора наблюдается достоверная корреляционная связь (коэффициент ранговой корреляции Спирмена $r = 0,685$ при $p < 0,05$). Однако характер связи достаточно сложный. Существует ряд секторов, в которых эпизоотия не обнаруживается даже при многократном обследовании или обнаруживается в единичных случаях. Наблюдаются и противоположные ситуации: эпизоотии выявляются при редких обследованиях.

Для корректного описания этих наблюдательных данных в настоящей работе мы использовали вероятностный подход к решению поставленных задач.

Допустим, что в этих задачах речь идет о точках (секторах) обследования, расположенных в некоторой области R (рисунок). Допустим, что эти точки статистически независимы, т.е. между рассматриваемыми в этих точках случайными процессами нет никакой закономерной связи, а все вероятности, о которых будет идти речь, не зависят от времени. Таким образом, мы будем решать стационарную задачу, в которой исследования, проведенные в разные (случайные) моменты времени, без ущерба для конечного решения можно заменить одномоментными исследованиями в разных (случайных) точках области R .



Точки (секторы) эпизоотологического обследования на чуму природного очага R

Points (sectors) of epizootiological surveillance for plague of the natural focus R

В этом случае вероятность выявления эпизоотии в области R

$$P_R = \frac{n_R}{N_R} = \frac{276}{942} = 0,29, \quad (1)$$

где n_R – кратность выявления эпизоотии в области R; N_R – кратность обследования области R; i – номер точки; n_i – кратность выявления эпизоотии в точке i ; N_i – кратность обследования точки с номером i (таблица):

$$n_R = \sum_i n_i, \quad N_R = \sum_i N_i.$$

Благодаря статистической независимости секторов обследования эту вероятность можно представить в виде:

$$P_R = \sum_i P_i.$$

$$P_R = \frac{\sum_i n_i}{N_R} = \sum_i \frac{n_i}{N_R}, \quad (2)$$

где P_i – это вероятность выявления эпизоотии в точке с номером i :

$$P_i = \frac{n_i}{N_R}. \quad (3)$$

Эта формула позволяет заполнить столбец 7 в таблице: $P_1 = 3/942 = 0,003$; $P_2 = 44/942 = 0,047$; $P_3 = 1/942 = 0,001$ и т.д.

В плане предсказания эта формула означает, что при следующем обследовании области R в точке 1 эпизоотия будет выявлена с вероятностью P_1 , в точке 2 – с вероятностью P_2 , в точке 3 – с вероятностью P_3 и т.д.

Следует отметить, что случайное событие выявления эпизоотии в точке i можно рассматривать как одновременную реализацию двух независимых случайных событий – случайного события возникновения эпизоотии чумы в точке i и случайного события обследования этой точки. Вследствие этого вероятность P_i можно представить в виде произведения двух вероятностей – вероятности возникновения эпизоотии v_i и вероятности обследования точки Ω_i :

$$P_i = \frac{n_i}{N_R} = \frac{n_i}{N_i} \frac{N_i}{N_R} = v_i \Omega_i. \quad (4)$$

Отсюда

$$v_i = \frac{n_i}{N_i}, \quad (5)$$

$$\Omega_i = \frac{N_i}{N_R}. \quad (6)$$

Значения v_i и Ω_i , рассчитанные по формулам (5) и (6), представлены в четвертом и пятом столбцах таблицы.

Отметим, что v_i , по сути, представляет собой ИЭ сектора с номером i .

Следует уточнить, что в каждой из точек (секторов) области R эпизоотия может протекать или не протекать. В этом смысле v_i – это вероятность появления чумы в точке i независимо от того, появилась чума в других точках или нет, и обследовалась какая-либо точка этой области или нет. При этом вероятность Ω_i представляет собой функцию распределения обследований области R по секторам. Другими словами, предполагается, что система обследований устроена таким образом, что если она не изменится, следующее обследование будет проведено в точке 1 с вероятностью Ω_1 , в точке 2 – с вероятностью Ω_2 , в точке 3 – с вероятностью Ω_3 и т.д.

Аналогично можно поставить вопрос о распределении случаев эпизоотии чумы по секторам области R. Это распределение будет задаваться вероятностью появления чумы в одной из точек Φ_i (шестой столбец таблицы):

$$\Phi_i = \frac{n_i}{n_R}. \quad (7)$$

Смысл этой формулы заключается в том, что если в следующий раз в области R будет протекать эпизоотия чумы, то с вероятностью Φ_1 это произойдет в точке (секторе) 1, с вероятностью Φ_2 – в точке 2, с вероятностью Φ_3 – в точке 3 и т.д.

Таким образом, если $\Phi_k = 0$, при следующем выявлении эпизоотии в области R в точке с номером k эпизоотии чумы не будет, а следовательно, она и не будет выявлена. При этом, исходя из смысла вероятности Ω_i , можно утверждать, что сделанный вывод справедлив с вероятностью Ω_k . В частности, для сектора 0123801313 это справедливо с вероятностью 0,8 %, для сектора 0123801314 – с вероятностью 1,2 %, для сектора 0123801321 – с вероятностью 0,3 % и т.д.

Повысить точность сделанного вывода можно только путем увеличения числа обследований точки k на эпизоотию.

Отметим, что применительно к точкам с очень низкой вероятностью появления чумы $v_k \ll 1$ можно сформулировать вопрос о том, каково должно быть число исследований N_k , чтобы при заданной доверительной вероятности β верхняя доверительная граница для вероятности возникновения эпизоотии в этой точке была равна $v_{\max k}$? Другими словами, сколько раз нужно обследовать сектор, чтобы на основании сделанных обследований с малой вероятностью ошибки $\alpha = 1 - \beta$ можно было утверждать, что вероятность возникновения чумы в этом секторе v_k не превышает наперед заданного значения $v_{\max k}$ (т.е. $0 \leq v_k \leq v_{\max k}$) независимо от того, будет обследоваться этот сектор в дальнейшем или нет.

Это число равно [3]:

$$N_k = \frac{\ln(1 - \beta)}{\ln(1 - v_{\max k})}, \quad (8)$$

где β – это доверительная вероятность, т.е.

Исходные данные и результаты промежуточных и окончательных расчетов вероятности выявления эпизоотии при обследовании секторов первичного района

Baseline data and results of intermediate and final calculations of epizooty detection probability when surveying the sectors of primary zoning

Код сектора первичного района	Кратность выявления эпизоотии, n_i	Кратность обследования, N_i	Вероятность появления эпизоотии, v_i , ИЭ	Вероятность обследования, Ω_i	Вероятность появления эпизоотии в одном из секторов, Φ_i	Вероятность выявления эпизоотии, P_i	Максимальная вероятность возникновения эпизоотии при $\beta=99\%$, результат расчета по формуле (9) $v_{\max k}$
0123800144	3	12	0,250	0,013	0,011	0,003	-
0123800233	44	44	1,000	0,047	0,159	0,047	-
0123800234	1	1	1,000	0,001	0,004	0,001	-
0123801313	0	8	0,000	0,008	0,000	0,000	0,438
0123801314	0	11	0,000	0,012	0,000	0,000	0,342
0123801321	0	3	0,000	0,003	0,000	0,000	0,785
0123801322	25	32	0,781	0,034	0,091	0,027	-
0123801324	19	26	0,731	0,028	0,069	0,020	-
0123801331	3	63	0,048	0,067	0,011	0,003	-
0123801332	25	64	0,391	0,068	0,091	0,027	-
0123801333	1	7	0,143	0,007	0,004	0,001	-
0123801334	0	49	0,000	0,052	0,000	0,000	0,090
0123801341	5	11	0,455	0,012	0,018	0,005	-
0123801342	7	9	0,778	0,010	0,025	0,007	-
0123801343	7	37	0,189	0,039	0,025	0,007	-
0123801411	4	6	0,667	0,006	0,014	0,004	-
0123801412	3	4	0,750	0,004	0,011	0,003	-
0123801413	7	12	0,583	0,013	0,025	0,007	-
0123801414	2	13	0,154	0,014	0,007	0,002	-
0123801422	0	1	0,000	0,001	0,000	0,000	0,990
0123801423	0	8	0,000	0,008	0,000	0,000	0,438
0123801424	0	2	0,000	0,002	0,000	0,000	0,900
0123801431	18	31	0,581	0,033	0,065	0,019	-
0123801432	3	23	0,130	0,024	0,011	0,003	0,181
0123801433	7	12	0,583	0,013	0,025	0,007	-
0123801434	8	60	0,133	0,064	0,029	0,008	0,074
0123801441	6	17	0,353	0,018	0,022	0,006	-
0123801442	43	86	0,500	0,091	0,156	0,046	-
0123801443	0	33	0,000	0,035	0,000	0,000	0,130
0123801444	3	36	0,083	0,038	0,011	0,003	-
0123801531	20	84	0,238	0,089	0,072	0,021	-
0123801532	8	31	0,258	0,033	0,029	0,008	-
0123801533	1	5	0,200	0,005	0,004	0,001	-
0123801534	0	4	0,000	0,004	0,000	0,000	0,684
0123802511	0	5	0,000	0,005	0,000	0,000	0,602
0123802512	0	4	0,000	0,004	0,000	0,000	0,684
0123802521	0	25	0,000	0,027	0,000	0,000	0,168
0123802611	0	3	0,000	0,003	0,000	0,000	0,785
0123802612	0	8	0,000	0,008	0,000	0,000	0,438
0123802621	3	43	0,070	0,046	0,011	0,003	0,102
0123802712	0	4	0,000	0,004	0,000	0,000	0,684
0123802713	0	1	0,000	0,001	0,000	0,000	0,990
0123802714	0	1	0,000	0,001	0,000	0,000	0,990
0123802721	0	3	0,000	0,003	0,000	0,000	0,785
Итого:	276,000	942,000	-	1,000	1,000	-	-

вероятность истинности утверждения, что вероятность возникновения эпизоотии чумы в точке с номером k (независимо от того, будет обследоваться эта точка или нет) в дальнейшем будет меньше значения $v_{\max k}$.

Можно решить и обратную задачу: какова максимальная вероятность появления эпизоотии чумы в точке k с вероятностью ошибки $(1 - \beta)$, если известно, что при N_k исследованиях этой точки чума выявлялась крайне редко?

Из формулы (8) находим [3]:

$$v_{\max k} = 1 - (1 - \beta)^{1/N_k}. \quad (9)$$

К секторам с низкой вероятностью появления чумы мы отнесли те, для которых v_i не больше медианы ряда v_i (колонка 4 таблицы), т.е. не больше 0,13. Для этих секторов по формуле (9) рассчитаны значения колонки 8 таблицы.

Две последние формулы (8) и (9) являются наиболее важными с точки зрения уменьшения интенсивности обследования или исключения из него каких-либо секторов как малоперспективных для поиска эпизоотии. При этом следует обратить внимание на то, что в этих секторах число выявленных случаев чумы не обязательно должно быть равно нулю. Достаточно, чтобы оно было мало по сравнению с числом исследований, т.е. чтобы $v_k \ll 1$. Примером такого сектора является сектор 0123801434.

Алгоритм исключения секторов из плана обследования может быть следующим:

- решается, какая вероятность обнаружения эпизоотии считается достаточно малой для исключения сектора из обследования, т.е. из очаговой территории (например, согласно принятому уровню достоверности в медицинских исследованиях, это 0,01 и меньше);

- составляется таблица по формулам (1) – (7);

- с использованием квантильного анализа выбираются секторы, для которых вероятность возникновения эпизоотии чумы $v_k \ll 1$. Для этих секторов по формуле (9) рассчитывается $v_{\max k}$;

- если полученное значение $v_{\max k}$ оказывается приемлемым ($v_{\max k} \leq 0,01$), то соответствующие секторы исключаем из плана обследования;

- если полученное значение $v_{\max k}$ оказалось больше, чем уровень выбраковки (в примере – 0,01), по формуле (8) рассчитывается нужное число N_k при $v_{\max k} = 0,01$ – верхней приемлемой границе $v_{\max k}$. При $\beta = 0,99$ это дает $N_k = 458$ обследований. Это число обследований будет являться целевым для исследуемого сектора.

При анализе столбца 8 таблицы, стоит обратить внимание на следующее:

- не выявляется ни одного сектора, который бы подходил под выбранный нами критерий для исключения из очаговой территории;

- два сектора (0123801334 и 0123801434) с низкой вероятностью $v_{\max k}$ являются кандидатами на выбраковку и могут быть исключены из программы обследо-

ваний и, соответственно, из очаговой территории, при соответствующем дообследовании, т.е. если число стандартных обследований этих секторов достигнет 458, а $v_{\max k}$ уменьшится до значения $\leq 0,01$;

есть несколько секторов, обследованных 1–4 раза с отрицательным результатом выявления эпизоотии, но с высокой (до 0,99) ожидаемой вероятностью возникновения эпизоотии $v_{\max k}$. Столь высокая вероятность обусловлена малым числом обследований сектора. При дальнейших обследованиях вероятность может остаться такой же, если в этих секторах будет постоянно фиксироваться эпизоотия, либо будет снижаться.

В зависимости от конкретной ситуации в очаге максимальную вероятность возникновения эпизоотии $v_{\max k}$ можно увеличить, а доверительную вероятность β – уменьшить (например, для секторов с отсутствием постоянного и временного населения). При этом целевое число обследований сектора N_k будет уменьшаться. Например, при $v_{\max k} = 0,05$ и $\beta = 0,95$ (ошибка вычисления 5 %) для исключения сектора из очаговой территории достаточно 58-кратного обследования.

Отметим, что рассчитанное по формуле (8) число обследований вполне согласуется с практикой. Известны межэпизоотические периоды длительностью в 35 лет, т.е. с минимальной кратностью обследования за этот период, равной 70, а по отдельным секторам и более. В случае, если в секторе присутствуют носители и переносчики микроба чумы, отсутствие регистрации эпизоотии в течение срока, превышающего в несколько раз длительность известных межэпизоотических периодов, достаточное основание для исключения сектора из очаговой территории с высокой надежностью.

Полученные результаты позволяют использовать научно обоснованный подход при принятии решения об исключении из обследования части очаговой территории.

Ранжирование очага по вероятности выявления эпизоотии в секторе и вероятности обследования сектора может быть использованы наряду с ИЭ при планировании эпизоотологического обследования.

Следует отметить, что Центральнo-Кавказский высокогорный природный очаг чумы использовался в настоящей работе только в качестве примера. Расчет может применяться для любых очагов. При этом нужно помнить, что построенная таблица является примером, актуальным для периода с 1987 по 2013 год. По мере внесения новых данных вероятности будут изменяться. Поэтому мы рекомендуем составить таблицу в любом компьютерном табличном редакторе, связав рассчитываемые ячейки с приведенными в тексте формулами.

Непосредственно для Центральнo-Кавказского высокогорного природного очага чумы отметим, что, в связи с межэпизоотическим периодом, продолжающимся с 2007 г., на текущий год увеличивается только один показатель – кратность обследования

секторов. Вероятность выявления эпизоотии в секторе заметно изменяется только для секторов с высокой напряженностью эпизоотической ситуации, в сторону уменьшения.

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

Список литературы

1. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: «Медицина»; 2004. 192 с.
2. Дубянский В.М., Поле С.Б., Бурделов Л.А., Классовская Е.В., Сапожников В.И. Зависимость выявления чумы на Баканасской равнине от полноты эпизоотологического обследования. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане*. 2007; 1–2(15–16):62–66.
3. Вентцель Е.С. Теория вероятностей: Учеб. для вузов. 7-е изд., стер. М.: Высшая школа; 2001. 576 с.

References

1. Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci in the Territory of Caucasus, Caspian-Sea Region, Central Asia

and Siberia]. M.: "Meditsina"; 2004. 192 p.

2. Dubyansky V.M., Pole S.B., Burdelov L.A., Klassovskaya E.V., Sapozhnikov V.I. [Dependence between plague detection on Bakanas Plain and scope and volume of epizootiological surveillance]. *Karantinnye i Zoonoznye Infektsii v Kazakhstane*. 2007. 1–2(15–16):62–6.

3. Ventsel' E.S. [Probability Theory: Text Book for Higher Educational Institutions]. 7th Edition. M.: "Vysshaya Shkola"; 2001. 576 p.

Authors:

Dubyansky V.M., Evchenko Yu.M. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Matyukhin S.I. I.S. Turgenev Orel State University. 95, Komsomolskaya St., Orel, 302026, Russian Federation.

Об авторах:

Дубянский В.М., Евченко Ю.М. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Матюхин С.И. Орловский государственный университет имени И.С.Тургенева. Российская Федерация, 302026, Орел, ул. Комсомольская, 95. E-mail: info@oreluniver.ru.

Поступила 28.06.18.

Принята к публ. 16.08.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-54-57

УДК 615.371:579.842.23

А.А. Зуенко, Н.В. Абзаева, С.Е. Гостищева, О.Л. Старцева, Т.М. Гридина, Ю.В. Богданова, Г.Ф. Иванова, Д.В. Ростовцева

АНАЛИЗ СТАБИЛЬНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА ВАКЦИНЫ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ И ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ПРЕПАРАТА

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

Цель исследования – проанализировать основные показатели качества выпускаемой вакцины чумной живой и стабильность препарата в процессе хранения. **Материалы и методы.** В работе проведен анализ паспортных данных серий вакцины чумной живой на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, выпущенных с 2012 по 2017 год в соответствии с требованиями нормативной документации. Исследуемые параметры: жизнеспособность, термостабильность, отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов, потеря в массе при высушивании, иммуногенность. **Результаты и выводы.** Проведен сравнительный анализ жизнеспособности вакцины (количества живых микробных клеток) в сериях, произведенных за последние 6 лет. Все исследованные серии вакцины соответствуют показателям, отраженным в спецификации к фармакопейной статье предприятия и промышленном регламенте, что свидетельствует о стабильности производства и основных показателей качества вакцины чумной живой в течение всего срока годности. Отмечено, что выпуск вакцины, соответствующей требованиям нормативной документации, зависит от строгого соблюдения персоналом производственных правил, использования высококачественного сырья и материалов, проведения валидации оборудования и технологических процессов производства.

Ключевые слова: вакцина чумная живая, жизнеспособность, срок годности, стабильность, качество препарата.

Корреспондирующий автор: Зуенко Анастасия Анатольевна, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Для цитирования: Зуенко А.А., Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Старцева О.Л., Гридина Т.М., Богданова Ю.В., Иванова Г.Ф., Ростовцева Д.В. Анализ стабильности производства вакцины чумной живой и основных показателей качества препарата. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 4:54–57. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-54-57

А.А. Zuenko, N.V. Abzaeva, S.E. Gostishcheva, O.L. Startseva, T.M. Gridina, Yu.V. Bogdanova, G.F. Ivanova, D.V. Rostovtseva

Assessment of Stability of Live Plague Vaccine Manufacturing and Basic Preparation Quality Indicators

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was to analyze the basic quality parameters of the produced live plague vaccine and stability of the preparation during the storage process. **Materials and methods.** Specifications for batch series of the live plague vaccine on the basis of *Yersinia pestis* EV NIEG, manufactured between 2012 and 2017, in compliance with the regulations of the normative documentation were assessed. The parameters under investigation were: viability, thermal resistance, absence of extraneous substances and fungi, weight loss in the process of drying, immunogenicity. **Results and conclusions.** Comparative analysis of the vaccine viability (quantity of live microbe cells) in the batches manufactured over the past 6 years was carried out. All the studied vaccine series have the appropriate indicators stated in the Specification to the Pharmacopeia Monograph and master formula which testifies to the stability of manufacturing line and basic live plague vaccine quality parameters throughout the whole term of storage. It is outlined that the production of the vaccine, corresponding to the requirements of the normative regulations, depends upon the strict adherence to the rules by the personnel, usage of high-grade stock and materials, validation of equipment and technological processes of manufacturing.

Key words: live plague vaccine, livability, shelf life, stability, preparation quality.

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

Corresponding author: Anastasia A. Zuenko, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Citation: Zuenko A.A., Abzaeva N.V., Gostishcheva S.E., Startseva O.L., Gridina T.M., Bogdanova Yu.V., Ivanova G.F., Rostovtseva D.V. Assessment of Stability of Live Plague Vaccine Manufacturing and Basic Preparation Quality Indicators. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 4:54–57. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-54-57

Received 01.08.18. Revised 11.12.18. Accepted 13.12.18.

В связи с сохранением напряженной эпидемиологической обстановки на территории природных очагов чумы, разработаны комплексные планы мероприятий учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению природного очага чумы и снижению эпидемических рисков в 2017 г., которые включают вакцинацию против чумы населения, постоянно про-

живающего на эпизоотической территории или временно пребывающего [1].

Для специфической профилактики чумы наиболее эффективным препаратом противоэпидемического значения является вакцина чумная живая на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, обеспечивающая напряженный и эффективный пост-

вакцинальный иммунитет.

В настоящее время в Российской Федерации лекарственный препарат «Вакцина чумная живая, лиофилизат для приготовления суспензии для инъекций, накожного скарификационного нанесения и ингаляций» выпускается в ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» согласно нормам и требованиям промышленного регламента производства (ПР) 01897080-09-16 и фармакопейной статьи предприятия (ФСП) ЛСР 005759/08-22072008, с изменением от 19.08.2013 г.

Производство вакцины чумной – сложный и длительный технологический процесс, включающий контроль исходных материалов, подготовку технологического оборудования, получение препарата, внутрипроизводственный и выпускающий контроль качества в лаборатории биологического и технологического контроля, последующую экспертизу в Органе по сертификации, передачу на склад готовой продукции и реализацию препарата, а также экспертизу производственной документации.

В соответствии с требованиями (Федеральный закон № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» в редакции от 28.11.2018 г., Приказ Министерства промышленности и торговли РФ от 14.06.2013 г. № 916 «Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств», Руководство ВОЗ по требованиям GMP – надлежащей практике организации производства) лаборатория биологического и технологического контроля проводит постоянный контроль и анализ данных по качеству и стабильности лекарственного препарата, определяет тенденции несоответствия или изменения каких-либо параметров и их своевременного устранения [2]. Вместе с тем оценка качества лекарственных препаратов связана с рядом особенностей, обусловленных вариабельностью основных показателей, таких как жизнеспособность, термостабильность, иммуногенность [3].

Качество вакцинного препарата характеризуется главным образом его эффективностью и безопасностью, о которых судят по показателям, определяемым физико-химическими, микробиологическими и иммунобиологическими методами.

Цель исследования – проанализировать паспортные данные основных показателей качества готовой продукции и стабильность лекарственного препарата в процессе хранения.

Материалы и методы

В работе использованы серии вакцины чумной живой на основе штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, выпущенные с 2012 по 2017 год. Качество чумной вакцины оценивали по основным показателям: жизнеспособность, термостабильность, отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов (бактериологический метод), потеря в массе при высушивании (весовой метод), иммуногенность

(биологический метод), согласно ФСП 42-8654-07, Государственной фармакопеи XIII, ОФС.1.2.4.0003.15 «Стерильность», ОФС.1.4.2.0003.15 «Извлекаемый объем лекарственных форм для парентерального применения», ОФС.1.2.1.0004.15 «Аномальная токсичность», ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании», ФС.3.3.1.0022.15 «Вакцина чумная живая», ОФС.1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств».

Статистический анализ проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Для выявления статистической значимости различий результатов использовали t-критерий Стьюдента. Различия считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Вакцина чумная живая представляет собой живую культуру вакцинного штамма чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ, лиофилизированную в стабилизирующей среде (сахарозо-желатиновая с тиомочевинной). Препарат выпускают в форме лиофилизата в ампулах объемом 2 мл, запаянных под вакуумом. В зависимости от концентрации и процента живых микробных клеток, в ампуле содержится от 80 до 430 подкожных доз. В соответствии с установленными требованиями спецификации вакцина должна содержать чистую культуру вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ; быть безопасной; не содержать посторонних микроорганизмов и грибов; потеря в массе при высушивании – не более 4,0 %; концентрация микробных клеток по ОСО мутности бактериальной взвеси ($10 \cdot \text{МЕ}$, соответствующий $1 \cdot 10^9$ м.к./мл чумного микроба, должна составлять от $5 \cdot 10^{10}$ до $1 \cdot 10^{11}$ м.к./мл; число живых микробных клеток (ж.м.к.) – не менее 25 % от общего количества. ЕД_{50} вакцины для морских свинок не должна превышать $1 \cdot 10^4$, для белых мышей – $4 \cdot 10^4$ ж.м.к. Термостабильность – срок, в течение которого в препарате сохраняется 50 % живых микробных клеток по отношению к первоначальному числу, должна составлять не менее 4 сут (табл. 1).

Основной характеристикой живой вакцины является количество живых микробных клеток в лиофилизате, а также сохранение этого показателя в течение срока годности, который составляет 3 года. Другие показатели качества препарата при хранении не претерпевают изменений.

Архивные (арбитражные) образцы каждой серии вакцины хранятся в лаборатории биологического и технологического контроля в течение 4 лет. За последние 6 лет в институте произведено 72 серии вакцины чумной живой, которые прошли полный контроль на производстве и в ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, на выпущенные серии получены Сертификаты соответствия. Рекламации на выпущенную продукцию не поступали.

Многочисленными исследованиями показано, что в процессе хранения показатель жизнеспособ-

Таблица 1/Table 1

Результаты оценки показателей качества вакцины чумной живой
Results of assessment of live plague vaccine quality parameters

Показатели	Требования ПР	2012 г.	2013 г.	2014 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.	M±m
Концентрация микробных клеток (м.к./мл)	(50–100)·10 ⁹	65,39±2,31	84,55±2,56	66,43±2,75	64,47±4,03	67,50±4,03	68,00±2,79	69,39±3,08
Жизнеспособность, %	не менее 25 %	32,84±2,20	30,15±0,95	38,63±1,94	32,61±0,60	40,76±3,49	56,56±4,59	38,59±3,95
Термостабильность, сут.	не менее 4 сут.	6,51±0,27	15,20±2,40	11,17±0,74	7,88±0,42	12,11±1,80	12,36±0,28	10,87±1,30
Потеря в массе при высушивании, %	не более 4,0 %	1,79±0,16	1,63±0,16	1,32±0,05	1,36±0,05	1,50±0,07	1,30±0,04	1,48±0,08
Количество подкожных доз	от 80 до 430	144,36±12,47	168,91±5,51	169,29±8,19	143,95±5,85	184,63±19,30	260,50±28,21	178,61±17,60
ЕД ₅₀ для белых мышей, ж.м.к.	не более 4·10 ⁴	14040,67±3516,00	10263,50±1904,24	6187,00±1125,71	16996,67±5050,28	16675,50±1653,92	14017,50±844,99	13030,14±1849,33
ЕД ₅₀ для морских свинок, ж.м.к.	не более 1·10 ⁴	5141,67±1002,95	8890,50±894,49	2297,00±1244,51	8021,33±1053,31	7146,00±1178,04	8078,00±224,86	6595,75±1102,57

ности микробных клеток в препарате претерпевает изменения [4, 5]. В связи с этим, в соответствии с ОФС.1.1.0009.15, проводится оценка стабильности препарата в течение всего срока годности. Стабильность (устойчивость) – это фактор качества лекарственных средств, их способность сохранять физико-химические свойства и фармакологическую активность, предусмотренные требованиями нормативной документации в течение установленного срока годности. Критерием стабильности лекарственного препарата служит сохранение его качества, т.е. внешнего вида, растворимости, подлинности, специфической активности и других нормированных показателей. Помимо этого, на стабильность вакцины значительное влияние оказывают условия получения, хранения и транспортировки. При нарушении условий хранения вакцина теряет иммунобиологические свойства, так как ее способность вызывать активный специфический иммунитет снижается, а реактогенность может повышаться. В связи с этим вакцинация не всегда бывает эффективной, а вероятность развития нежелательных явлений повышается.

Только соблюдение условий технологического процесса обеспечивает соответствие требованиям спецификации и стабильность конечного продукта. Авторами проведен сравнительный анализ паспортных данных по показателю «Процент живых ми-

кробных клеток» в сериях вакцины, произведенных за последние 6 лет (табл. 2). Показано, что среднее снижение заявленной при выпуске жизнеспособности через 12 месяцев хранения составило 1,1 %, через 24 месяца – 2,1 и через 36 месяцев – 8,0.

Различия между показателями стандартных отклонений повторяемости для изученных показателей статистически недостоверны ($p \leq 0,05$), что позволяет говорить о повторяемости и воспроизводимости рассмотренных показателей.

Анализируя приведенные выше данные, можно отметить, что произведенная в течение 6 последних лет вакцина чумная живая отличается вариабельностью биологических показателей (жизнеспособность), что связано с особенностями биотехнологии производства (качество питательных основ, условия культивирования, концентрация бактериальной суспензии в ампуле, параметры лиофилизации). При этом все серии вакцины соответствуют показателям, отраженным в спецификации к ФСП и промышленном регламенте на производство.

Таким образом, проведенный анализ свидетельствует о стабильности производства и основных показателей качества вакцины чумной живой. Выпуск вакцины, соответствующей требованиям НД, зависит от строгого соблюдения персоналом правил производства, изложенных в ПР, использования вы-

Таблица 2/Table 2

Жизнеспособность вакцины чумной живой на протяжении срока хранения
Viability of live plague vaccine throughout the storage term

Год производства	Количество серий	Жизнеспособность, %						
		На дату выпуска	6 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.	30 мес.	36 мес.
2012	14	32,84±2,20	32,61±2,27	32,57±2,27	32,40±2,28	31,85±2,17	31,63±2,13	24,94±0,20
2013	11	30,15±0,95	29,99±0,99	29,80±0,98	29,59±1,00	29,10±0,99	28,70±0,98	25,45±0,32
2014	14	38,63±1,94	38,39±2,01	37,99±2,01	37,76±2,01	37,46±2,00	37,12±2,00	25,51±0,73
2015	19	32,61±0,60	31,12±0,67	30,53±0,54	29,49±0,49	28,05±0,31	27,25±0,34	26,26±0,30
2016	8	40,76±3,49	39,91±3,57	38,99±3,52	38,84±3,49	37,91±3,47		
2017	8	56,56±4,59	55,69±4,74	55,06±4,72				

сококачественного сырья и материалов, проведения валидации оборудования и технологических процессов производства.

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

Список литературы:

1. Попов Н.В., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Вершинин С.А., Косилко С.А., Иннокентьева Т.М., Григорьев М.П., Дегтярев Д.Ю., Герасименко Е.В., Дубянский В.М., Шилов М.М., Топорков В.П., Зенкевич Е.С., Попов В.П., Лопатин А.А., Безсмертный В.Е., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2008–2017 гг. и прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:50–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55.
2. Давыдов Д.С. Анализ стабильности показателей качества биологических лекарственных препаратов при проведении испытаний в рамках подтверждения соответствия. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017; 17(4):230–2. DOI: 10.30895/2221-996X-2017-17-4-230-232.
3. Климов В.И., Саканян Е.И., Волкова Р.А., Фадейкина О.В., Мовсисянц А.А., Лебединская Е.В., Шестакова А.П. Анализ потребностей в стандартных образцах, предназначенных для оценки качества биологических лекарственных средств. *Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2017; 17(2):87–94. DOI: 10.30895/2221-996X-2017-17-2-87-94.
4. Будыка Д.А., Абзаева Н.В., Иванова Г.Ф., Гостищева С.Е., Фисун А.А., Ляпустина Л.В. Сравнительный анализ экспериментальных серий вакцины чумной живой по показателям жизнеспособности и термостабильности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 4:68–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-68-71.
5. Будыка Д.А., Фисун А.А., Абзаева Н.В., Иванова Г.Ф., Катунина Л.С. Анализ воздействия экстремальной температуры на полуфабрикат вакцины чумной живой в различные сроки хранения готового препарата. *Здоровье населения и среда обитания*. 2013; 5:28–30.

References

1. Popov N.V., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Vershinin S.A., Kosilko S.A., Innokent'eva T.M.,

Grigor'ev M.P., Degtyarev D.Yu., Gerasimenko E.V., Dubyansky V.M., Shilov M.M., Toporkov V.P., Zenkevich E.S., Popov V.P., Lopatin A.A., Bezsmertny V.E., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. [Epizootic activity of natural plague foci of the Russian Federation in 2008-2017 and forecast for 2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 1:50–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-50-55.

2. Davydov D.S. [Trend analysis of batch to batch consistency during quality assessment of biological medicinal products]. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie*. 2017; 17(4):230–2. DOI: 10.30895/2221-996X-2017-17-4-230-232.

3. Klimov V.I., Sakanyan E.I., Volkova R.A., Fadeykina O.V., Movsesyants A.A., Lebedinskaya E.V., Shestakova A.P. [Analysis of the demand for reference standards used in quality evaluation of biologicals]. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie*. 2017; 17(2):87–94. DOI: 10.30895/2221-996X-2017-17-2-87-94.

4. Budyka D.A., Abzaeva N.V., Ivanova G.F., Gostishcheva S.E., Fisun A.A., Lyapustina L.V. [Comparative analysis of experimental series of live plague vaccine by viability and thermal stability indices]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; 4:68–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-68-71.

5. Budyka D.A., Fisun A.A., Abzaeva N.V., Ivanova G.F., Katunina L.S. [Analysis of the effect of extreme temperature on the half-finished product of the live plague vaccine in various periods of storage of the finished preparation]. *Zdorovie Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2013; 5:28–30.

Authors:

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

Об авторах:

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

Поступила 01.08.18.

Отправлена на доработку 11.12.18.

Принята к публ. 13.12.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-58-62

УДК 616.98:578.633.29(470.46)

А.А. Ковалевская¹, О.Л. Василькова¹, Б.Л. Агапов¹, Е.В. Куклев², В.А. Сафронов², Ю.И. Яшечкин²,
В.П. Топорков², С.А. Щербак², Н.Н. Никешина³, Л.Н. Носкова³, Т.Е. Аршба⁴, Г.Г. Руденко⁴,
А.М. Шишлонов⁴

РИСК-ОРИЕНТИРОВАННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СОВРЕМЕННОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ В АСТРАХАНСКОЙ ОБЛАСТИ ПО КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ

¹ФКУЗ «Астраханская противочумная станция», Астрахань, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ³Управление Роспотребнадзора по Астраханской области, Астрахань, Российская Федерация; ⁴ГБУЗ АО «Областная инфекционная клиническая больница им. А.М. Ничоги», Астрахань, Российская Федерация

Цель – риск-ориентированная оценка современной эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке (КГЛ) в Астраханской области. **Материалы и методы.** В работе использованы материалы ФКУЗ «Астраханская противочумная станция», Управления Роспотребнадзора по Астраханской области, ГБУЗ АО «Областной инфекционной клинической больницы им. А.М. Ничоги». Основным методом исследования стал эпидемиологический анализ заболеваемости населения Астраханской области этой инфекцией за 2000–2016 гг. Эпидемиологическому анализу подвергнуты 125 историй болезни. **Результаты и выводы.** В результате ретроспективного эпидемиологического анализа определены и охарактеризованы основные категории риска заболевания Крымской геморрагической лихорадкой в Астраханской области в 2000–2016 гг. Установлено, что чаще болеют мужчины (80 из 125 – 64,0 %) старших возрастных групп (31–50 лет – 32,8 % и 51–70 лет – 14,4 %). Среди женщин заболевания КГЛ распространены в этом же возрасте. Территорией высокого риска являются 3 района области, среднего – 3 района, низкого – 4 и очень низкого – 2. Анализ контингентов риска показал, что в последние десятилетия чаще болеют КГЛ неработающие лица – 43,2 %, пенсионеры – 17,6 %, служащие – 10,4 %, сельскохозяйственные рабочие и фермеры – 8,8 %. В подавляющем большинстве случаев (83 – 66,4 %) заражение людей КГЛ произошло при укусе, снятии с себя и раздавливании клеща незащищенными руками. В 26 случаях (20,8%) факторы риска не были установлены. КГЛ в Астраханской области имеет ярко выраженную весенне-летнюю сезонность с началом во второй половине апреля, пиком в июне и спадом в августе. Среди клинических форм болезни наиболее часто встречалась среднетяжелая форма (83 чел. – 66,4 %), летальных исходов не зарегистрировано.

Ключевые слова: Крымская геморрагическая лихорадка, территория, время, контингенты и факторы эпидемиологического риска.

Корреспондирующий автор: Анастасия Александровна Ковалевская, e-mail: antichum@astranet.ru.

Для цитирования: Ковалевская А.А., Василькова О.Л., Агапов Б.Л., Куклев Е.В., Сафронов В.А., Яшечкин Ю.И., Топорков В.П., Щербак С.А., Никешина Н.Н., Носкова Л.Н., Аршба Т.Е., Руденко Г.Г., Шишлонов А.М. Риск-ориентированная характеристика современной эпидемиологической обстановки в Астраханской области по Крымской геморрагической лихорадке. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 4:58–62. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-58-62

A.A. Kovalevskaya¹, O.L. Vasil'kova¹, B.L. Agapov¹, E.V. Kouklev², V.A. Safronov², Yu.I. Yashechkin²,
V.P. Toporkov², S.A. Shcherbakova², N.N. Nikeshina³, L.N. Noskova³, T.E. Arshba⁴, G.G. Rudenko⁴,
A.M. Shishlonov⁴

Risk-Oriented Characteristics of Current Epidemiological Situation on Crimean Hemorrhagic Fever in the Astrakhan Region

¹Astrakhan Plague Control Station, Astrakhan, Russian Federation; ²Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; ³Rospotrebnadzor Administration in the Astrakhan Region, Astrakhan, Russian Federation; ⁴A.M. Nichogi Regional Infectious Clinical Hospital, Astrakhan, Russian Federation

Abstract. Objective – risk-oriented assessment of current epidemiological situation on Crimean hemorrhagic fever (CHF) in the Astrakhan Region. **Materials and methods.** Documents and reports of the Astrakhan Plague Control Station, Rospotrebnadzor Administration in the Astrakhan Region, and A.M. Nichogi Regional Infectious Clinical Hospital were utilized for the study. Key method of investigation was epidemiological analysis of morbidity rates among the population of the Astrakhan Region over the period of 2000–2016. The subject of the epidemiological analysis – 125 case histories. **Results and conclusions.** As a result of retrospective epidemiological analysis basic risk categories as regards Crimean hemorrhagic fever infection in the Astrakhan Region between 2000 and 2016 were identified and characterized. It was established that men of older ages are more prone to the disease (80 out of 125 cases – 64.0 %, 31–50 years old – 32 % and 51–70 years old – 14.4 %). Among the feminine population, CHF cases are also common within the same age range. High risk territories turned out to be 3 districts of the Region (Privolzhsky, Enotaevsky, Krasnoyarsky), medium risk – 3 districts, low risk – 4, and very low – 2. Risk group analysis revealed that during the last decade, CHF infection is more often registered in un-employed persons – 43.2 %, retired people – 17.6 %, and to a lesser degree – in salaried workers (10.4 %), agricultural laborers, and farm workers (8.8 %). In the majority of the cases (83–66.4 %) human infection with CHF occurred through the bite of a tick, or at the attempt to remove or crush it with unprotected hands. In 26 cases (20.8 %), risk factors were not identified. CHF in the Astrakhan

Region has a pronounced spring – summer seasonality with the onset in the second half of April, peak values – in June (45 cases – 36 %) and a decline – in August. Among clinical forms of the diseases moderately severe was the prevalent one (83–66.4 %). Lethal cases were not registered.

Key words: Crimean hemorrhagic fever; epidemiological risk territory, time intervals, contingents and factors.

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

Corresponding author: Anastasiya A. Kovalevskaya, e-mail: antichum@astranet.ru.

Citation: Kovalevskaya A.A., Vasil'kova O.L., Agapov B.L., Kouklev E.V., Safronov V.A., Yashechkin Yu.I., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Nikeshina N.N., Noskova L.N., Arshba T.E., Rudenko G.G., Shishlonov A.M. Risk-Oriented Characteristics of Current Epidemiological Situation on Crimean Hemorrhagic Fever in the Astrakhan Region. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 4:58–62. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-58-62

Received 06.09.18. Revised 19.10.18. Accepted 07.11.18.

Заболевание, вызываемое вирусом Крымской-Конго геморрагической лихорадки (семейство *Bunyaviridae*), известно очень давно (с XIII–XIV вв.). В 1945 г. установлена вирусная этиология этого заболевания при вспышке в Крыму. В 1956 г. выделен вирус Конго, позже установлена его идентичность с вирусом КГЛ [1, 2]. Ареал вируса включает страны Восточной Европы, Францию, Ближний Восток, Индию, Западный Китай, Африку (за исключением пустыни) [3, 4, 5], южные регионы России (Астраханскую, Волгоградскую, Ростовскую области, Ставропольский, Краснодарский края, Калмыкию), Крым, Северный Кавказ, Закавказье, Казахстан, Туркмению, Таджикистан [3, 4, 6, 7, 8].

Территория Астраханской области является эндемичной по Крымской геморрагической лихорадке (КГЛ). В 1953 г. впервые в Астраханской области трем пациентам поставлен клинический диагноз КГЛ. В 1967 г. в Астрахани из крови больного с клиническим диагнозом КГЛ изолирован штамм «Дроздов» [1]. В последующем в области регистрировались в основном спорадические случаи болезни [8, 9, 10], однако известны и вспышки инфекции [1, 3, 4, 7]. Поэтому весьма актуальна оценка современной эпидемиологической обстановки по КГЛ в Астраханской области по риску заражения этой инфекцией на основе ГИС-технологий [11, 12] для разработки научно обоснованных мер профилактики.

Цель работы – риск-ориентированная оценка современной эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Астраханской области.

Материалы и методы

В работе использованы материалы ФКУЗ «Астраханская противочумная станция», Управления Роспотребнадзора по Астраханской области, ГБУЗ АО «Областная инфекционная клиническая больница им. А.М. Ничоги» (результаты эпизоотологического и эпидемиологического обследования территории, формы первичной медицинской документации – № 027/У, 058/У, 060/У) за последние 17 лет (2000–2016 гг.).

Основным методом исследования стал эпидемиологический анализ. Статистическая обработка данных выполнена с использованием общепринятых методов [13] и программы «Statistica» 6.0.

Результаты и обсуждение

Согласно официальным данным, заболеваемость КГЛ в Астраханской области в течение 17 лет распределена неравномерно (рис. 1), что, возможно, связано с цикличностью погодных условий (атмосферное давление, температура, относительная влажность воздуха и др.), а также колебанием уровня Каспийского моря, влияющими на индекс обилия основного переносчика данной инфекции – клеща *Hyalomma marginatum* [3, 7].

Приведенные данные показывают, что в течение анализируемого периода случаи заболевания КГЛ в Астраханской области регистрировались ежегодно (кроме 2014 г.). Обращает на себя внимание тот факт, что в общей динамике заболеваемости следует выделить три подъема заболеваемости в 2001–2002 гг., 2005–2007 и 2010 гг., причем каждый подъем сменялся его резким снижением. Такое распределение заболеваемости в течение 17 лет можно объяснить рядом причин, но все они будут умозрительными. Поэтому для научно обоснованной характеристики данного явления мы использовали различные варианты вариационной статистики.

Так, уравнение регрессии, соответствующее ли-

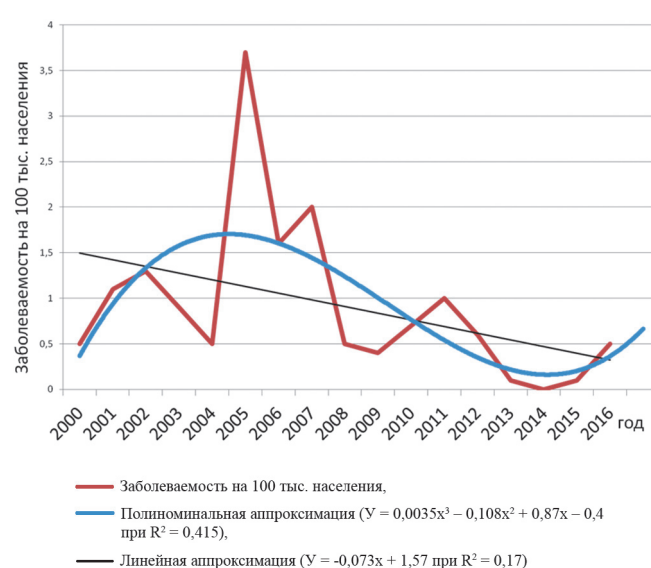


Рис. 1. Динамика и уровень заболеваемости КГЛ в Астраханской области в 2000–2016 гг.

Fig. 1. CHF dynamics and morbidity rates in the Astrakhan Region over the period of 2000–2016

Таблица 1/Table 1

Распределение больных КГЛ по полу и возрасту
в Астраханской области в 2000–2016 гг.

Distribution of CHF patients by gender and age in the Astrakhan
Region in 2000–2016

Возрастная группа	Мужчины		Женщины	
	Абс. число	%	Абс. число	%
До 6 лет	1	0,8	1	0,8
6–11	-	-	-	-
12–18	1	0,8	-	-
19–30	17	13,6	8	6,4
31–50	41	32,8	15	12,0
51–70	18	14,4	17	13,6
Старше 70	2	1,6	4	3,2
Итого:	80	64	45	36,0

нейному тренду $Y = -0,073x + 1,57$, при коэффициенте детерминации $R^2 = 0,17$, свидетельствует об отрицательной тенденции заболеваемости. Полученная модель динамики заболеваемости указывает на наличие вспышечной компоненты, что подтверждается высоким стандартным отклонением ($S = 0,896$), близким к среднесноголетней заболеваемости, составляющей $(0,91 \pm 0,43)$ на 100 тыс. населения с уровнем надежности 95 %. Использование полиномиальной аппроксимации подтверждает периодичность изменения заболеваемости, но тенденция к снижению заболеваемости отсутствует ($Y = 0,0035x^3 - 0,108x^2 + 0,87x - 0,4$; коэффициент детерминации средний – $R^2 = 0,415$).

В течение 2000–2016 гг. (срок наблюдения) в областную инфекционную клиническую больницу Астрахани поступили 125 человек, которым в последующем выставлен диагноз «Крымская геморрагическая лихорадка».

Распределение больных по полу и возрасту показано в табл. 1. Представленные данные свидетельствуют о том, что чаще болеют мужчины (80

Таблица 2/Table 2

Основные факторы риска заражения людей КГЛ
в Астраханской области в 2000–2016 гг.

Main risk factors of human infection with CHF in the Astrakhan Region

Фактор риска	Абс. число	%
Контакт с грызунами и их блохами	-	-
Уход за домашними животными	10	
Укус, снятие, раздавливание клеща	83	66,4
Укус комара в доме, подвале	-	-
Укус комара в поле, лесу, на рыбалке	1	
Контакт с больными людьми	5	
Не установлен	26	20,8
Итого:	125	100

из 125 – 64,0 %) старших возрастных групп (31–50 лет – 32,8 % и 51–70 лет – 14,4 %). Среди женщин заболевания КГЛ распространены в этом же возрасте.

При анализе эпидемиологического анамнеза историй болезни выяснены основные факторы риска заражения людей КГЛ (табл. 2).

Показано, что в подавляющем большинстве случаев (83–66,4 %) заражение людей КГЛ произошло при укусе, снятии с себя и раздавливании клеща незащищенными руками. В 26 случаях (20,8 %) факторы риска не установлены (в виду неточного сбора эпидемиологического анамнеза, либо больные сами отрицали какие-либо формы контакта).

Распределение больных КГЛ по территории риска (месту заражения) проведено с использованием интенсивных показателей заболеваемости (на 100 тыс. населения) (рис. 2).

В соответствии с правилами биометрии [13] выделены 4 зоны риска заражения КГЛ: высокого – 3 района (Приволжский, Енотаевский, Красноярский), среднего – 3 (Камызякский, Харабалинский, Икрянинский), низкого – 4 (Наримановский, Володарский, Ахтубинский, Лиманский) и очень низкого – 2

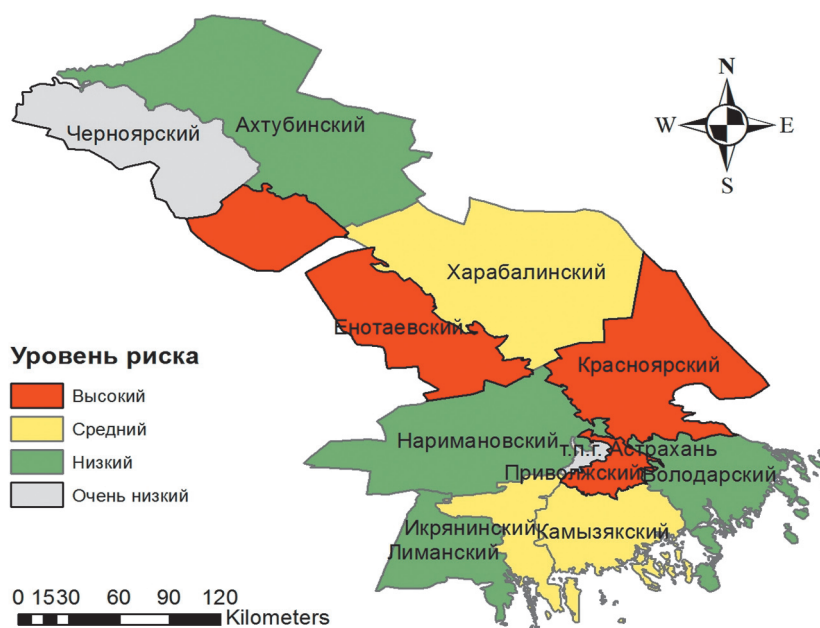


Рис. 2. Территория риска заражения КГЛ в Астраханской области:

Уровень риска заражения КГЛ: высокий – более 30 на 100 тыс. населения; средний – 20,1–30,0; низкий – 10,1–20,0; очень низкий – менее 10 на 100 тыс. населения

Fig. 2. Risk territory of CHF infection in the Astrakhan Region:

Risk level of CHF infection: high – more than 30 per 100 thousand of the population; medium – 20.1–30.0; low – 10.1–20.0; very low – less than 10 per 100 thousand.

(Астрахань и Черныйорский район).

Анализ контингентов риска (табл. 3) позволил установить, что в последние десятилетия чаще болеют КГЛ неработающие лица – 43,2 %, пенсионеры – 17,6 %, сельскохозяйственные рабочие и фермеры – 11 чел. (8,8 %), а также население, работающее в городе (категория «служащие»), – 10,4 %.

КГЛ в Астраханской области имеет ярко выраженную весенне-летнюю сезонность с началом во второй половине апреля (5 сл. – 4,0 %), пиком в мае (40 сл. – 32,0 %), июне (45 сл. – 36,0 %) и июле (30 сл. – 24,0 %) и спадом в августе. Последний случай заболевания КГЛ в Астраханской области зафиксирован в сентябре (1 сл. – 0,8 %).

Среди клинических форм болезни наиболее часто встречалась среднетяжелая форма (83 чел. – 66,4 %). Тяжелая форма КГЛ (42 чел. – 33,6 %) почти во всех случаях связана с геморрагическими проявлениями. Летальных исходов при КГЛ в 2000–2016 гг. при поступлении в «Областную инфекционную клиническую больницу им. А.М. Ничоги» не зарегистрировано.

Таким образом, в динамике эпидемического процесса при КГЛ в последние 17 лет прослеживаются периодические изменения с подъемом уровня заболеваемости в 2001–2002, 2005–2007 и 2010 гг. при отсутствии статистически достоверной ($P < 0,05$) тенденции к снижению заболеваемости. Определены и охарактеризованы основные категории эпидемиологического риска заболевания КГЛ в Астраханской области в 2000–2016 гг. Установлено, что чаще болеют мужчины (80 из 125 – 64,0 %) старших возрастных групп (31–50 лет – 32,8 % и 51–70 лет – 14,4 %). Среди женщин заболевания КГЛ распространены в этом же возрасте. Территорией высокого риска являются 3 района области, среднего – 3, низкого – 4 и очень низкого – 2. Анализ контингентов риска показал, что в последние десятилетия чаще болеют КГЛ неработающие лица (43,2 %), пенсионеры (17,6 %), в меньшей степени – «служащие» (10,4 %),

сельскохозяйственные рабочие и фермеры (8,8 %). В подавляющем большинстве случаев (83–66,4 %) заражение людей КГЛ происходило при укусе, снятие с себя и раздавливании клеща незащищенными руками. В 26 случаях (20,8 %) факторы риска не установлены. КГЛ в Астраханской области имеет ярко выраженную весенне-летнюю сезонность с началом во второй половине апреля, пиком в июне и спадом в августе. Среди клинических форм болезни наиболее часто встречалась среднетяжелая форма, летальных исходов не зарегистрировано. Полученные результаты необходимо учитывать при дифференциации территории области по риску заражения КГЛ.

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

Список литературы

1. Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я. Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М.: 1989. 335 с.
2. Woodall J, Williams M.C., Simpson D.I.H. Congo virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa. *East. Afr. Med. J.* 1967; 44(2):93–8. PMID: 6068614.
3. Аристова В.А., Колобухина Л.В., Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Экология вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки и особенности ее клиники на территории России и сопредельных стран. *Вопросы вирусологии.* 2001. 3:7–15.
4. Малеев В.В., Галимжанов Х.М., Бутенко А.М., Черенов И.В. Крымская геморрагическая лихорадка. М.: Астрахань; 2003. 120 с.
5. Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe and Africa. *J. Med. Entomol.* 1979; 15:307–417. PMID: 1135333.
6. Айкимбаев А. М., Казаков С. В., Касымжанов Л.С. Конго-Крымская геморрагическая лихорадка. Алматы; 2010. С. 80.
7. Онищенко Г.Г., Ефременко В.И., Бейер А.П. Крымская геморрагическая лихорадка. М.: ГОУ ВУНМЦ; 2005. 269 с.
8. Ковтунов А.И., Юстратов В.Б., Никешина Н.Н., Джаркенов А.Ф., Пискунова Н.В., Эрднева А.И., Куликова Л.Н., Чалов В.В. Эпидемиология Крымской геморрагической лихорадки в Астраханской области. В кн.: Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М.: 2007. С. 108–13.
9. Смирнова С.Е. Крымская-Конго геморрагическая лихорадка (этиология, эпидемиология, лабораторная диагностика). М.: АТИСО; 2007. 302 с.
10. Черенов О.П., Галимжанов Х.М., Василькова В.В., Черенов И.В. Дифференциальная диагностика геморрагической лихорадки Крым-Конго на современном этапе. *Казанский медицинский журнал.* 2014; 95(5):748–51.
11. Сафронов В.А., Пискунова Н.В., Ковтунов А.И., Кабин В.В., Илюхин А.А., Кологоров А.И., Никешина Н.Н., Носкова Л.Н., Славина А.М., Юстратов В.Б., Топорков В.П. Новые информационные технологии в ретроспективном эпидемиологическом анализе на уровне субъекта Российской Федерации на примере Астраханской области. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2010; 2:43–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-2(104)-43-48.
12. Сафронов В.А., Раздорский А.С., Скаленко С.Ю., Лопатин А.А., Ковтунов А.И., Пискунова Н.В., Кологоров А.И., Кулев Е.В., Топорков В.П. Географическая информационная система для эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекционными болезнями в сочетанных очагах на территории Астраханской области. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2010; 3:35–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-3(105)-35-38.
13. Плохинский Н.А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ; 1970. 337 с.

References

1. L'vov D.K., Klimenko S.M., Gaidamovich S.Ya. [Arboviruses and Arboviral Infections]. Moscow; 1989. 335 p.
2. Woodall J, Williams M.C., Simpson D.I.H. Congo virus: a hitherto undescribed virus occurring in Africa. *East. Afr. Med. J.* 1967; 44(2):93–8. PMID: 6068614.
3. Aristova V.A., Kolobukhina L.V., Shchelkanov M.Yu., L'vov D.K. [Ecology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus and peculiarities of its clinical picture in the territory of Russia and neighboring countries]. *Voprosy Virusologii.* 2001. 3:7–15.
4. Maleev V.V., Galimzhanov X.M., Butenko A.M., Cherenov

Таблица 3/Table 3

Контингенты риска заражения КГЛ в Астраханской области в 2000–2016 гг.

Risk groups of CHF infection in the Astrakhan Region in 2000–2016

Контингент риска	Абс. число	%
Сельскохозяйственные рабочие, фермеры и члены их семей	18	14,4
Рабочие промышленных предприятий	7	5,6
Учащиеся	4	3,2
Дети	2	1,6
Служащие	13	10,4
Лесники, пчеловоды, рыбаки	1	0,8
Ветеринары	-	-
Мед. работники	4	3,2
Пенсионеры	22	17,6
Не работающие	54	43,2
Итого:	125	100

I.V. [Crimean Hemorrhagic Fever]. Moscow: "Astrakhan"; 2003. 120 p.

5. Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe and Africa. *J. Med. Entomol.* 1979; 15:307–417. PMID: 113533.

6. Aikimbaev A.M., Kazakov S.V., Kasymzhanov L.S. [Crimean-Congo Hemorrhagic Fever]. Almaty; 2010. P. 80.

7. Onishchenko G.G., Efremenko V.I., Beyer A.P. [Crimean Hemorrhagic Fever]. Moscow; 2005. 269 p.

8. Kovtunov A.I., Yustratov V.B., Nikeshina N.N., Dzharkenov A.F., Piskunova N.V., Erdnieva A.I., Kulikova L.N., Chalov V.V. [Epidemiology of Crimean hemorrhagic fever in the Astrakhan Region]. In: [Arboviruses and Arboviral Infections]. Moscow; 2007. P. 108–13.

9. Smirnova S.E. [Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (Etiology, Epidemiology, Laboratory Diagnosis)]. Moscow; 2007. 302 p.

10. Cherenova O.P., Galimzyanov Kh.M., Vasil'kova V.V., Cherenov I.V. [Differential diagnostics of Crimean-Congo hemorrhagic fever at the current stage]. *Kazanskii Meditsinskii Zhurnal.* 2014; 95(5):748–51.

11. Safronov V.A., Piskunova N.V., Kovtunov A.I., Kabin V.V., Ilyukhin A.A., Kologorov A.I., Nikeshina N.N., Noskova L.N., Slavina A.M., Yustratov V.B., Toporkov V.P. [New information technologies in retrospective epidemiological analysis carried out at the level of the Russian Federation constituent entity: the Astrakhan Region as an example]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2010; 2:43–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-2(104)-43-48.

12. Safronov V.A., Razdorskiy A.S., Skalenko S.Yu., Lopatin A.A., Kovtunov A.I., Piskunova N.V., Kologorov A.I., Kouklev E.V., Toporkov V.P. [Geographical information system for epidemiological surveillance of natural focal infectious diseases in combined foci in the territory of the Astrakhan Region]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2010; 3:35–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-3(105)-35-38.

13. Plokhinsky N.A. [Biometry]. Moscow: MSU Publ. House; 1970. 337 p.

Authors:

Kovalevskaya A.A., Vasil'kova O.L., Agapov B.L. Astrakhan Plague Control Station. 3, Kubanskaya St., Astrakhan, 414000, Russian Federation. E-mail: antichum@astranet.ru.

Kouklev E.V., Safronov V.A., Yashechkin Yu.I., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Nikeshina N.N., Noskova L.N. Rospotrebnadzor Administration in the Astrakhan Region. Astrakhan, Russian Federation.

Arshba T.E., Rudenko G.G., Shishlonov A.M. A.M. Nichogi Regional Infectious Clinical Hospital. Astrakhan, Russian Federation.

Об авторах:

Ковалевская А.А., Василькова О.Л., Агапов Б.Л. Астраханская противочумная станция. Российская Федерация, 414000, Астрахань, ул. Кубанская, 3. E-mail: antichum@astranet.ru.

Куклев Е.В., Сафронов В.А., Яшечкин Ю.И., Топорков В.П., Щербакова С.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Никешина Н.Н., Носкова Л.Н. Управление Роспотребнадзора по Астраханской области. Российская Федерация, Астрахань.

Ариба Т.Е., Руденко Г.Г., Шишлонов А.М. Областная инфекционная клиническая больница им. А.М. Ничоги. Российская Федерация, Астрахань.

Поступила 06.09.18.

Отправлена на доработку 19.10.18.

Принята к публ. 07.11.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-63-68

УДК 616.912:578.821.51+613.5

О.П. Оськина, В.В. Золин

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ МЕТОДОВ ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНОЙ ДЕЗИНФЕКЦИОННОЙ ОБРАБОТКИ ПОМЕЩЕНИЙ «ЗАРАЗНЫХ» ЗОН БОЛЬШИХ ПЛОЩАДЕЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ РАБОТ С ВИРУСОМ НАТУРАЛЬНОЙ ОСПЫ

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

Цель. Определение микробиологическим методом эффективности заключительной дезинфекционной обработки вирусологических боксированных помещений «заразной» зоны максимально изолированной лаборатории фумигацией парами формальдегида, с установлением оптимального количества формалина. Экспериментальная оценка пригодности генератора аэрозолей «Ультраспрейер Р-60» для заключительной дезинфекции помещений «заразной» зоны «сухим» паром перекиси водорода. **Материалы и методы.** Методом батистовых тест-объектов контаминированных спорообразующей тест-культурой *Bacillus thuringiensis* проведена оценка эффективности заключительной дезинфекции поверхностей помещений «заразной» зоны максимально изолированной лаборатории. **Результаты и обсуждение.** Экспериментальным путем, определено количество формалина, достаточное для полной инактивации возможных инфекционных загрязнений, потенциально находящихся на поверхностях оборудования и помещений, расположенных в «заразной» зоне максимально изолированной лаборатории, при проведении фумигации парами формальдегида. Установленное опытным путем количество формалина оказалось в 1,4 раза больше, рекомендованного нормативной документацией для невентилируемых помещений, но в 2–2,5 раза меньше, применяемого ранее для заключительной дезинфекции максимально изолированной лаборатории. Дезинфекционная обработка помещений и оборудования, расположенных в «заразной» зоне лаборатории, «сухим» паром 6 % пероксида водорода, являющегося действующим началом, распыляемого генератором аэрозолей «Ультраспрейер Р-60» препарата «Дезаргент», оказалась эффективнее орошения факелом аэрозоля 6 % пероксида водорода, получаемого с помощью пневматической аэрозольной насадки. При этом, удалось добиться практически полной инактивации тест-микроорганизма, находящегося на тест-объектах в концентрации $1 \cdot 10^6$ клеток/см², повысив концентрацию распыляемого прибором пероксида водорода до 10 %. Однако даже в этом случае в скрытых полостях оборудования и оргтехники остались жизнеспособные тест-микроорганизмы, что делает актуальным дальнейшие исследования с целью установления оптимальной концентрации пероксида водорода при проведении заключительной дезинфекции генератором аэрозолей типа «Ультраспрейер Р-60» или подобным оборудованием других производителей.

Ключевые слова: фумигация парами формальдегида, заключительная дезинфекция, дезобработка, вирус натуральной оспы, максимально изолированная лаборатория, генератор аэрозолей.

Корреспондирующий автор: Оськина Оксана Петровна, e-mail: oskina@vector.nsc.ru

Для цитирования: Оськина О.П., Золин В.В. Экспериментальная оценка эффективности методов заключительной дезинфекционной обработки помещений «заразных» зон больших площадей при проведении работ с вирусом натуральной оспы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 4:63–68. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-63-68

O.P. Os'kina, V.V. Zolin

Experimental Evaluation of the Efficiency of Methods for Final Disinfective Treatment of Premises of the Large Isolated Zones Used for Work with Pathogenic Agents when Conducting Works with the Smallpox Virus

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

Abstract. Objective. Determination of the effectiveness of final disinfection treatment of virological laboratory rooms (with the passageway room between two entries) in the isolated zone used for work with pathogenic agents, of the maximum containment laboratory by fumigation with formaldehyde vapors, including the assessment of the optimal amount of formalin. Experimental evaluation of the suitability of the aerosol generator "Ultrasprayer P-60" for the final disinfection of the premises of the "contagious" zone with the "dry steam" of hydrogen peroxide. **Materials and methods.** The effectiveness of the final disinfection of the surfaces in the premises of the "infectious" zone of the maximum containment laboratory was evaluated using cambric test objects contaminated by the spore-forming test-culture *B. thuringiensis*. **Results and discussion.** As a result of experimental studies, the required amount of formalin was determined that is sufficient to completely inactivate possible infectious contaminants that may be potentially located on the surfaces of equipment and rooms located in the "contagious" zone of the maximum containment laboratory, during fumigation with formaldehyde vapors. The amount of formalin specified experimentally turned out to be 1.4 times more than the recommended by regulatory documentation for unventilated rooms, but 2–2.5 times less than that used for final disinfection of maximum containment laboratory previously. Disinfection treatment of the premises and equipment located in the "contagious" zone of the laboratory with 6 % hydrogen peroxide "dry steam", which is the active agent of Disargent drug, sprayed through the «Ultrasprayer P-60» aerosol generator, was more effective than spray irrigation with 6 % hydrogen peroxide aerosol generated using pneumatic aerosol nozzles. At the same time, it was possible to achieve sufficiently complete inactivation of the test microorganism located on test objects at a concentration of $1 \cdot 10^6$ cells/cm², by

increasing the concentration of hydrogen peroxide sprayed by the device up to 10 %. However, even in that case, viable test microorganisms remained in the hidden cavities of the equipment and office machinery, which makes further studies relevant to establish the optimal concentration of hydrogen peroxide during the final disinfection with an «Ultrasprayer P-60» aerosol generator or similar equipment from other manufacturers.

Key words: formaldehyde vapors fumigation, final disinfection, decontamination, smallpox virus, *maximum containment* laboratory, aerosol generator.

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

Corresponding author: Oksana P. Os'kina, e-mail: oskina @vector.nsc.ru.

Citation: Os'kina O.P., Zolin V.V. Experimental Evaluation of the Efficiency of Methods for Final Disinfective Treatment of Premises of the Large Isolated Zones Used for Work with Pathogenic Agents when Conducting Works with the Smallpox Virus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 4:63–68. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-63-68

Received 20.11.18. Accepted 30.11.18.

Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Центр) является Сотрудничающим Центром ВОЗ по диагностике ортопоксвирусных инфекций и музеем штаммов и ДНК вируса натуральной оспы (ВНО). В связи с этим, в соответствии с национальными, международными требованиями и рекомендациями Глобальной комиссии ВОЗ в условиях максимально изолированной лаборатории в Центре, проводятся экспериментальные и диагностические работы с ВНО по темам, согласованным с Консультативным комитетом ВОЗ. Лабораторный корпус, в котором проводятся работы с ВНО, является уникальным инженерным сооружением и отвечает всем требованиям, предъявляемым Санитарно-эпидемиологическими правилами «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности) (СП 1.3.3118-13) к максимально изолированным лабораториям (МИЛ), по международной классификации лаборатория соответствует уровню защиты BSL4.

После окончания цикла работ с ВНО, перед открытием «заразной» зоны МИЛ для проведения планово-предупредительного ремонта инженерно-технических систем, обеспечивающих биологическую безопасность работ, в соответствии с требованиями СП 1.3.3118-13 необходимо проводить заключительную дезинфекцию. Целью заключительной дезинфекционной обработки является полная ликвидация возможных загрязнений инфекционным материалом воздуха, поверхностей оборудования и помещений, находящихся в «заразной» зоне лаборатории, исключающая возможность инфицирования персонала, проводящего планово-предупредительный ремонт. Для проведения заключительной дезинфекции помещений «заразных» зон, в которых проводились работы с ВНО, в Центре традиционно используется метод фумигации парами формальдегида, как наиболее эффективный в реальных условиях функционирования «заразной» зоны МИЛ. Приложение 1 к СП 1.3.3118-13 при проведении работ с вирусами I–II групп патогенности в случае чрезвычайных ситуаций предписывает использование формалина в количестве 12,5–17,5 мл/м³ при температуре 20–25 °С и относительной влажности в помещении 60–92 %. При этом обязательным условием проведения дезобработки, является герметизация и выключение приточно-

вытяжной вентиляции помещений. В связи с этим, необходимо было экспериментальным путем определить является ли рекомендованное СП 1.3.3118-13 количество формалина достаточным для достижения полной деkontaminации вентилируемых помещений «заразной» зоны МИЛ большой площади, при соблюдении рекомендованных СП 1.3.3118-13 параметров температуры и влажности.

Альтернативным способом проведения заключительной дезинфекции помещений и оборудования «заразных» зон микробиологических лабораторий, нашедшим широкое применение в настоящее время, является аэрозольный метод дезинфекции, с использованием в качестве обеззараживающего средства пероксида водорода, разных концентраций. Учитывая наличие на отечественном рынке оборудования, предназначенного для этих целей, необходимо было провести исследование его эффективности при проведении заключительной дезинфекции помещений и оборудования «заразной» зоны лаборатории.

Цель исследования – определение микробиологическим методом эффективности заключительной дезинфекционной обработки вирусологических боксированных помещений «заразной» зоны МИЛ фумигацией парами формальдегида, с установлением оптимальных количества формалина. Экспериментальная оценка пригодности генератора аэрозолей «Ультраспрейер Р-60» для заключительной дезинфекции помещений «заразной» зоны «сухим» паром пероксида водорода.

Материалы и методы

Материалы и оборудование. Тест-культура. *Bacillus thuringiensis* ssp. *thuringiensis* 221(H1) депонирован в Коллекции бактерий, бактериофагов, грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» под номером В-911 (В-622), нанесен на тест-объекты в концентрации 1·10⁶ клеток/см² [1].

Генератор аэрозолей. Распылитель (аэрозольный генератор) «Ультраспрейер Р-60» предназначен для холодного (нетермического) распыления растворов дезинфицирующих средств. При распылении образуются аэрозольные частицы размером 1–2 мкм, которые длительное время находятся во взвешенном состоянии в воздухе помещения, проникая в самые труднодоступные места.

Калий марганцовокислый – ГОСТ 20490-75.

Водорода перекись – ГОСТ 177-88.

Формалин технический – ГОСТ 1625-2016.

Мясо (пептонный агар) – ГОСТ Р 52814-2007.

Методы исследования. Оценку эффективности заключительной дезинфекции проводили методом батистовых тест-объектов, контаминированных спорообразующей тест-культурой, приготовленных в соответствии с требованиями руководства «Р 4.2.2643-10. 3.5. Дезинфектология. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Руководство» (утв. Роспотребнадзором 01.06.2010 г.).

Готовые тест-объекты (25 шт. на помещение в каждом эксперименте) размещали на стенах помещения на разной высоте (от 1 до 4 м), на горизонтальных поверхностях, включая пол, потолок, внутри ящиков лабораторных столов, шкафов, холодильника, термостата, в полостях боксов микробиологической безопасности 2–3 классов, технологического оборудования, оргтехники, на задних стенках оборудования и в других труднодоступных местах лаборатории.

Для газовой возгонки формалина использовали калия перманганат. После проведения газовой возгонки формалина с помощью перманганата калия и экспозиции в течение 24 часов тест-объекты помещали в пенфлаконы с 1 мл стерильного физраствора, встряхивали 5–7 мин для элюции микроорганизмов, затем высевали по 0,1 мл на плотную питательную среду (МПА). Смывную жидкость с каждого тест-объекта высевали на 10 чашек Петри. Инкубировали в течение 2–3 сут, при температуре $(32 \pm 2)^\circ\text{C}$, после чего учитывали результаты. Все микробиологические исследования проводили в соответствии с требованиями руководства Р 4.2.2643-10.

Статистическую обработку результатов проводили стандартными методами с помощью пакета компьютерных программ «Statistica 6.0» (StatSoft Inc. 1984–2001) с оценкой достоверности отличий ($p \leq 0,05$) для 95 % доверительного уровня (I_{95}) [2].

Результаты и обсуждение

Как известно, ВНО (*Orthopoxvirus variola*) вызывает инфекционное заболевание человека, относящееся к особо опасным инфекциям. При этом вирус максимально приспособился на молекулярном уровне к преодолению многоярусных механизмов врожденного и адаптивного иммунитета человека [3]. Вирус обладает довольно высокой устойчивостью в окружающей среде, на различных предметах при комнатной температуре сохраняет инфекционную активность в течение нескольких недель и месяцев, не чувствителен к эфиру, легко переносит понижение температуры и высыхание, может сохранять жизнеспособность при замораживании в течение нескольких лет. Натуральная оспа переда-

ется по аэрозольному механизму преимущественно воздушно-капельным и воздушно-пылевым путями. Аэрозоль с возбудителем способен перемещаться с током воздуха на значительное расстояние, поражая людей, оказавшихся в загрязненном помещении, и проникая в соседние помещения. Вирус имеет тенденцию к распространению по инженерным коммуникациям, в частности воздуховодам приточно-вытяжной вентиляции, легко распространяясь в многоэтажных зданиях. Естественная восприимчивость человека – высокая. Не иммунизированные лица, а это значительная прослойка населения, родившегося после 1980 г., в настоящее время не имеет коллективного специфического иммунитета, поэтому с учетом высокой контагиозности ВНО заражение контактных лиц произойдет в подавляющем большинстве случаев [4].

В связи с этим, по окончании проведенной заключительной дезинфекции поверхностей помещений и оборудования, расположенных в «заразной» зоне МИЛ, необходимо гарантированно получать полную инактивацию инфекционного материала.

Экспертной группой ВОЗ, в рамках инспекционного визита в Российский Сотрудничающий Центр ВОЗ по диагностике ортопоксвирусных инфекций и музей штаммов и ДНК вируса натуральной оспы в 2014 г. для оценки эффективности заключительной дезобработки «заразной» зоны МИЛ, рекомендовано использовать тест-объекты на основе спорообразующей тест-культуры с концентрацией не менее $1 \cdot 10^6$ клеток/см². Для этих целей из Коллекции бактерий, бактериофагов, грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» получена спорообразующая бактерия *B. thuringiensis*. При этом дезинфекция считалась проведенной эффективно лишь в случае уменьшения концентрации тест-микроорганизма на тест-объекте не менее чем на 6 lg.

Как отмечалось выше, для проведения заключительной дезинфекции помещений «заразных» зон МИЛ в Центре используется метод фумигации парами формальдегида. Нормативной документацией для целей заключительной дезинфекции помещений «заразной» зоны МИЛ, в которой проводятся работы с ВНО, определено количество формалина для каждого помещения, с учетом его функциональной нагрузки, при условии работы дежурной вентиляции, обеспечивающей декомпрессионный режим в процессе проведения дезобработки. Эти количества в 2,5–3,6 раза превосходили количества формалина, рекомендованные СП 1.3.3118-13 для невентилируемых помещений.

С целью оптимизации процесса заключительной дезинфекции, в части определения оптимальных количеств формалина, необходимых для полной инактивации тест-микроорганизма, нами были проведены сравнительные исследования эффективности дезобработок. При этом сначала формалин брали в количествах, рекомендованных СП 1.3.3118-13 для невентилируемых помещений, а затем постепенно

увеличивали его количество до достижения полной инактивации тест-микроорганизма.

Проведенные нами исследования показали, что в помещениях «заразной» зоны МИЛ большой площади, при условии работы дежурной вентиляции, обеспечивающей декомпрессионный режим в процессе проведения заключительной дезобработки, рекомендованные СП 1.3.3118-13 количества формалина не позволяли достичь 100 % инактивации тест-микроорганизмов. Так, тест-объекты на основе тест-культуры *B. thuringiensis*, фиксированной на биотесте в концентрации $1 \cdot 10^6$ клеток/см², размещенные в труднодоступных местах лабораторных помещений, как описано выше, при посеве на твердые питательные среды оказались жизнеспособны. В результате серии экспериментальных исследований нами установлено оптимальное количество формалина, которое в указанных выше условиях при проведении заключительной дезинфекции помещений «заразных» зон МИЛ давало требуемую эффективность дезобработки. Результаты экспериментов представлены в табл. 1.

Из представленных в таблице данных видно, что фумигация парами формальдегида помещений и оборудования «заразной» зоны МИЛ, приводила к полной инактивации тест-микроорганизма, с падением его концентрации на 6 lg лишь в том случае, если формалин возгонялся в количестве не менее 25 мл/м³. Вероятно, увеличение количества формалина, относительно рекомендованного СП, необходимое для достижения 100 % эффективности заключительной дезинфекции, было связано с предусмотренными учрежденческими нормативными документами особенностями процесса фумигации парами формальдегида помещений МИЛ. В частности, данными документами, при проведении заключительной дезинфекции предписано, что во время фумигации парами формальдегида для поддержания декомпрессионного режима в «заразной» зоне должна работать дежурная вентиляция, неизбежно снижающая концентрацию паров формальдегида в обрабатываемых помещениях.

Таким образом, экспериментальным путем нам удалось установить количество формалина, необходимое для полной инактивации возможных инфекционных загрязнений, потенциально находящихся на поверхностях оборудования и помещений, расположенных в «заразной» зоне МИЛ. В результате исследования установлено, что для эффективной заключительной дезинфекции помещений вентилируемой МИЛ, в которой проводятся исследования с ВНО, необходимо возгонять в 1,4 раза больше формалина, чем рекомендовано СП 1.3.3118-13 для невентилируемых помещений, но в 2–2,5 раза меньше ранее рекомендованного нормативной документацией.

Несмотря на безусловную эффективность заключительной дезинфекции «заразной» зоны МИЛ парами формальдегида, необходимо отметить и недостатки данного метода. В первую очередь, это токсичность, аллергенность и канцерогенность формальдегида для персонала, проводящего дезобработку, длительная экспозиция и трудоемкая процедура отмывки поверхностей от остатков формальдегида, необходимость нейтрализации остаточных количеств формальдегида аммиаком [5]. Недостатки традиционного метода делают актуальным внедрение в практику оборудования, позволяющего автоматизировать процессы фумигации парами формальдегида для исключения контакта персонала с токсичным веществом в процессе проведения заключительной дезинфекции. Не менее актуальным является поиск и внедрение в микробиологическую практику альтернативных, эффективных и безопасных методов проведения заключительной дезинфекции помещений «заразных» зон максимально изолированных лабораторий, в которых проводятся работы с возбудителями особо опасных вирусных инфекций [6, 7, 8].

Одним из нашедших признание в мировой микробиологической практике является метод аэрозольной дезинфекции, в частности «сухим» туманом пероксида водорода [9, 10].

В соответствии с МР 3.5.1.0103-15 «Методические рекомендации по применению метода аэрозольной дезинфекции в медицинских организациях» ан-

Таблица 1/ Table 1

Эффективность фумигации парами формальдегида в вирусологическом боксированном помещении «заразной» зоны (V=144 м³) в зависимости от количества формалина

Effectiveness of fumigation with formaldehyde vapors in the virological cabinet of the «infectious» zone (V = 144 m³), depending on the amount of formalin

Место размещения тест-объекта на основе <i>B. thuringiensis</i> , 10 ⁶ клеток/см ² , м*	Кол-во формалина/кол-во жизнеспособных тест-микроорганизмов, (M ± I ₉₅ , n=5)*		
	12,5 мл/м ³	17,5 мл/м ³	25 мл/м ³
ОСК (стены на разной высоте, пол), м= 5	0	0	0
Горизонтальные поверхности, м= 5	0	0	0
Ящики лабораторных столов, шкафов, м= 5	8±3 КОЕ/мл	4±2 КОЕ/мл	0
Труднодоступные места и обратные поверхности оборудования, м= 5	6±2 КОЕ/мл	3±1 КОЕ/мл	0
Силиконовые трубки, скрытые полости оргтехники (монитор, системный блок), м= 5	10±3 КОЕ/мл	6±2 КОЕ/мл	0

*m – количество тестов в каждом эксперименте; n – количество экспериментов; M – среднее значение; I₉₅ – 95 % доверительный интервал, p < 0,05.

тимикробное действие аэрозолей основано на двух процессах: испарение частиц аэрозоля и конденсация его паров на бактериальном субстрате; выпадение не испарившихся частиц на поверхности и образование бактерицидной пленки.

С целью экспериментальной оценки эффективности проведения заключительной дезинфекции помещений и оборудования «заразных» зон «сухим» паром перекиси водорода, Центром приобретен генератор аэрозолей «Ультраспрейер Р-60», (ООО «Растер», Екатеринбург). Распылитель (аэрозольный генератор) типа «Ультраспрейер» предназначен для холодного (нетермического) распыления растворов дезинфицирующих средств, позволяющего использовать дезинфицирующие средства, неустойчивые к нагреванию. При распылении образуются аэрозольные частицы размером 1–2 мкм, которые длительное время находятся во взвешенном состоянии в воздухе помещения, проникая в самые труднодоступные места. При разделении вещества на мельчайшие частицы резко возрастает площадь активной поверхности препарата, что приводит к уменьшению его расхода (доза распыляемых препаратов составляет 3 мл/м³). Аэрозольные частицы размером 1–2 мкм проникают вглубь клеточных конгломератов, обеспечивая высокое качество дезинфекции, недостижимое в ходе обычной «влажной» уборки. При аэрозольной дезинфекции (аэрозолировании) растворами средства «Дезаргент», содержащим в качестве действующего вещества 6 % перекись водорода и комплексные соли серебра, рекомендованного к использованию с прибором, происходит одновременная дезинфекция воздуха и всех поверхностей (в том числе труднодоступных) в помещении [11].

Экспериментальные исследования эффективности заключительной дезинфекции поверхностей помещений и оборудования в «заразной» зоне МИЛ, проведенные нами с использованием данного обо-

рудования, при условии полной герметизации помещения, дали неоднозначные результаты, представленные в табл. 2. В качестве сравнения использован метод аэрозольного распыления перекиси водорода с помощью пневматической аэрозольной насадки.

Представленные в таблице данные свидетельствуют о более высокой, статистически значимой эффективности обработки помещений с помощью генератора аэрозолей «Ультраспрейер Р-60» по сравнению с ручной обработкой факелом аэрозоля с использованием пневматической аэрозольной насадки. Вместе с тем, при использовании «Дезаргента», полной инактивации тест-микроорганизма в труднодоступных местах оборудования и на труднодоступных поверхностях помещений добиться не удалось, что неприемлемо в случае проведения работ с вирусом натуральной оспы.

При увеличении концентрации перекиси водорода до 10 %, распыляемой «Ультраспрейером Р-60», произошла полная инактивация тест-микроорганизма на обратных поверхностях оборудования, но в скрытых полостях, например в боксах микробиологической безопасности 3 класса, входящих в состав замкнутой технологической линии, в полостях оргтехники (монитор, компьютер), а также внутри силиконовых шлангов, являющихся составной частью экспериментальных установок, полной инактивации тест-объектов добиться не удалось. Вероятно, частицы аэрозоля перекиси водорода, создаваемые прибором «Ультраспрейер Р-60», недостаточно эффективно проникали в полости оборудования, в том случае, когда это оборудование находилось не по ходу факела, создаваемого форсунками распылителя.

Таким образом, в результате проведенных нами исследований по оценке эффективности заключительной дезинфекции фумигацией парами формальдегида помещений «заразной» зоны, в которых проводились работы с ВНО, показано, что при со-

Таблица 2/Table 2

Сравнительная эффективность обработки «сухим» паром перекиси водорода с использованием прибора «Ультраспрейер Р-60» и факелом аэрозоля перекиси водорода с помощью пневматической аэрозольной насадки в вирусологическом боксированном помещении «заразной» зоны лаборатории (V=144 м³)

Comparative effectiveness of the treatment with “dry vapor” of hydrogen peroxide using the “Ultrasprayer R-60” device and the hydrogen peroxide aerosol torch using a pneumatic aerosol nozzle in the virological cabinet of the laboratory “infectious” zone (V = 144 m³)

Место размещения тест-объекта, на основе <i>B. thuringiensis</i> , 10 ⁶ клеток/см ² , m*	Количество жизнеспособных тест-микроорганизмов, (M ± I ₉₅ , n=5)*		
	«Дезаргент» (обработка с помощью распылителя «Ультраспрейер Р-60»)	6 % H ₂ O ₂ с добавлением 0,5 % моющего средства (распыление с помощью пневматической аэрозольной насадки, 200 мл/м ³)	10 % H ₂ O ₂ (обработка с помощью распылителя «Ультраспрейер Р-60»)
ОСК (стены на разной высоте, пол), m= 5	4±2 КОЕ/мл	0	0
Горизонтальные поверхности, m= 5	0	0	0
Ящики мебели, полости оборудования, m= 5	7±2 КОЕ/мл	15±4 КОЕ/мл	0
Труднодоступные места (обратные поверхности оборудования), m= 5	6±2 КОЕ/мл	18±5 КОЕ/мл	0
Силиконовые трубки, шланги, скрытые полости оборудования (БМБ 3 класса), оргтехники (монитор, компьютер), m= 5	12±2 КОЕ/мл	22±5 КОЕ/мл	10±4 КОЕ/мл

*m – количество тестов в каждом эксперименте; n – количество экспериментов; M – среднее значение; I₉₅ – 95 % доверительный интервал; p < 0,05.

хранении декомпрессионного режима во время дезобработки количество дезинфектанта (формалина) должно быть увеличено в 1,4 раза по сравнению с нормами, представленными в СП 1.3.3118-13 для герметичных (невентилируемых) помещений.

При использовании для заключительной дезобработки помещений «заразной» зоны «сухого» пара пероксида водорода показано, что эффективность обработки увеличивается при использовании более концентрированных растворов, но ограниченное обеззараживающее воздействие на тест-микроорганизмы в скрытых полостях оборудования, пока не позволяет рекомендовать этот метод в качестве метода выбора для проведения заключительной дезинфекции помещений, в которых проводились работы с ВНО.

В связи с полученными результатами, экспериментальные исследования по оптимизации условий проведения заключительной дезинфекции «заразных» зон лабораторий Центра фумигацией парами формальдегида с применением оборудования для автоматизации процесса и аэрозольным методом с использованием распылителя «Ультраспрейер Р-60» и пероксида водорода в качестве дезинфектанта, а также аэрозольных генераторов дезсредств других производителей будут продолжены.

Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания ГЗ-27/16.

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

Список литературы

1. De Barjac H., Bonnefoi A. Essai de classification biochimique et serologique de type *Bacillus thuringiensis*. *Entomophaga*. 1962; 7:5–31.
2. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976. 598 с.
3. Щелкунов С.Н. Преодоление ортопоксвирусами защитных систем организма млекопитающих. *Молекулярная биология*. 2011. 45(1):30–43.
4. Гаврилова Е.В., Максюттов Р.А., Щелкунов С.Н. Ортопоксвирусные инфекции: эпидемиология, клиника, диагностика. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 4:82–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-82-88.
5. Сисин Е.И. Сравним технологии обеззараживания воздуха в медицинских организациях. *Санэпидконтроль. Охрана труда*. 2016; 2:75–84.
6. Носик Д.Н., Носик Н.Н. Борьба с вирусами. Дезинфекция. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство»; 2018. С. 113–7.
7. Львов Д.К., редактор. Руководство по вирусологии: вирусы и вирусные инфекции человека и животных. М.: «Издательство «Медицинское информационное агентство»; 2013. С. 403–8.
8. Шестопалов Н.В., редактор. От дезинфекционного дела к современной дезинфектологии (к 80-летию Научно-исследовательского института дезинфектологии). М.: Типография ООО «Русский печатный двор»; 2013. 350 с.
9. Шандала М.Г. Актуальные вопросы общей дезинфектологии: избранные лекции. М.: Медицина; 2009. 112 с.
10. Ямпольский В.А. Проведение аэрозольной дезинфекции помещений ЛПО с помощью аэрозольных генераторов. *Поликлиника*. 2012; 6:52–3.
11. Путирский В.П., Ямпольский В.А. Оценка эффективности режимов работы генераторов высокодисперсной аэрозоли в закрытых помещениях. *Гигиена и санитария*. 2010; 1:94–5.

References

1. De Barjac H., Bonnefoi A. Essai de classification biochimique et serologique de type *Bacillus thuringiensis*. *Entomophaga*. 1962; 7:5–31.
2. Zaks L. Statistical Evaluation. Moscow: Statistics; 1976. 598 p.
3. Shchelkunov, S.N., Overcoming Orthopoxviruses of Protective Systems of the Mammalian Body. *Мolekulyarnaya Biologiya*. 2011. 45(1):30–43.
4. Gavrilova E. V., Maksyutov R. A., Shchelkunov S. N. Orthopoxvirus infections: epidemiology, clinic, diagnosis (review). *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; 4:82–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-82-88.
5. Sisin EI. We compare the technology of air disinfection in medical organizations. *Sanepidcontrol'. Okhrana Truda*. 2016; 2; 75–84.
6. Nosik D.N., Nosik N.N. Fight against viruses. Disinfection. Moscow: Medical Information Agency; 2018: 113–117.
7. Lvov D.K., editor. A guide to virology: viruses and viral infections of humans and animals. Moscow: Medical Information Agency; 2013: 403–408.
8. Shestopalov N.V., editor. From disinfection to modern disinfectology (on the 80th anniversary of the Scientific Research Institute of Disinfectology). Moscow; 2013. 350 p.
9. Shandal M.G. Topical issues of general disinfectology: selected lectures. Moscow: Medicine; 2009. 112 p.
10. Yampolsky V.A. Conducting aerosol disinfection of health facilities with aerosol generators. *Polyklinika*. 2012; 6:52–3.
11. Putyrsky, V.P., Yampolsky, V.A., Assessment of the Efficiency of the Operational Mode of High-Disperse Aerosol Generators in Enclosed Premises. *Gigiena i Sanitariya*. 2010; 1:94–5.

Authors:

Os'kina O.P., Zolin V.V. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

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

Поступила 20.11.18.

Принята к публ. 30.11.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-69-74

УДК 616.98:579.841.95

В.Ю. Охупкина, Н.В. Пяткова, Г.В. Барамзина, О.О. Фоменков, А.К. Федотов

ОПЫТ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУЛЯРЕМИИ

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

Поддержание микроорганизмов в жизнеспособном состоянии при сохранении исходных практически важных свойств является важнейшей проблемой микробиологии. **Целью** настоящих исследований стало изучение сохранности основных биологических свойств лиофилизированных культур 18 штаммов разных подвигов возбудителя туляремии из коллекции микробных культур филиала ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России (г. Киров) с различными условиями предварительной подготовки (с анимализацией через организм морских свинок и без нее). Сроки хранения микробов при отрицательных температурах составили от 5 до 50 лет. **Материалы и методы.** В соответствии с общепринятыми методиками определялась выживаемость микробов в процессе высушивания и последующего хранения, оценивались и сравнивались с паспортными данными морфологические, культуральные, биохимические, антигенные, патогенные свойства культур штаммов *F. tularensis* с различными сроками хранения и условиями подготовки к лиофилизации. **Результаты и обсуждение.** Проведенные исследования показали, что, при условии предварительной стабилизации свойств штаммов возбудителя туляремии методом анимализации, хранение в лиофилизированном состоянии при отрицательных температурах под вакуумом продолжительностью до 50 лет практически в полной мере предохраняет их от изменения фенотипических свойств. В то же время после лиофилизации многократно субкультивированных на плотных питательных средах культур без признаков исходного нарушения свойств обнаруживались явления диссоциации, снижение титров культур в реакции агглютинации от 2 до 4 раз, повышение на порядок величин показателя ЛД₅₀.

Ключевые слова: штамм *F. tularensis*, анимализация, лиофилизация, культурально-морфологические, биохимические, антигенные, патогенные свойства, диссоциация.

Корреспондирующий автор: Охупкина Вероника Юрьевна, e-mail: 23527@mail.ru.

Для цитирования: Охупкина В.Ю., Пяткова Н.В., Барамзина Г.В., Фоменков О.О., Федотов А.К. Опыт длительного хранения штаммов возбудителя туляремии. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 4:69–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-69-74

V.Yu. Okhapkina, N.V. Pyatkova, G.V. Baramzina, O.O. Fomenkov, A.K. Fedotov

Long-Term Storage of Tularemia Agent Strains

Affiliated Branch of the «48th Central Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Kirov, Russian Federation

Abstract. Keeping microorganisms alive, saving initial practically vital properties, is a major issue in microbiology. **Objective** of this research was to study preservation of the key biological properties of lyophilized cultures of 18 *F. tularensis* strains of different subspecies from the cultures collection of the «48 Central Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation under varying conditions of preliminary preparation (including animalization through the guinea pigs' body or without it). The microbe storage life at below-freezing temperatures ranged from 5 to 50 years. **Materials and methods.** The survival of microbes in the process of drying and subsequent storage was determined in accordance with the commonly-accepted methods; morphological, cultural, biochemical, antigenic, and pathogenic properties of *F. tularensis* strain cultures with different storage term and conditions for preparation to lyophilization were assessed and compared with datasheet specification. **The results and conclusions.** The research showed that under preliminary stabilization of *F. tularensis* strain properties using animalization, the storage in lyophilized state at below-freezing temperatures under vacuum for up to 50 years or less protected them from changes in phenotypic properties. At the same time, after lyophilization of cultures, which were repeatedly sub-cultured on dense nutrient media without initial signs of properties' breach, phenomena of dissociation, the decrease in titers of cultures in the agglutination reaction from 2 to 4 times, and an increase in LD50 index by times were found.

Keywords: *F. tularensis* strain, animalization, freeze-drying, cultural-morphological, biochemical, antigenic, pathogenic properties, dissociation.

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

Corresponding author: Veronika Yu. Okhapkina, e-mail: 23527@mail.ru.

Citation: Okhapkina V.Yu., Pyatkova N.V., Baramzina G.V., Fomenkov O.O., Fedotov A.K. Long-Term Storage of Tularemia Agent Strains. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 4:69–74. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-69-74

Received 01.06.18. Revised 14.06.18. Accepted 29.11.18.

Туляремия представляет собой типичное природно-очаговое зоонозное заболевание, распространенное в большинстве регионов мира. Существующая эпидемическая опасность возбудителя туля-

ремии обусловлена высокой восприимчивостью человека к заражению данным микроорганизмом, множественностью путей передачи инфекции в естественных условиях, устойчивостью и активностью

природных очагов, расширением ареала обитания подвидов *Francisella tularensis* [1–4]. В связи с этим интерес к проведению исследований с данным патогенном не ослабевает.

Поддержание микроорганизмов в жизнеспособном состоянии при сохранении исходных практически важных свойств является важнейшей проблемой микробиологии. Одним из основных способов хранения микробных культур в течение продолжительного периода времени, обеспечивающим минимизацию количества генераций штаммов, является лиофилизация, которая позволяет получать большое количество удобных для хранения и транспортировки аликвот микробной культуры (герметизированных ампул) с одинаковыми свойствами [5]. Многие микроорганизмы, в том числе и возбудитель туляремии, могут сохраняться подобным образом достаточно долго [6–8].

Следует отметить, что, по сравнению с другими методами хранения (например, низкотемпературная консервация), сублимационное высушивание характеризуется несколько большим повреждающим действием на микробную клетку [9]. При этом качество получаемых лиофилизированных культур определяется не только техническими характеристиками оборудования и тщательным соблюдением параметров технологического процесса. Огромное значение также имеет методология подготовки микробных культур к лиофилизации и закладке на хранение. Реализация способа хранения культур штаммов патогенных микроорганизмов в лиофилизированном состоянии представляет собой сложный комплекс мероприятий, предполагающий использование для каждого конкретного возбудителя эффективных схем восстановления и стабилизации исходных свойств; сбалансированных питательных сред, обеспечивающих достаточный уровень накопления микробной массы при сохранении стабильности основных биологических свойств микробов; оптимальных по составу защитных сред, условий подготовки и режимов хранения микробных культур.

В процессе лабораторной работы с микробными культурами отмечается вполне закономерное развитие различных по степени выраженности изменений биологических свойств возбудителя. Для восстановления свойств коллекционных культур патогенных микроорганизмов в процессе подготовки к лиофилизации наилучшим образом зарекомендовали себя пассажи через организм восприимчивого животного, обеспечивающие достаточный для практической деятельности уровень однородности микробной популяции. Этот методический подход впервые применен еще в 80-е годы XIX века Л.С. Ценковским, он же ввел для его обозначения понятие «анимализация» [10]. Активное изучение методологии анимализации осуществлялось специалистами нашего института еще в 40–50-е годы прошлого века, в этот же период разработаны различные ее варианты в зависимости от биологиче-

ских особенностей штаммов возбудителя, которые применяются до настоящего времени [11, 12].

Материалы и методы

В исследованиях использовали 18 штаммов разных подвидов возбудителя туляремии из коллекции микробных культур Филиала Федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров) с различными условиями предварительной подготовки (с анимализацией через организм морских свинок и без нее).

Для стабилизации агаровых культур штаммов использовалась разработанная М.М. Файбичем сахарозо-желатиновая лиопротекторная среда [12]. Высушивание проводили в ампулах лабораторного изготовления в объеме 0,5 мл на коллекторной сушильной установке системы К.Е. Долинова

Штаммы хранились в лиофильно высушенном состоянии в ампулах при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ ниже нуля под вакуумом в течение продолжительного времени (от 5 до 50 лет).

Комплексную оценку основных биологических свойств указанных штаммов проводили в соответствии с общепринятыми методиками, изложенными в «Практическом руководстве...» [13]. Для выращивания культур франциселл использовали коммерческую сухую среду FT-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, п. Оболенск). Для определения ферментативной активности культур применяли коммерческие среды Гисса (ФБУН ГНЦ ПМБ, п. Оболенск) с добавлением пептона и цистеина в концентрациях 10,0 и 0,5 г/л соответственно. Антигенные свойства оценивали по величине титра культуры в развернутой реакции агглютинации с сывороткой туляремийной диагностической гипериммунной лабораторного изготовления. Наличие признаков диссоциации изучали при постановке агглютинационной пробы с 0,002 % раствором трипафлавина. При оценке биохимических свойств использовали сертифицированные реактивы в пределах срока годности. Вирулентные свойства микробных культур оценивали при подкожном заражении белых аутбредных мышей обоего пола массой (20 ± 2) г по величине показателя ЛД₅₀. При работе с животными следовали Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123, г. Страсбург, 18.03.1986 г.), Директиве 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях (Официальный журнал Европейского Союза, 22.09.2010 г.).

Перед проведением исследований лиофилизированную культуру каждого штамма в количестве трех ампул ресуспендировали в физиологическом растворе хлористого натрия с добавлением 10 % сы-

воротки крупного рогатого скота для микробиологических целей. В полученных суспензиях определяли содержание живых микробов и рассчитывали их выживаемость после хранения. Затем их высевали на FT-агар в пробирках (для накопления биомассы) и чашках (для получения изолированных колоний) и выращивали при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 48–72 ч. Для дальнейшего изучения использовали культуры первой генерации со среды в пробирках.

Все полученные результаты сравнивали с исходными паспортными данными изучаемых штаммов, а также характеристиками эталонных культур на момент их приготовления.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 и 2 представлены результаты изучения сохранности свойств микробов в длительно хранившихся лиофилизированных эталонных культурах штаммов возбудителя туляремии, которые перед высушиванием предварительно стабилизировали методом анимализации.

Все изученные штаммы сохранили жизнеспособность, при этом уровень выживаемости зависел не столько от сроков хранения, сколько определялся особенностями самих штаммов. Оценка культурально-морфологических свойств показала,

что на FT-агаре в чашках все штаммы формировали гладкие блестящие полусферические с медовым оттенком колонии в S-форме диаметром 1,0–1,5 мм. Колонии культур штаммов, относящихся к подвида *F. tularensis* subsp. *novicida*, отличались более крупными размерами и морфологически представляли собой R-форму. В мазках, окрашенных по Граму, культуры всех штаммов *F. tularensis* представляли собой мелкие грамотрепетельные коккобактерии. Наличие признаков диссоциации в культурах штаммов при постановке триафлавиновой пробы не выявлено, за исключением изолятов подвида *F. tularensis* subsp. *novicida*.

При характеристике биохимических свойств культур штаммов *F. tularensis* обнаружено, что по способности ферментировать глюкозу, лактозу, сахарозу и глицерин, наличию фосфатазной и цитруллинуреидазной активности, продукции сероводорода все они имели типичные для своих подвидов свойства. Отмечалось лишь небольшое снижение интенсивности реакций разложения, выявляемых по степени окрашивания субстратов.

При изучении антигенных свойств культур установлено, что все они агглютинировались специфической диагностической гипериммунной сывороткой до титра 1:1600 – 1:3200, что практически соответствовало данным паспортизации эталонных культур

Таблица 1/Table 1

Характеристика основных биологических свойств эталонных культур штаммов *F. tularensis* subsp. *tularensis* и *F. tularensis* subsp. *novicida* после длительного хранения в лиофилизированном состоянии

Characteristics of key biological properties of reference *F. tularensis* subsp. *tularensis* and *F. tularensis* subsp. *novicida* strain cultures after long-term storage in lyophilized state

Показатель (свойство)	Величина показателя (описание свойства) для эталонной культуры подвида ... штамма ...							
	<i>tularensis</i>						<i>novicida</i>	
	Nevada 14	BH 8859	7000	B-251-K	SchuSD	B 399	402	403
Срок хранения, лет	39	40	39	39	23	35	45	45
Выживаемость микробов ..., процент, $X_{cp} \pm I_{95}$								
после высушивания	35,2±6,5	26,6±5,3	30,3±6,9	27,9±5,3	29,4±6,8	31,0±7,5	18,5±3,7	21,0±3,0
после хранения	31,9±3,9	4,5±2,0	14,6±3,8	12,2±2,9	19,7±4,7	10,2±1,8	4,3±1,6	3,7±1,0
Титр в реакции агглютинации со специфической сывороткой	1:3200	1:1600	1:3200	1:3200	1:1600	1:1600	1:400	1:400
Способность разлагать углеводы:								
глюкозу	+	+	+	+	+	+	+	+
мальтозу	+	+	+	+	+	+	-	-
сахарозу	-	-	-	-	-	-	-	+
лактозу	-	-	-	-	-	-	-	-
глицерин	+	+	+	+	+	+	-	-
Образование сероводорода на среде с цистеином	+	+	+	+	+	+	+	+
Фосфатазная активность	+	+	+	+	+	+	+	+
Цитруллинуреидазная активность	+	+	+	+	+	+	+	+
Вирулентность для белых мышей при подкожном заражении, живые микробы	1	2	1	1	1	1	725	913

Примечание: «+» – наличие свойства; «-» – отсутствие свойства

Таблица 2/Table 2

Характеристика основных биологических свойств эталонных культур штаммов *F. tularensis* subsp. *holarctica* и *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* после длительного хранения в лиофилизированном состоянии

Characteristics of key biological properties of reference *F. tularensis* subsp. *holarctica* and *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* strain cultures after long-term storage in lyophilized state

Показатель (свойство)	Величина показателя (описание свойства) для эталонной культуры подвида ... штамма ...									
	<i>holarctica</i>								<i>holarctica</i> <i>var. japonica</i>	<i>mediasiatica</i>
	Ond.4 №16	19	32	7	134	141	503	15 НИИЭГ	Kosho	543
Срок хранения, лет	34	34	26	50	50	25	13	15	23	13
Выживаемость микробов ..., процент, $X_{cp} \pm I_{95}$										
после высушивания	27,8±4,2	35,0±7,0	38,4±6,9	26,4±5,7	26,0±4,6	25,5±3,8	42,5±9,1	52,9±8,8	23,9±6,6	38,0±7,1
после хранения	9,3±1,3	11,5±2,8	12,0±3,1	17,7±2,9	12,2±2,4	13,0±4,0	18,3±3,7	24,8±4,5	11,0±3,0	15,3±4,3
Титр в реакции агглютинации со специфической сывороткой	1:1600	1:1600	1:1600	1:1600	1:3200	1:3200	1:3200	1:3200	1:3200	1:3200
Способность разлагать углеводы:										
глюкозу	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
мальтозу	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
сахарозу	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
лактозу	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
глицерин	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Образование сероводорода на среде с цистеином	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Фосфатазная активность	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Цитруллинуреидазная активность	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Вирулентность для белых мышей при подкожном заражении, живые микробы	1	1	1	4	3	4	1	251	1	1

Примечание: «+» – наличие свойства; «-» – отсутствие свойства.

на момент их приготовления. Лишь у двух изолятов ВН 8859 и SchuSD *F. tularensis* subsp. *tularensis* титры в реакции агглютинации снизились в 2 раза. Для изолятов подвида *F. tularensis* subsp. *novicida* данный показатель был закономерно ниже, но при этом не отличался от исходных величин. Патогенные свойства культур всех изученных штаммов сохранились практически на исходном уровне.

В табл. 3 представлены результаты аналогичных исследований с имеющимися в распоряжении лиофилизированными культурами штаммов В 399, SchuSD *F. tularensis* subsp. *tularensis* и 503, 15 НИИЭГ *F. tularensis* subsp. *holarctica*. Культуры подверглись десятикратным пересевам на искусственных питательных средах, не имели исходных признаков нарушения стабильности свойств и были высушены без предварительной подготовки (проведения анимализации). Несмотря на то, что сроки хранения указанных культур составили всего лишь от 5 до 7 лет и они характеризовались достаточно высокими уровнями выживаемости микробов, от-

мечается значительное нарушение стабильности их свойств. Обнаруживаются признаки диссоциации при постановке трипафлавиновой пробы, от 2 до 4 раз снизились титры культур в реакции агглютинации, на порядок увеличились величины показателя ЛД₅₀.

Таким образом, проведенные исследования показали важную роль и необходимость использования анимализации для стабилизации свойств культур возбудителя туляремии при подготовке к сублимационному высушиванию и дальнейшему хранению. Изучение анимализированных культур штаммов разных подвигов данного возбудителя, хранившихся в лиофилизированном состоянии в течение длительного периода времени (до 50 лет), позволяет сделать заключение о сохранности их культурально-морфологических, биохимических, антигенных и патогенных свойств.

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

Таблица 3/Table 3

Характеристика основных биологических свойств культур штаммов *F. tularensis* subsp. *tularensis* и *F. tularensis* subsp. *holarctica* после хранения в лиофилизированном состоянии без предварительной анимализации

Characteristics of key biological properties of reference *F. tularensis* subsp. *tularensis* and *F. tularensis* subsp. *holarctica* strain cultures after storage in lyophilized state without preliminary animalization

Показатель (свойство)	Величина показателя (описание свойства) для культуры подвида... штамма ...			
	<i>holarctica</i>		<i>tularensis</i>	
	503	15 НИИЭГ	SchuSD	B 399A-Cole
Срок хранения, лет	5	7	5	5
Выживаемость микробов ..., процент, $X \pm I_{95}$				
после высушивания	38,5	57,9	29,2	37,0
после хранения	27,9	42,2	20,3	27,2
Характер роста на плотной питательной среде в чашках через 72 ч инкубации	Колонии в S-форме диаметром 1,0 мм	Колонии в S-форме диаметром 1,0 мм	Колонии в S-форме диаметром 1,0 мм	Колонии в S-форме диаметром 1,0 мм
Реакция с раствором трипафлавина	Слабо положительная	Отрицательная	Отрицательная	Слабо положительная
Титр в реакции агглютинации со специфической сывороткой	1:800	1:800	1:800	1:800
Способность разлагать углеводы:				
глюкозу	+	+	+	+
мальтозу	+	+	+	+
сахарозу	-	-	-	-
лактозу	-	-	-	-
глицерин	-	-	+	+
Образование сероводорода на среде с цистеином	+	+	+	+
Фосфатазная активность	-	-	+	+
Цитруллинуреидазная активность	-	-	+	+
Вирулентность для белых мышей при подкожном заражении, живые микробы	23	2400	19	31

Примечание: «+» – наличие свойства; «-» – отсутствие свойства

Список литературы

1. Кудрявцева Т.Ю., Транквилевский Д.В., Мокриевич А.Н., Попов В.П., Морозова Н.С., Зароченцев М.В., Мазепа А.В., Окунев Л.П., Холлин А.В., Косилко С.А., Федоров Ю.М., Храмов М.В., Дятлов И.А. Эпизоотическая и эпидемиологическая ситуация по туляремии в Российской Федерации в 2015 г. и прогноз на 2016 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 1:28–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-28-32.
2. Мокриевич А.Н., Тимофеев В.С., Кудрявцева Т.Ю., Уланова Г.И., Карбышева С.Б., Миронова Р.И., Вахрамеева Г.М., Губарева Т.И., Павлов В.М., Дятлов И.А. Выделение среднеазиатского подвида туляремийного микроба на территории Алтайского края. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 1:66–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-66-69.
3. Whipp M.J., Davis J.M., Lum G., de Boer J., Zhou Y., Bearden S.W., Petersen J.M., Chu M.C., Hogg G. Characterization of a *novicida*-like subspecies of *Francisella tularensis* isolated in Australia. *J. Med. Microbiol.* 2003; 52:839–42. DOI: 10.1099/jmm.0.05245-0.
4. WHO Guidelines on Tularemia. Epidemic and Pandemic Alert and Response; 2007. 115 p.
5. Guidance for the operation of biological research centres (BRCs) Part 2. Microorganisms domain 2007. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.oecd.org/sti/biotech/38777417> (дата обращения 05.11.2015 г.).
6. Куллетская М.Б., Нетрусов А.И. Жизнеспособность лиофилизированных микроорганизмов после 50 лет хранения. *Микробиология*. 2011; 80(6):842–6.
7. Похиленко В.Д., Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития. *Известия ВУЗов*. 2009; 4:99–121.
8. Соловьев В.А., Саяпина Л.В., Осина Н.А., Давыдов Д.С., Бондарев В.П. Характеристика фенотипических и генетических свойств вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15НИИЭГ с длительными сроками хранения. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 4:91–95. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-91-95.
9. Грачева И.В., Осин А.В. Механизмы повреждений бак-

терий при лиофилизации и протективное действие защитных сред. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 3:5–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-5-12.

10. Метелкин А.И. Л.С. Ценковский – основоположник отечественной школы микробиологов, 1822–1897. М.: Медгиз; 1950. С. 227–56.

11. Салтыков Р.А., Моторная В.П., Сиротюк Л.В. Опыт 25-летнего изучения стабильности свойств туляремийных вакцинных штаммов. *Микробиология*. 1972; 12:64–70.

12. Файбич М.М. Стабилизация вакцинных препаратов в процессе высушивания и хранения. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1968; 2:59–66.

13. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных и инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.

References

1. Kudryavtseva T.Yu., Trankvilevsky D.V., Mokrievich A.N., Popov V.P., Morozova N.S., Zarochentsev M.V., Mazepa A.V., Okunev L.P., Kholin A.V., Kosilko S.A., Fedorov Yu.M., Khramov M.V., Dyatlov I.A. [Epizootic and Epidemic Situation on Tularemia in the Russian Federation in 2015 and Prognosis for 2016]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; 1:28–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-28-32.
2. Mokrievich A.N., Timofeev V.S., Kudryavtseva T.Yu., Ulanova G.I., Karbysheva S.B., Mironova R.I., Vakhrameeva G.M., Gubareva T.I., Pavlov V.M., Dyatlov I.A. [Isolation of Central Asian Subspecies of Tularemia Agent in the Altai Territory]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2013; 1:66–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-66-69.
3. Whipp M.J., Davis J.M., Lum G., de Boer J., Zhou Y., Bearden S.W., Petersen J.M., Chu M.C., Hogg G. Characterization of a *novicida*-like subspecies of *Francisella tularensis* isolated in Australia. *J. Med. Microbiol.* 2003; 52:839–42. DOI: 10.1099/jmm.0.05245-0.

4. WHO Guidelines on Tularemia. Epidemic and Pandemic Alert and Response; 2007. 115 p.
5. Guidance for the operation of biological research centres (BRCs) Part 2. Microorganismsdomen 2007. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.oecd.org/sti/biotech/38777417> (дата обращения 05.11.2015 г.).
6. Kupletskaya M.B., Netrusov A.I. [Livability of lyophilized microorganisms after 50 years of storage]. *Mikrobiologiya*. 2011; 80(6):842–6.
7. Pokhilenko V.D., Baranov A.M., Detushev K.V. [Long-term storage methods for collection cultures of microorganisms and development trends]. *Izvestiya VUZov*. 2009; 4:99–121.
8. Solov'ev E.A., Sayapina L.V., Osina N.A., Davydov D.S., Bondarev V.P. [Characteristics of Phenotypic and Genetic Properties of Francisella tularensis 15 NIEG Vaccine Strain with an Extended Storage Period]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; 4:91–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-91-95.
9. Gracheva I.V., Osin A.V. [Mechanisms of Damaging Bacteria during Lyophilization and Protective Activity of Shielding Media]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 3:5–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-5-12.
10. Metelkin A.I. [Tsenkovsky L.S. – the Founder of the National Microbiologists School, 1822–1897]. M.: "Medgiz". 1950. P. 227–56.
11. Saltykov R.A., Motornaya V.P., Sirotyuk L.V. [25-year studies of the stability of tularemia vaccine strains' properties]. *Mikrobiologiya*. 1972; 12:64–70.
12. Faibich M.M. [Stabilization of vaccinal preparations in the process of drying and storing]. *Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii*. 1968; 2:59–66.
13. Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. M.: "Shiko" CJSC; 2013. 560 p.

Authors:

Okhapkina V.Yu., Pyatkova N.V., Baramzina, G.V. Fomenkov O.O., Fedotov A.K. Affiliated Branch of the «48th Central Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Kirov, Russian Federation.

Об авторах:

Охапкина В.Ю., Пяткова Н.В., Барамзина Г.В., Фоменков О.О., Федотов А.К. Филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации. Киров, Российская Федерация.

Поступила 01.06.18.

Отправлена на доработку 14.06.18.

Принята к публ. 29.11.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-75-80

УДК 616.98:578.833.29(470)

А.Ю. Попова^{1,2}, А.Н. Куличенко³, Е.Б. Ежлова¹, Н.Д. Пакскина¹, Н.Ф. Василенко³, О.В. Малецкая³,
Д.А. Прислегина³, А.С. Волюнкина³

ОСОБЕННОСТИ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ ПО КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация;

²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Российская Федерация;

³ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Цель. Анализ эпидемиологической ситуации по Крымской геморрагической лихорадке (КГЛ) в Российской Федерации на современном этапе, определение путей совершенствования эпиднадзора и профилактики инфекции. **Материалы и методы.** Использованы донесения и результаты ежегодных эпизоотологических обследований территории природного очага КГЛ, представленные Управлениями Роспотребнадзора, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Южного и Северо-Кавказского федеральных округов, Референс-центром по мониторингу за возбудителем КГЛ, научно-исследовательскими противочумными институтами и противочумными станциями Роспотребнадзора. **Результаты и обсуждение.** Эпидемиологическая ситуация по КГЛ остается нестабильной, ежегодно регистрируются случаи заболевания, в том числе с летальными исходами, сохраняется активность природного очага КГЛ в России, наблюдается расширение его границ в северном направлении. Основные причины неблагоприятной эпидемиологической обстановки по КГЛ в Российской Федерации на современном этапе связаны с увеличением периода активности и численности клещей *Hyalomma marginatum* в связи с благоприятными погодно-климатическими условиями. Разработанный Роспотребнадзором перечень первоочередных мер по стабилизации эпидемиологической ситуации по КГЛ позволил снизить в 2017 г. число больных по сравнению с 2016 г. на 51,9 % практически на всей территории юга России. В 2018 г. заболеваемость КГЛ в 1,5 раза ниже среднееголетних значений (72 больных). Количество случаев КГЛ по сравнению с 2017 г. снизилось в Ставропольском крае в 1,3 раза и в Ростовской области в 1,4 раза. Отмечено увеличение числа больных в Астраханской (в 3 раза) и Волгоградской (в 2,3 раза) областях. В 2011 г. (Ростовская область) и в 2016 г. (Ставропольский край) зарегистрированы нозокомиальные случаи инфицирования возбудителем КГЛ, связанные с несоблюдением противоэпидемического режима в стационарах при оказании лечебной помощи больным, что свидетельствует о необходимости повышения готовности медицинского персонала к поступлению больных с особо опасной инфекцией.

Ключевые слова: Крымская геморрагическая лихорадка, эпидемиологическая ситуация, заболеваемость, *Hyalomma marginatum*, акарицидные обработки.

Корреспондирующий автор: Василенко Надежда Филипповна, e-mail: nfvasilenko@mail.ru.

Для цитирования: Попова А.Ю., Куличенко А.Н., Ежлова Е.Б., Пакскина Н.Д., Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Волюнкина А.С. Особенности эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации на современном этапе. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 4:75–80. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-75-80

A.Yu. Popova^{1,2}, A.N. Kulichenko³, E.B. Ezhlova¹, N.D. Pakskina¹, N.F. Vasilenko³, O.V. Maletskaya³,
D.A. Prislegina³, A.S. Volynkina³

Peculiarities of Epidemiological Situation on Crimean Hemorrhagic Fever in the Russian Federation at the Current Stage

¹Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation;

²Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation; ³Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Objective. The analysis of epidemiological situation on Crimean hemorrhagic fever (CHF) in the Russian Federation at the current stage, identification of ways to improve the epidemiological surveillance and prophylaxis of the disease. **Materials and methods.** Data from statistical documentation and results of annual epizootiological monitoring of the CHF natural focus provided by the Administrations of the Rospotrebnadzor, Centers of Hygiene and Epidemiology in entities of the Southern and the North-Caucasian Federal Districts, Reference Centre for CHF monitoring, Research Anti-Plague Institutions and Plague Control stations were used for work. **Results and conclusions.** The CHF epidemiological situation remains unstable, the cases of the disease (including fatal) are registered every year. High activity of the CHF natural focus persists. The northward expansion of CHF natural focus boundaries is observed. The main causes of the unfavorable CHF epidemiological situation are associated with increase in the numbers and period of activity of ticks *Hyalomma marginatum* due to favorable climatic conditions. The list of priority measures to stabilize the CHF epidemiological situation developed by the Rospotrebnadzor has resulted in decrease in CHF cases by 51.9 % in 2017 compared to 2016 across all the territory of the south of the Russian Federation. The CHF morbidity in 2018 was 1.5 times lower than the average multi-year values (72 CHF patients). The number of CHF cases in comparison to 2017 has decreased by 1.3 times in the Stavropol Territory and by 1.4 times in the Rostov Region. The CHF morbidity has increased in the Astrakhan Region (by 3 times) and Volgograd Region (by 2.3 times). Nosocomial CCHF virus infections cases associated with non-compliance to anti-epidemic regime in hospitals while providing treatment of CHF patients were registered

in 2011 (in the Rostov Region) and in 2016 (in the Stavropol Territory). This highlights the need to improve the training of health-care staff for admission of patients with this particularly dangerous infection.

Key words: Crimean hemorrhagic fever, epidemiological situation, morbidity, *Hyalomma marginatum*, acaricide treatments.

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

Corresponding author: Nadezhda F. Vasilenko, e-mail: nfvasilenko@mail.ru.

Citation: Popova A.Yu., Kulichenko A.N., Ezhlova E.B., Pakskina N.D., Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Prislegina D.A., Volynkina A.S. Peculiarities of Epidemiological Situation on Crimean Hemorrhagic Fever in the Russian Federation at the Current Stage. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 4:75–80. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-75-80

Received 11.10.18. Accepted 06.12.18.

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) представляет серьезную угрозу для эпидемиологического благополучия населения многих стран мира. Случаи данного заболевания ежегодно регистрируются на эндемичной территории Африки, Азии, юго-восточной Европы, в том числе Российской Федерации.

Эпидемическая значимость КГЛ определяется тяжестью клинического течения заболевания с выраженным геморрагическим синдромом, высоким удельным весом летальных исходов (до 30–50 %), отсутствием средств специфической профилактики, расширением нозоареала инфекции в последние годы, возможной контагиозностью при оказании медицинской помощи больным КГЛ [1].

Цель данной работы – анализ эпидемиологической ситуации по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации на современном этапе, определение путей совершенствования эпиднадзора и профилактики инфекции.

Материалы и методы

Для проведения анализа эпидемиологической ситуации по КГЛ использованы еженедельные и окончательные донесения, результаты ежегодных эпизоотологических обследований территории природного очага КГЛ, представленные Управлениями Роспотребнадзора, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Южного (ЮФО) и Северо-Кавказского (СКФО) федеральных округов, Референс-центром по мониторингу за возбудителем КГЛ, научно-исследовательскими противочумными институтами и противочумными станциями Роспотребнадзора.

Результаты и обсуждение

С середины 1990-х годов случаи заболевания КГЛ регистрировались более, чем в 40 странах Европы, Азии и Африки. Неблагополучная эпидемиологическая ситуация отмечается в 16 странах мира в пределах эндемичной по КГЛ территории. Наиболее сложная обстановка сложилась в Турции, Пакистане, Иране и Омане. За последние 6 лет (2012–2017 гг.) в Турции выявлено 2595 больных КГЛ, в Пакистане – 507, в Иране – 120, в Омане – 62. В 2016–2017 гг. резко ухудшилась эпидемическая

ситуация в Афганистане – за два года КГЛ заболели 397 человек, на конец августа 2018 г. уже зарегистрировано 267 больных (более 35 летальных). Кроме того, за восемь месяцев 2018 г. в Иране выявлено 56 случаев КГЛ с 7 летальными исходами, в Ираке – 8 (6 летальных), в Пакистане – 47 (7 летальных). Случаи заболевания КГЛ в 2018 г. также отмечались на территории стран Африки: в Уганде – 5 (2 с летальным исходом), в Мавритании – 1 и в Намибии – 1 (летальный). Вновь зарегистрирован больной в Испании (летальный исход), ранее случаи КГЛ отмечались в 2016 г. (2, в том числе 1 летальный). Выявлен также завозной случай КГЛ в Греции (из Болгарии).

В Российской Федерации КГЛ регистрируется только на юге европейской части страны. В настоящее время полупустынно-степной природный очаг КГЛ занимает обширную территорию 12 субъектов ЮФО и СКФО общей площадью 643 тыс. км², за исключением Республик Адыгея, Северная Осетия-Алания и Чеченской Республики. Эпидемиологическая ситуация последних лет свидетельствует об активизации и расширении границ природного очага КГЛ в Российской Федерации. Кроме того, наблюдается смещение границы ареала возбудителя КГЛ в северном направлении, что создает риск распространения инфекции за пределы южных регионов страны, с вовлечением в эпидемический процесс новых территорий.

В результате молекулярно-генетических исследований изолятов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), выявленных в образцах сывороток крови больных КГЛ и суспензиях клещей, собранных на территории субъектов юга России, установлено, что в природном очаге циркулирует вирус ККГЛ, относящийся к трем генотипам: «Европа-1» (включает 4 субтипа: Va – «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1», Vb – «Волгоград-Ростов-Ставрополь», Vc – «Астрахань-2», Vd – «Крым»), «Африка-3» и впервые описанному генотипу «Калмыкия». Преобладающим генотипом является «Европа-1» [2].

На современном этапе заболеваемость КГЛ в Российской Федерации нарастала с 1999 г. (когда произошла активизация природного очага), наибольшее количество больных выявлено в 2006–2008 гг. В 2009–2010 гг. уровень заболеваемости снизился, с 2013 по 2016 год вновь отмечен ее рост, с 2017 г. – снижение. В период с 1999 по 2017 год в десяти

субъектах юга европейской части России выявлено 2125 больных, у 86 (4,0 %) из них заболевание закончилось летальным исходом [3, 4, 5] (рисунок). По данным Референс-центра по мониторингу за возбудителем КГЛ, в 2018 г. в России зарегистрировано 72 больных КГЛ (1 летальный случай в Кетченеровском районе Республики Калмыкия), в 2017 г. выявлено 79 больных (4 летальных случая).

Известно, что интенсивность эпидемических проявлений КГЛ зависит от численности основного резервуара и переносчика ее возбудителя – иксодовых клещей *Hyalomma marginatum*, на формирование популяции которых оказывают влияние погодноклиматические факторы. При анализе современных особенностей климата территории юга России за последние десятилетия отмечен устойчивый рост как среднегодовых, так и сезонных значений температуры воздуха без выраженной тенденции к снижению (до 2017 г.). Благоприятные погодные условия летнего периода способствуют высокой численности преимагинальных фаз клещей. Сохранение жизнеспособности большинства зимующих особей обеспечивается отсутствием отрицательных температур в течение зимних месяцев. Теплая погода весеннего периода определяет активную жизнедеятельность перезимовавших клещей и начало их питания на прокормителях [1].

Основными причинами обострения эпидемиологической обстановки по КГЛ в Российской Федерации на современном этапе стали увеличение периода активности и численности клещей *H. marginatum* в связи с благоприятными погодноклиматическими условиями. Другой возможный фактор – несоблюдение сроков проведения ранних противоклещевых обработок крупного и мелкого рогатого скота всех форм собственности и природных биотопов, а также недостаточный охват поголовья и пастбищ [6].

Для стабилизации эпидемиологической обстановки по КГЛ в Российской Федерации при подго-

товке к эпидсезону 2017–2018 гг. Роспотребнадзором определен перечень первоочередных мер [7, 8]:

- организация и своевременное проведение в ранневесенний период (март–апрель) противоклещевых обработок пастбищ (с их последующей ротацией), эпидемиологически значимых природных биотопов и сельскохозяйственных животных всех форм собственности, а также акарицидных барьерных обработок с последующим контролем эффективности выполненных мероприятий;

- обеспечение готовности медицинских организаций к оказанию помощи больным КГЛ, создание резерва лекарственных препаратов и препаратов крови;

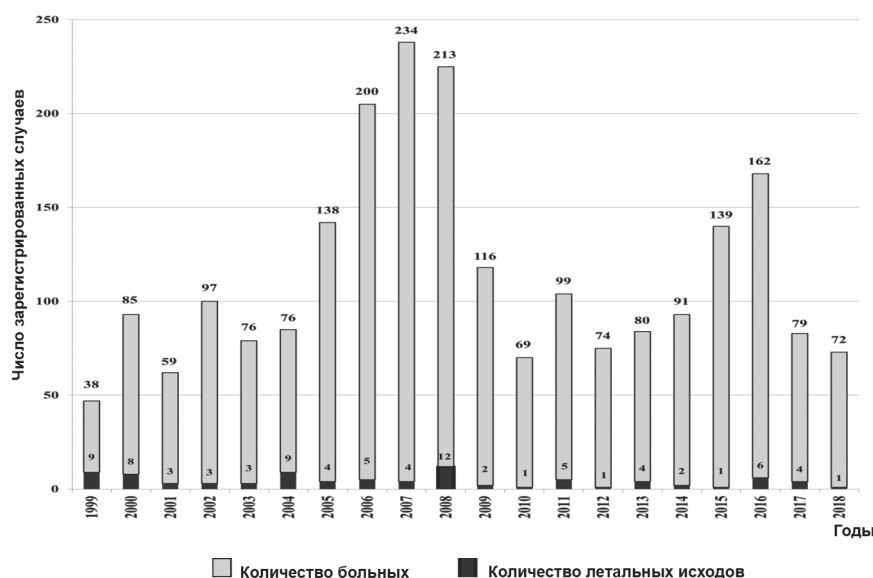
- обеспечение готовности лабораторной базы для проведения исследований биологического и полевого материала на наличие возбудителя КГЛ;

- проведение широкомасштабной информационно-разъяснительной работы с населением о мерах профилактики КГЛ до начала и в течение всего эпидемического сезона.

В Российской Федерации в 2017 г. отмечено снижение заболеваемости КГЛ по сравнению с 2016 г. на 51,9 %. КГЛ регистрировалась в 7 субъектах ЮФО и СКФО, где выявлено 79 случаев заболевания (4 с летальным исходом). Наряду со значительным снижением числа больных КГЛ в Российской Федерации, впервые после 1965 г. в Республике Крым в 2017 г. зарегистрирован случай заболевания местного жителя в Ленинском районе [4].

Снижение уровня заболеваемости КГЛ отмечалось практически на всей территории природного очага. Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения в 2017 г. наиболее высоким был в Республике Калмыкия (4,99), Ростовской области (0,87), Ставропольском крае (0,68).

Снизилось количество лиц, обратившихся в лечебно-профилактические организации (ЛПО) по поводу укусов клещей на 9,8 %, но в то же время отмечено увеличение доли заболеваний с наличием ге-



Динамика заболеваемости КГЛ в Российской Федерации с 1999 по 2018 год

Dynamics of CHF morbidity in the Russian Federation between 1999 and 2018

моррагического синдрома (на 4,9 %).

Заболеваемость КГЛ в 2018 г. в 1,5 раза ниже среднееголетних значений – на 20.09.2018 г. на юге России зарегистрировано 72 больных. Как и в предыдущие годы, наибольшее число случаев заболевания выявлено в Ростовской области (27) и в Ставропольском крае (15). Больные также зарегистрированы в Волгоградской (9) и Астраханской (6) областях, в Республиках Калмыкия (14, 1 летальный) и Дагестан (1).

По сравнению с предыдущим годом заболеваемость снизилась в Ставропольском крае в 1,3 раза и в Ростовской области – в 1,4; на прежнем уровне – в Республиках Калмыкия и Дагестан. Вместе с тем, отмечено увеличение числа больных КГЛ в Астраханской (в 3 раза) и Волгоградской (в 2,3) областях, где наряду с возрастанием уровня заболеваемости, повысилось число обращений в ЛПО по поводу укусов клещами в 1,3 и 1,2 раза соответственно.

Количество лиц, обратившихся в медицинские организации по поводу укусов клещей в 2018 г., составляет 32180, из них 12940 детей, что не превышает максимальных среднееголетних значений.

Сезонность заболеваний во всех эндемичных по КГЛ субъектах соответствует многолетней; в профессиональном составе больных КГЛ, как и в прошлые годы, преобладают безработные и лица пенсионного возраста. Большая часть заражений происходит при уходе за сельскохозяйственными животными (68,4 %). Отмечены случаи инфицирования при выполнении полевых работ (8,9 %) и при нахождении в природных биотопах (5,1 %).

В настоящее время лабораторная диагностика КГЛ у людей и выявление вируса ККГЛ в объектах окружающей среды полностью обеспечены диагностическими тест-системами российского производства для выполнения иммунологических и молекулярно-генетических методов. Лабораторная диагностика основана на специфической индикации возбудителя КГЛ или антител к нему. Молекулярно-генетический (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией) и иммуноферментный методы обладают высокой чувствительностью и специфичностью и позволяют достоверно установить лабораторный диагноз КГЛ.

Вместе с тем на территориях с высокой заболеваемостью КГЛ отмечается низкое количество положительных результатов лабораторного исследования иксодовых клещей на наличие маркеров вируса ККГЛ, что может свидетельствовать о недостатках тактики проводимого эпизоотологического мониторинга.

Диагностические исследования проводятся в лабораториях, имеющих разрешение на работу с возбудителями II группы патогенности. В то же время в ряде субъектов юга России в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» отсутствуют лаборатории особо опасных инфекций и нет обученных специалистов (Чеченская и Карачаево-Черкесская Республики,

Республики Ингушетия и Адыгея).

Несмотря на длительный период эпидемической активности природного очага КГЛ, отмечается недостаточная настороженность медицинского персонала в субъектах ЮФО и СКФО, не являющихся эндемичными по КГЛ. Так, в мае 2016 г. зарегистрирован завоз КГЛ из Волгоградской области в пос. Витязево Анапского района Краснодарского края. Больная (жительница Волгоградской области), находясь на отдыхе, дважды обращалась за медицинской помощью с жалобами на высокую температуру, слабость, носовое кровотечение; не госпитализирована (поставлен диагноз «ОРВИ»). На девятый день болезни, по возвращении в Волгоградскую область, в тяжелом состоянии госпитализирована с диагнозом КГЛ, и, несмотря на проводимое лечение, через четыре дня после госпитализации умерла.

Несвоевременная постановка диагноза КГЛ в стационаре и несоблюдение требований биологической безопасности в стационарах являются причинами внутрибольничных вспышек. Так, нозокомиальный очаг КГЛ зарегистрирован в мае 2011 г. в ЦРБ Сальского района Ростовской области среди медицинских работников, которые проводили реанимационные мероприятия беременной женщине, поступившей в инфекционное отделение с лихорадкой неясной этиологии, диагноз КГЛ поставлен на пятые сутки с момента госпитализации. Инфицированы восемь медицинских работников стационара. Специфическое лечение противовирусными препаратами не проводилось, нарушался дезинфекционный режим и требования биологической безопасности при оказании реанимационной помощи.

В 2016 г. в Ставропольском крае зарегистрирован случай внутрибольничного заражения КГЛ медицинского работника при оказании медицинской помощи больному КГЛ. Инфицирование произошло в результате биологической аварии, случившейся при проведении медицинских манипуляций больному КГЛ (укол кисти руки с прокалыванием кожных покровов и мягких тканей иглой от катетера после проведения внутривенной инъекции).

Выявленные нозокомиальные случаи инфицирования вирусом ККГЛ, связанные с несоблюдением противоэпидемического режима в стационарах при оказании лечебной помощи больным, свидетельствуют о необходимости повышения готовности медицинского персонала к поступлению больных с особо опасной инфекцией.

Отмечены недостатки при проведении акарицидных обработок скота и природных биотопов (пастбищ). В 2018 г. субъектам ЮФО и СКФО запланировано выделение более 112,64 млн руб на акарицидные обработки, по состоянию на 26.07.2018 г. выделено 111,43 млн руб., освоено – 85 % от выделенных средств. Объемы проводимых акарицидных обработок крупного (КРС) и мелкого (МРС) рогатого скота в хозяйствах общественного и особенно

частного сектора остаются недостаточными. Так, в Краснодарском крае обработано 67,7 % КРС и 57,4 % МРС, хотя выделено в 1,5 раза больше финансовых средств на акарицидные обработки, чем запланировано; в Астраханской области – 83,4 % КРС и 30,4 % МРС; в Республике Северная Осетия-Алания – 59,2 % КРС и 43,6 % МРС.

В целях повышения информированности населения о мерах профилактики заболеваний, передающихся при укусах клещами, проводится разъяснительная работа через средства массовой информации, размещается информация на сайтах Управлений Роспотребнадзора. Проведено 210 выступлений по телевидению и 474 – по радио, опубликовано 569 статей в печатных изданиях, издано более 166 тыс. листовок.

Таким образом, эпидемиологическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке на территории юга России остается нестабильной. Несмотря на некоторое снижение общего уровня заболеваемости в целом, на территории отдельных субъектов (Астраханская и Волгоградская области) отмечается рост числа случаев КГЛ. Заражение большинства больных КГЛ во время ухода за сельскохозяйственными животными свидетельствует о высокой заклещевленности крупного рогатого скота индивидуального сектора. Поддержание высокой численности клещей *H. marginatum* обеспечивается погодными условиями, оказывающими благоприятное влияние на все фазы жизненного цикла. Кроме того, наблюдаемые климатические изменения способствуют расширению ареала возбудителя КГЛ со смещением его границ в северном направлении.

Роспотребнадзор уделяет значительное внимание совершенствованию тактики эпидемиологического надзора за этой инфекцией. С учетом имеющегося опыта составления прогноза заболеваемости КГЛ на примере Ставропольского края [1], очевидна актуальность разработки риск-ориентированной системы прогнозного анализа эпидемиологической ситуации для научно-обоснованного планирования профилактических мероприятий на всей территории природного очага КГЛ.

Кроме того, для стабилизации обстановки по КГЛ остается чрезвычайно важным своевременное (март–апрель) проведение акарицидных обработок скота и природных биотопов (пастбищ) с последующим контролем качества работ компетентными специалистами (энтомологами), совершенствование алгоритма эпизоотологического мониторинга, проведение широкомасштабной информационно-разъяснительной работы с населением, подготовка специалистов по вопросам диагностики и лечения КГЛ и четкое взаимодействие всех заинтересованных служб и ведомств по вопросам профилактики КГЛ.

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

Список литературы

1. Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., редакторы. Крымская геморрагическая лихорадка. Воронеж: ООО «Фаворит»; 2018. 288 с.
2. Волынкина А.С., Куличенко А.Н. Современные методы молекулярно-генетического анализа крымской геморрагической лихорадки в системе эпидемиологического надзора. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2016; 1:53–60.
3. Василенко Н.Ф., Смоленский В.Ю., Волынкина А.С., Варфоломеева Н.Г., Заикина И.Н., Малецкая О.В., Ашибовков У.М., Тохов Ю.М., Ермаков А.В., Куличенко А.Н. Особенности эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2011 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 1:22–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-1(111)-22-25.
4. Волынкина А.С., Котенев Е.С., Лисицкая Я.В., Малецкая О.В., Пакскина Н.Д., Шапошникова Л.И., Яценко Е.В., Куличенко А.Н. Анализ заболеваемости Крымской геморрагической лихорадкой в Российской Федерации в 2017 г. и прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:12–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-12-15.
5. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Василенко Н.Ф., Таран Т.В., Семенко О.В., Манин Е.А., Дубянский В.М. Эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым инфекционным болезням в Южном и Северо-Кавказском федеральных округах в 2017 г. (Аналитический обзор). Ставрополь; 2018. 112 с.
6. Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Манин Е.А., Прислегина Д.А., Волынкина А.С., Лисицкая Я.В., Шапошникова Л.И., Таран Т.В., Куличенко А.Н. Причины обострения эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2016 году. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2017; 5:17–23.
7. Об эпидемиологической ситуации по КГЛ в субъектах ЮФО и СКФО в 2016 году и прогнозе заболеваемости на 2017 год. Письмо Роспотребнадзора № 01/801-17-32 от 25.01.2017.
8. Об эпидемиологической ситуации по КГЛ в субъектах ЮФО и СКФО в 2017 году и прогнозе заболеваемости на 2018 год. Письмо Роспотребнадзора № 01/195-2018-32 от 12.01.2018.

References

1. Onishchenko G.G., Kulichenko A.N., editors. [Crimean-Congo Hemorrhagic Fever]. Voronezh: "Favorit" Ltd.; 2018. 288 p.
2. Volynkina A.S., Kulichenko A.N. [Advanced methods of molecular-genetic analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever in epidemiological surveillance system]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie*. 2016; 1:53–60.
3. Vasilenko N.F., Smolensky V.Yu., Volynkina A.S., Varfolomeeva N.G., Zaikina I.N., Maletskaya O.V., Ashibokov U.M., Tokhov Yu.M., Ermakov A.V., Kulichenko A.N. [Peculiar aspects of epidemiological situation on Crimean hemorrhagic fever in the Russian Federation in 2011]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; 1:22–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-1(111)-22-25.
4. Volynkina A.S., Kotenev E.S., Lisitskaya Ya.V., Maletskaya O.V., Pakskina N.D., Shaposhnikova L.I., Yatsmenko E.V., Kulichenko A.N. [Analysis of Crimean hemorrhagic fever morbidity rates in the Russian Federation in 2017 and prognosis for 2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 1:12–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-12-15.
5. Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Prislegina D.A., Vasilenko N.F., Taran T.V., Semenko O.V., Manin E.A., Dubynsky V.M. [Epidemiological Situation on Natural-Focal Infectious Diseases in Southern and North-Caucasian Federal Districts in 2017 (Analytical Review)]. Stavropol; 2018. 112 p.
6. Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Manin E.A., Prislegina D.A., Volynkina A.S., Lisitskaya Ya.V., Shaposhnikova L.I., Taran T.V., Kulichenko A.N. [Causes of epidemiological situation aggravation as regards Crimean hemorrhagic fever in the Russian Federation in 2016]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*. 2017; 5:17–23.
7. [Regarding epidemiological situation on CCHF in Southern and North-Caucasian Federal Districts in 2016 and forecast of morbidity rates for 2017]. The Letter of the Rospotrebnadzor No 01/801-17-32, dated January 25, 2017.
8. [Regarding epidemiological situation on CCHF in Southern and North-Caucasian Federal Districts in 2017 and forecast of morbidity rates for 2018]. The Letter of the Rospotrebnadzor No 01/195-2018-32, dated January 12, 2018.

Authors:

Popova A.Yu. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare; 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation. Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation.

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

Kulichenko A.N., Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Prislegina D.A., Volynkina A.S. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

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

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

Куличенко А.Н., Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Волынкина А.С. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Поступила 11.10.18.

Принята к публ. 06.12.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-81-88

УДК 616.9:614.4(470.63)

Е.В. Чекрыгина¹, А.С. Волынкина², Е.С. Котенев², Я.В. Лисицкая², О.А. Гнусарева², А.Н. Куличенко²**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРОФИЛИРОВАНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ НА ТЕРРИТОРИИ СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ**¹ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» МЗ РФ, Ставрополь, Российская Федерация;²ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Цель работы – проведение молекулярно-генетического типирования штаммов и изолятов нуклеиновых кислот возбудителей природно-очаговых инфекций бактериальной и вирусной этиологии, накопление данных о генетических особенностях региональных штаммов, циркулирующих на территории Ставропольского края. **Материалы и методы.** Для изучения генетического спектра возбудителей природно-очаговых инфекций проводили анализ штаммов и изолятов нуклеиновых кислот возбудителей, выявленных в образцах полевого и клинического материала. Индикацию возбудителей природно-очаговых инфекций в образцах осуществляли методом ПЦР. Для генетического типирования штаммов и изолятов ДНК/РНК возбудителей природно-очаговых инфекций использовали методы MLVA-типирования и секвенирования участков генома с последующим филогенетическим анализом. Анализ территориального распространения генетических вариантов возбудителей природно-очаговых инфекций и построение карт выполняли в программном обеспечении ArcGIS 10.1. **Результаты и выводы.** Выполнены: MLVA-25 типирование 20 штаммов *Francisella tularensis*; MLVA-10 типирование 4 изолятов *Coxiella burnetii*; видовая идентификация 20 изолятов ДНК *Rickettsia* sp.; субвидовое типирование 40 РНК-изолятов вируса ККГЛ и 8 РНК-изолятов хантавирусов, циркулировавших на территории Ставропольского края в 2016–2017 гг. Изученные штаммы *F. tularensis* принадлежат к восьми MLVA генотипам, в основном приуроченным к определенным территориям. Изоляты *C. burnetii* обладают идентичным MLVA-типом. Выявлены риккетсии, относящиеся к 5 видам: *R. massiliae*, *R. raoultii*, *R. sibirica*, *R. aeschlimannii*, *R. slovaca*, РНК-изоляты хантавируса генотипа «Тула», варианты вируса ККГЛ генотипов «Европа-1» и «Европа-3». Полученные данные могут быть использованы при эпидемиологическом анализе возможных случаев инфекционных болезней для определения источника и путей распространения инфекции.

Ключевые слова: природно-очаговые инфекции, Ставропольский край, генетическое типирование.

Корреспондирующий автор: Волынкина Анна Сергеевна, e-mail: volyn444@mail.ru.

Для цитирования: Чекрыгина Е.В., Волынкина А.С., Котенев Е.С., Лисицкая Я.В., Гнусарева О.А., Куличенко А.Н. Генетическое профилирование возбудителей природно-очаговых инфекций, циркулирующих на территории Ставропольского края. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 4:81–88. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-81-88

E.V. Chekrygina¹, A.S. Volynkina², E.S. Kotenev², Ya.V. Lisitskaya², O.A. Gnusareva², A.N. Kulichenko²**Genetic Profiling of the Causative Agents of Natural-Focal Infections, Circulating in the Stavropol Territory**¹Stavropol State Medical University of the Ministry of Health of RF Stavropol, Russian Federation; ²Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was genetic typing of the strains and nucleic acid isolates of causative agents of natural focal infections, both bacterial and viral etiology, accumulation of data on genetic features of regional strains circulating in the Stavropol Territory. **Material and methods.** To study the genetic spectrum of causative agents of natural-focal infections, analysis of the strains and nucleic acids isolates detected in the samples of field and clinical material was carried out. Indication of causative agents of natural focal infections in the samples was carried out by PCR. For genetic typing of the strains and DNA/RNA isolates of natural focal infections agents, MLVA and sequencing of genome regions with subsequent phylogenetic analysis were used. The analysis of territorial distribution of the causative agent genetic variants and mapping was performed in ArcGIS 10.1. **Results and conclusions.** MLVA-25 typing of 20 strains of *Francisella tularensis*, MLVA-10 typing of 4 *Coxiella burnetii* isolates, species identification of 20 isolates of *Rickettsia* sp., sub-species genetic typing of 40 RNA isolates of CCHF virus and 8 RNA isolates of hantaviruses circulating in the Stavropol Territory in 2016–2017 were performed. The studied strains of *F. tularensis* belong to eight MLVA genotypes. They are mainly confined to specific areas. The isolates of *C. burnetii* have the same MLVA type. *Rickettsia*, belonging to 5 species: *R. massiliae*, *R. raoultii*, *R. sibirica*, *R. aeschlimannii*, *R. slovaca*, RNA-isolates of hantavirus of the «Tula» genotype and variants of the CCHF virus of the Europe-1 and Europe-3 genotypes were identified. The obtained data can be used in the epidemiological investigation of possible cases of infectious diseases to determine the source and pathways of infection.

Key words: genetic typing, natural-focal infections, Stavropol Territory.

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

Corresponding author: Anna S. Volynkina, e-mail: volyn444@mail.ru.

Citation: Chekrygina E.V., Volynkina A.S., Kotenev E.S., Lisitskaya Ya.V., Gnusareva O.A., Kulichenko A.N. Genetic Profiling of the Causative Agents of Natural-Focal Infections, Circulating in the Stavropol Territory. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 4:81–88. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-81-88

Received 02.08.18. Revised 29.08.18. Accepted 05.10.18.

Ставропольский край (СК) – крупнейший рекреационный регион Российской Федерации. Близость к Ближнему Востоку и активные связи со странами этого региона обуславливают необходимость постоянной настороженности в плане заноса возбудителей опасных инфекций. В то же время, СК является эндемичным регионом по ряду природно-очаговых инфекций (ПОИ) бактериальной и вирусной этиологии. На территории СК установлена циркуляция *Francisella tularensis*, *Coxiella burnetii*, *Borrelia burgdorferii* s.l., *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia* sp., вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), хантавирусов. В СК ежегодно регистрируется заболеваемость ПОИ, наибольшую актуальность из которых представляют туляремия, Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) и иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ). В 2016 г. зарегистрирован 41 случай заболевания лихорадкой Ку [1, 2].

Для проведения эффективного эпидемиологического мониторинга возбудителей ПОИ, прогнозирования возможных осложнений эпидемиологической обстановки и повышения эффективности профилактических и противоэпидемических мероприятий важна информация о биологических свойствах штаммов возбудителей и особенностях их территориального распространения.

Широкое практическое применение для идентификации микроорганизмов получили методы молекулярно-генетического анализа. Для большинства возбудителей инфекционных болезней бактериальной и вирусной природы разработаны технологии генетического типирования, обладающие различной дискриминирующей способностью и алгоритмами интерпретации результатов: ПЦР-типирование (PCR-RFLP, MLVA), сиквенс-типирование (MLST, секвенирование фрагментов генов), полногеномное секвенирование. Использование методов генетической идентификации возбудителей для эпидемиологического анализа ограничено рядом условий, в т.ч. наличием в открытом доступе баз данных, содержащих, наряду со сведениями о мировом генетическом разнообразии возбудителей, информацию о генетических особенностях штаммов, циркулирующих в отдельных регионах. Создание баз данных, содержащих сведения о генетических особенностях, биологических свойствах, месте и времени выделения региональных штаммов является основой для осуществления молекулярно-эпидемиологического мониторинга возбудителей инфекционных болезней, в т.ч. для анализа ситуации в режиме «реального времени» при возникновении вспышки инфекционного заболевания.

Проведение генетического мониторинга популяций возбудителей на территории СК актуально, в первую очередь, для патогенов, способных вызывать тяжелые формы заболеваний и приводить к массовым вспышкам инфекционных болезней, к которым относятся возбудители особо опасных и природно-очаговых инфекций.

Цель работы – проведение субвидового генетического типирования штаммов и изолятов нуклеиновых кислот (НК) возбудителей ПОИ бактериальной и вирусной этиологии, накопление данных о генетических особенностях региональных штаммов, циркулирующих на территории СК.

Материалы и методы

Для изучения генетического спектра возбудителей ПОИ бактериальной и вирусной этиологии, циркулировавших на территории СК в 2016–2017 гг., проводили молекулярно-генетический анализ штаммов и анализ изолятов НК возбудителей, выявленных в образцах полевого и клинического материала.

Штаммы микроорганизмов. В работе использовано 20 штаммов *F. tularensis holarctica* биовар *II, ery*, выделенных из проб воды (14 штаммов), от грызунов (5 штаммов) и пробы сена (1 штамм), собранных на территории СК в феврале–апреле 2017 г.

Клинический материал. Исследовано 186 проб клинического материала (плазма крови) от лихорадящих больных в СК в 2016 г., полученных из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ставропольском крае».

Полевой материал. Исследовано 824 пула (10241 экзemplя) иксодовых клещей, относящихся к видам: *Boophilus annulatus* – 6 (36), *Dermacentor marginatus* – 72 (498), *D. reticulatus* – 64 (474), *D. niveus* – 17 (59), *Haemaphysalis punctata* – 34 (190), *H. inermis* – 6 (93), *Hyalomma marginatum* – 293 (6020), *H. scupence* – 80 (697), *Ixodes ricinus* – 49 (399), *I. redikorzevi* – 13 (93), *Rhipicephalus rossicus* – 33 (314), *R. sanguineus* – 12 (55), *R. bursa* – 1 (3), *R. turanicus* – 144 (1310), а также 418 проб легкого грызунов и мелких млекопитающих, относящихся к видам: *Crocidura leucodon* (16), *Crocidura suaveolens* (18), *Sorex volnuchini* (2), *Sorex satunini* (8), *Mus musculus* (76), *Apodemus fulvipectus* (16), *Apodemus uralensis* (194), *Apodemus fulvipectus* (5), *Apodemus agrarius* (11), *Arvicola amphibius* (1), *Microtus socialis* (11), *Microtus arvalis* (49), *Cricetulus migratorius* (8), *Cricetus cricetus* (2), *Mesocricetus raddei* (1). Пробы полевого материала собраны в апреле–сентябре 2016 г. при проведении эпизоотологического обследования территории 15 административных районов СК.

Индикация НК возбудителей ПОИ. Пулы иксодовых клещей и пробы крови от лихорадящих больных исследовали методом ПЦР на наличие РНК вируса ККГЛ, ДНК *C. burnetii* и риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок, с использованием наборов реагентов «АмплиСенс® CCHFV-FL», «АмплиСенс® Риккетсии группы КПЛ-FL», «АмплиСенс® *Coxiella burnetii*-FL» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, Россия). Пробы легкого грызунов и мелких млекопитающих исследовали методом ПЦР на наличие РНК хантавирусов в соответствии с ранее описанной методикой [3]. Экстракцию РНК/ДНК из

образцов клинического и полевого материала производили с помощью наборов реагентов «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, Россия), получение комплементарной ДНК – с помощью набора реагентов «РЕВЕРТА-L-100» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва, Россия).

Генетическое типирование штаммов/изолятов НК возбудителей ПОИ. MLVA-типирование *F. tularensis* проводили на основании анализа 25 локусов, по методу, предложенному Johansson, 2004 г. [4].

Генетическое типирование штаммов *C. burnetii* выполняли методом MLVA на основании анализа 10 минисателлитных локусов [5]. Точный размер амплифицированных VNTR локусов определяли с использованием метода капиллярного секвенирования.

Идентификацию изолятов *Rickettsia* sp. проводили на основании анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов 4 генов (*atpA*, *dnaK*, *gltA*, *ompB*) [4].

Генетическую идентификацию вируса ККГЛ выполняли на основании анализа нуклеотидной последовательности трех участков генома вируса: фрагментов кодирующей области S, M и L сегментов размером 537 п.н., 435 п.н. и 437 п.н. соответственно [6].

Для генотипирования РНК-изолятов хантавирусов использовали метод прямого секвенирования фрагмента L-сегмента генома вируса размером 347 п.н. с последующим филогенетическим анализом [3].

Секвенирование нуклеотидных последовательностей ПЦР фрагментов генома вирусов, риккетсий, а также VNTR локусов проводили на генетическом анализаторе «ABI 3130 Genetic Analyser» (Applied Biosystems, США) с набором реагентов «Big Dye Terminator Kit v.3.1».

Биоинформационный анализ результатов MLVA типирования *F. tularensis* и *C. burnetii* выполняли в программе Start 2, для сравнения использовали MLVA-профили, полученные из международной базы данных MLVAbank [7].

Построение филогенетических деревьев на основе нуклеотидных последовательностей фрагментов генома вируса ККГЛ и хантавирусов осуществляли в программе Mega 5.05. с применением метода Neighbor joining по алгоритму Kimura-2.

Анализ территориального распространения генетических вариантов. Привязка координат точек сбора полевого материала и предполагаемых мест заражения больных, к топографической карте Ставропольского края и построение карт выполнено с помощью программного обеспечения ArcGIS 10.1.

Результаты и обсуждение

Индикация возбудителей ПОИ в полевом и клиническом материале. При исследовании методом ПЦР 824 пулов иксодовых клещей, собранных в 2016 г. на территории СК края, в 18 пробах обнаружена РНК вируса ККГЛ, в 123 пробах – ДНК *C. burnetii*, в 245 пробах – ДНК *Rickettsia* sp. Положительные

на наличие РНК вируса ККГЛ клещи относились к видам: *H. marginatum* (15 пулов), *H. scupence* (1) и *R. turanicus* (2). Возбудитель лихорадки Ку выявлен в 10 видах иксодовых клещей: *H. marginatum* (55), *R. turanicus* (43), *D. marginatus* (8), *H. scupence* (4), *B. annulatus* (2), *H. punctata* (3), *I. ricinus* (3), *D. niveus* (2), *D. reticulatus* (1), *R. bursa* (1). Риккетсии группы КПЛ обнаружены в 11 видах клещей: *H. marginatum* (85), *R. turanicus* (84), *H. scupence* (22), *I. ricinus* (14), *D. marginatus* (13), *D. reticulatus* (7), *H. punctata* (5), *D. niveus* (4), *B. annulatus* (3), *R. rossicus* (2) и *R. sanguineus* (1). Иксодовые клещи, инфицированные вирусом ККГЛ, обнаружены на территории 4 административных районов Ставропольского края: Апанащенковского – 10,5 % положительных проб, Левокумского – 6,5 %, Нефтекумского – 2,6 % и Курского – 2,2 %. *C. burnetii* циркулирует на территории 8 административных районов СК, наиболее высокий уровень зараженности клещей выявлен в Левокумском (58,3 %), Нефтекумском (16,3 %) и Курском (15,1 %) районах. Риккетсии группы КПЛ встречаются на территории 10 районов края, наибольшее количество положительных проб выявлено в Нефтекумском (58,8 %), Шпаковском (44,4 %) и Курском (44,3 %) районах.

В результате ПЦР-анализа 418 проб суспензий легкого грызунов и мелких млекопитающих, РНК хантавирусов выявлена в 8 пробах. Инфицированные хантавирусом грызуны относились к трем видам: *Microtus arvalis* (6), *Apodemus agrarius* (1) и *Arvicola amphibius* (1). Циркуляция хантавирусов установлена на территории Шпаковского (уровень инфицированности грызунов – 4,7 %), Труновского (2,8 %) и Красногвардейского (2,2 %) районов Ставропольского края.

Методом ПЦР на наличие РНК вируса ККГЛ, ДНК *C. burnetii* и риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок исследовано 186 проб клинического материала (плазмы крови) от лихорадящих больных в СК в 2016 г., полученных из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ставропольском крае». В результате исследования в 50 пробах выявлена ДНК возбудителя лихорадки Ку, в 62 пробах – РНК вируса ККГЛ. ДНК *C. burnetii* детектирована в материале от больных из 16 административных районов края (наибольшее количество больных выявлено в Нефтекумском (20) и Советском (6) районах), РНК вируса ККГЛ обнаружена в образцах от больных из 18 районов, наибольшее количество – в Апанащенковском (1), Петровском (7), Красногвардейском (6), Нефтекумском (6) и Труновском (6) районах.

Положительные на наличие НК возбудителей ПОИ пробы полевого и клинического материала, использовались для проведения субвидового типирования патогенов.

Генетическое типирование возбудителей ПОИ.

Francisella tularensis. Выполнено MLVA-25 типирование 20 штаммов *F. tularensis*, выделенных в

феврале–апреле 2017 г. из источников водоснабжения в с. Донская Балка (культуры № 1, 7, 17, 21, 23, 26, 137, 154) и с. Константиновское (№ 88, 114, 115, 121, 126, 130) Петровского района, от грызунов, отловленных в с. Донская Балка (№ 58) и с. Николина Балка (№ 6, 63) Петровского района, с. Золотаревка (№ 25) Ипатовского района и с. Надежда (№ 145) Шпаковского района, пробы сена, отобранной в с. Шведино Петровского района.

Исследуемые штаммы относились к 8 MLVA-генотипам, отличающимся по числу tandemных повторов в локусах FT-M3 (11, 12, 17, 20 повторов), FT-M6 (4, 5 повторов), FT-M10 (2, 11 повторов), FT-M20 (3, 4 повтора) и FT-M24 (1, 2 повтора). У всех исследованных штаммов было идентичное число повторов в локусах FT-M1 (3 повтора), FT-M2 (2), FT-M4 (4), FT-M5 (2), FT-M7 (2), FT-M8 (2), FT-M9 (2), FT-M11 (5), FT-M12 (2), FT-M13 (1), FT-M14 (3), FT-M15 (3), FT-M16 (1), FT-M17 (2), FT-M18 (2), FT-M19 (1), FT-M21 (2), FT-M22 (4), FT-M23 (1), FT-M25 (4). На филогенетическом дереве, построенном на основе результатов генотипирования исследуемых штаммов и данных из международной базы MLVAbank, штаммы *F. tularensis*, выделенные на территории СК, принадлежали к генетическим группам B.I, B.III и B.VI (рис. 1).

Штаммы кластера B.I отличаются наличием 5 повторов в локусе FT-M6 и 3 повторов в локусе FT-M20, кластера B.III – 4 повторов в локусе FT-M6 и 3 повторов в локусе FT-M20, кластера B.VI – 4 повторов в локусах FT-M6 и FT-M20. В состав кластера B.I, кроме штаммов из Ставропольского края, также входят штаммы, изолированные в Ростовской области (1983, 1985, 1988 гг.), Чехии (1995), Украине (1990), Словакии (1988), странах Скандинавского полуострова (1984, 1984–1985, 1996). К группе B.III относятся штаммы из Московской области (1949), Республики Крым (1980, 1990), Ростовской области (1988), Республики Калмыкия (1991), Чехии (1995), Швеции (2000), Финляндии (1997). В проведенных ранее исследованиях на территории Ставропольского края выявлены штаммы *F. tularensis*, образующие на филогенетическом дереве в пределах группы штаммов биовара *holarctica* отдельный «Ставропольский» кластер, для штаммов которого характерно наличие двух повторов в локусе FT-M17, различия в пределах кластера выявлены в локусе FT-M3 (выявлено 11, 12, 14 и 15 повторов) [8].

Rickettsia sp. На основании анализа нуклеотидной последовательности 4 генов (*atpA*, *dnaK*, *gltA*, *ompB*) проведена видовая идентификация 20 изолятов ДНК *Rickettsia* sp. выявленных в пулах иксодовых клещей. Сравнение секвенированных последовательностей с данными из базы GenBank с использованием алгоритма BLAST показало их идентичность ДНК риккетсий, относящихся к 5 видам: *R. massiliae* (11 образцов), *R. raoultii* (4), *R. sibirica* (2), *R. aeschlimannii* (2), *R. slovaca* (1) [9]. Идентифицированные виды риккетсий относятся к группе клещевых пятнистых

лихорадок, включающей возбудители, патогенные для человека. Наибольшее медицинское значение среди выявленных видов риккетсий имеет *R. sibirica* – возбудитель североазиатского клещевого риккетсиоза.

Coxiella burnettii. Проведено MLVA-10 типирование четырех изолятов *C. burnettii*, выявленных в 2016 г. в образцах плазмы крови больных лихорадкой Ку из Советского, Благодарненского и Нефтекумского районов СК. Все исследуемые изоляты обладали идентичным VNTR-профилем 4-6-6-4-7-6-3-12-3-11. Сравнение с MLVA генотипами штаммов *C. burnettii* из международной базы данных MLVAbank позволило установить, что исследуемые образцы обладают наибольшим генетическим родством со штаммом R1140, изолированным в России, отличаясь от него по 3 локусам: ms30, ms31 и ms36. Необходимо отметить, что в открытом доступе практически отсутствует информация о генетических особенностях штаммов *C. burnettii*, выделенных на территории РФ.

Вирус ККГЛ. Выполнено генетическое типирование 40 РНК-изолятов вируса ККГЛ из образцов плазмы крови больных КГЛ и суспензий клещей видов *H. marginatum* и *R. turanicus* с достаточной вирусной нагрузкой. Определена нуклеотидная последовательность фрагментов S, M и L сегментов генома вируса размером 538 п.н., 435 п.н. и 437 п.н. Секвенированные нуклеотидные последовательности и референсные геномные последовательности штаммов вируса ККГЛ, принадлежащих к разным генотипам и субтипам вируса, полученные из базы данных GenBank, использовались для проведения филогенетического анализа.

На филогенетических деревьях, построенных по фрагментам S, M и L сегментов генома вируса ККГЛ исследуемые изоляты кластеризовались со штаммами двух генотипов: «Европа-1 (V)» – 39 РНК-изолятов из полевого и клинического материала и «Европа-3 (VII)» – РНК-изолят (130-STV/HU-2016), выявленный в сыворотке крови больного КГЛ, зарегистрированного в с. Безопасное Труновского района (рис. 2 А).

Филогенетический анализ последовательностей фрагментов S и L сегментов, показал, что все исследуемые образцы, в пределах генотипа «Европа-1 (V)», относились к подгруппе Va (типовой штамм STV/HU29223), на филогенетическом дереве по фрагменту M сегмента – к двум генетическим подгруппам: Va и Vb (типовой штамм ROS/HUVLV-100). В результате сравнения кластеровой позиции исследуемых изолятов на филогенетических деревьях по участкам трех сегментов генома, установлена их принадлежность к двум генетическим вариантам: Va-Va-Va (26 РНК-изолятов из клинического материала, 5 – из суспензий иксодовых клещей) и реассортантному варианту Va-Vb-Va (5 РНК-изолятов из плазмы крови больных, 3 – из суспензий клещей). Выявленные генетические

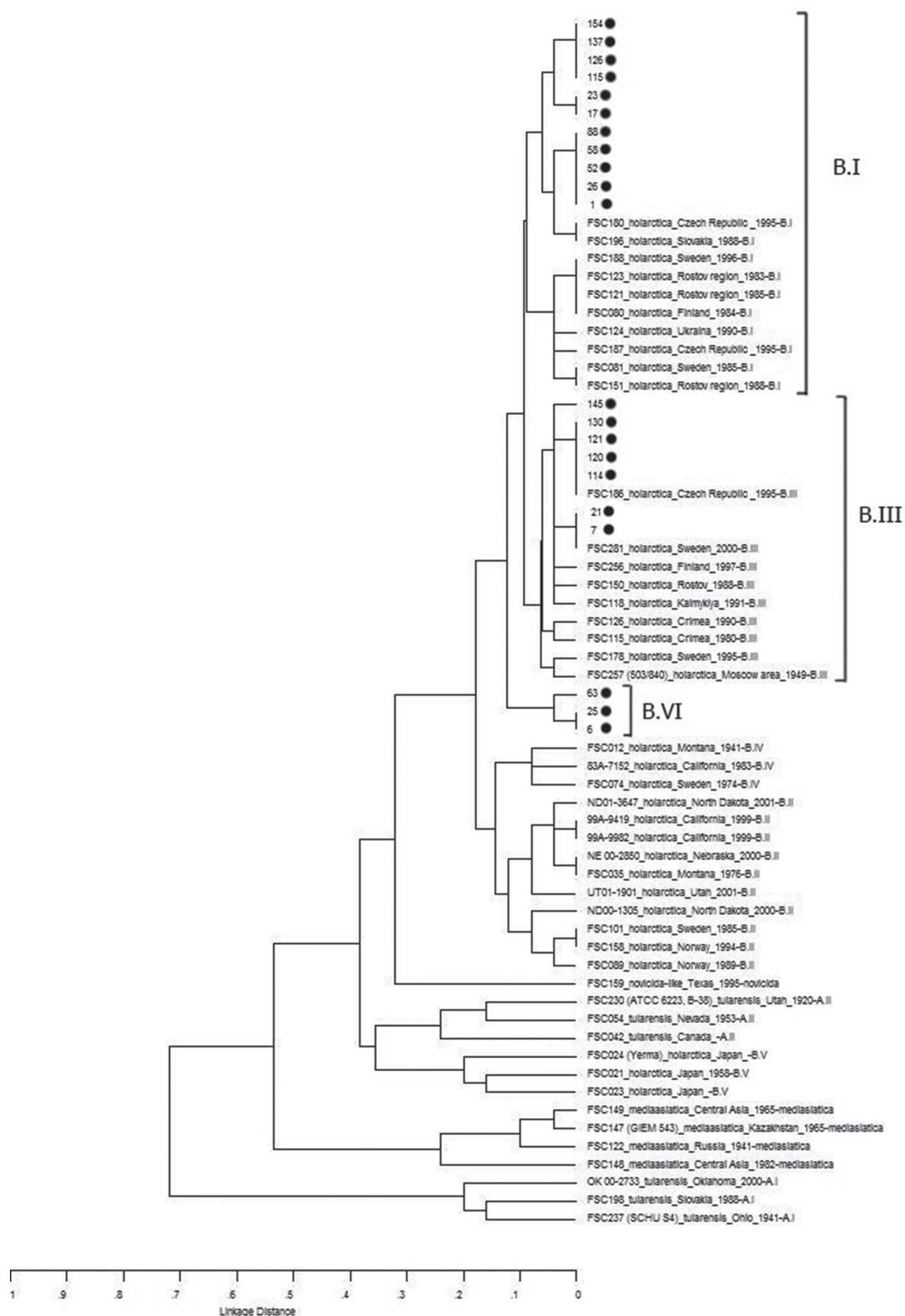


Рис. 1. Дендрограмма, построенная на основе результатов MLVA-25 типирования штаммов *F. tularensis*. Маркерами отмечены штаммы, исследованные в рамках данной работы

Fig. 1. Tree diagram based on the results of MLVA-25 typing of *F. tularensis* strains. Marked are the strains investigated within the frames of the current study

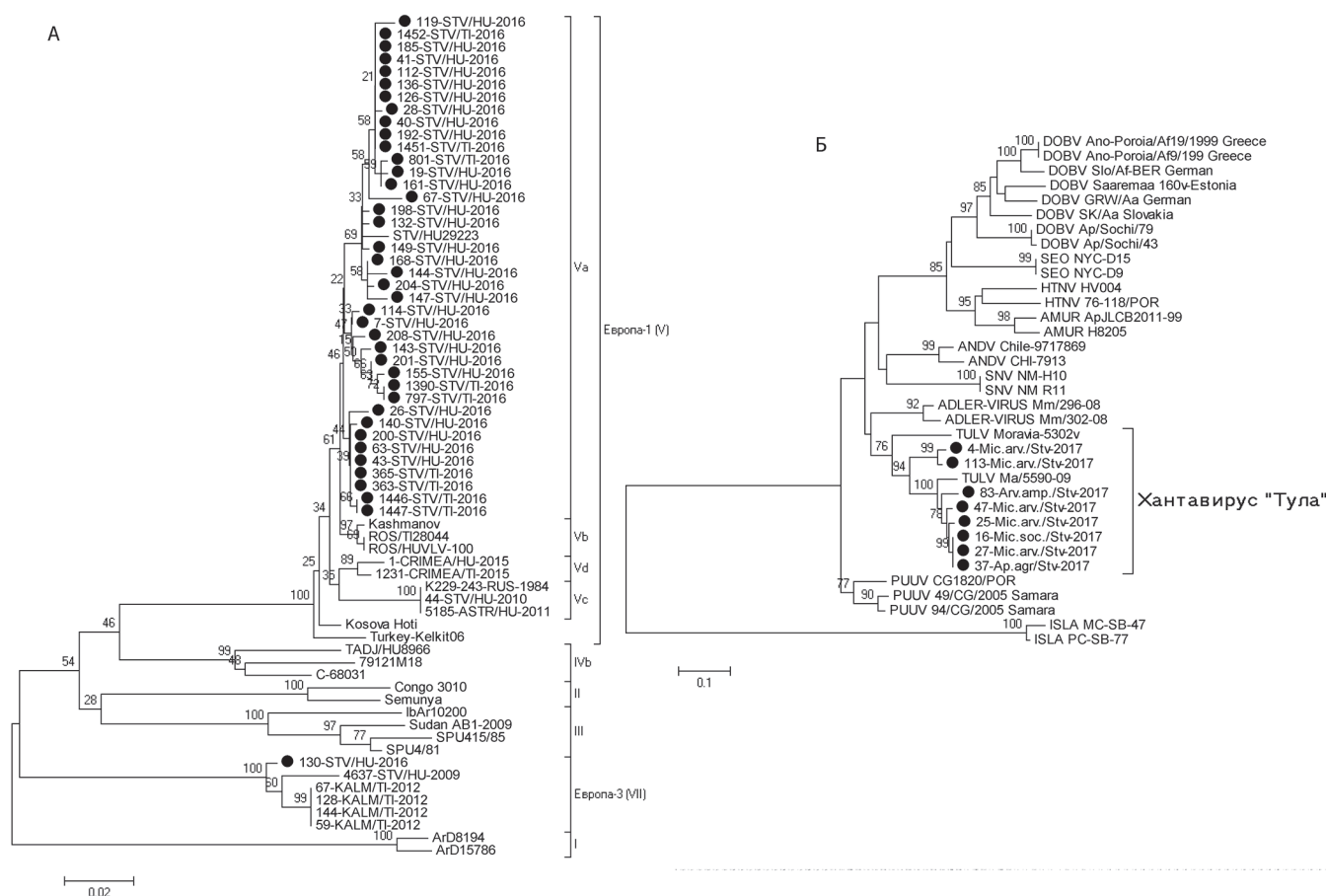


Рис. 2. **А.** Филогенетическое дерево, построенное по фрагменту S сегмента генома вируса ККГЛ (537 п.о). **Б.** Филогенетическое дерево, построенное по фрагменту L сегмента генома хантавирусов (347 п.о). Маркерами отмечены изоляты, исследованные в рамках данной работы

Fig. 2. **A.** Phylogenetic tree drawn by the S fragment of CCHF virus genome (537 bp). **B.** Phylogenetic tree drawn by the L fragment of hantavirus genome segment (347 bp). Marked are the isolates investigated within the frames of the current study

варианты вируса ККГЛ характерны для территории СК. Штаммы генотипа «Европа-1 (V)» преобладают на территории РФ, 99,9 % случаев заболевания КГЛ в России вызвано вирусом ККГЛ этого генотипа. РНК-изоляты вируса ККГЛ генотипа «Европа-3» ранее выявлены в сыворотке крови больного КГЛ из Ставропольского края в 2009 г. (хут. Нижне-Колонский Андроповского р-на) и образцах суспензий клещей *H. marginatum*, собранных в Республике Калмыкия в 2012 г.

Хантавирус. Выполнена генетическая идентификация РНК-изолятов хантавирусов, выявленных в 8 образцах суспензий легкого грызунов: № 16 – *M. socialis* (Шпаковский р-н, пос. Приозерный, 2016 г.); № 25, 27, 47 – *M. arvalis* (Шпаковский р-н, пос. Приозерный, 2016 г.); № 37 – *A. agrarius* (Шпаковский р-н, пос. Приозерный, 2016 г.); № 4 – *M. arvalis* (Труновский р-н, с. Безопасное, 2016 г.); № 83 – *Arvicola amphibius* (Красногвардейский р-н, пос. Пролетарский, 2016 г.); № 113 – *M. arvalis* (Красногвардейский р-н, хут. Медвеженский, 2016 г.). Определена нуклеотидная последовательность фрагмента L сегмента генома вируса размером 347 п.о. При филогенетическом анализе секвенированных

последовательностей генома вируса установлено, что в исследуемых образцах содержится хантавирус «Тула» (рис. 2 Б). Различия нуклеотидной последовательности фрагмента L сегмента исследуемых РНК-изолятов составили 1,8–14,7 %, отличия исследуемых изолятов от других штаммов генотипа «Тула» – 6,1–20,5 %. Таким образом, нами получено доказательство циркуляции хантавируса Тула на территории Ставропольского края. Хантавирус «Тула» впервые выявлен от *M. arvalis* и *M. rossiaemeridionalis*, отловленных в Тульской области РФ в 1994 г., также данный вид хантавируса обнаружен на территории Омской области, Республики Крым, Восточного Казахстана, стран Центральной и Восточной Европы [10]. Переносчиками вируса Тула являются различные виды полевок (род *Microtus*). Хантавирус «Тула» обладает низким патогенным потенциалом для человека.

Территориальная приуроченность генетических вариантов возбудителей ПОИ на территории СК представлена на рис. 3.

В результате проведенной работы впервые осуществлено комплексное молекулярно-генетическое профилирование возбудителей ПОИ на территории

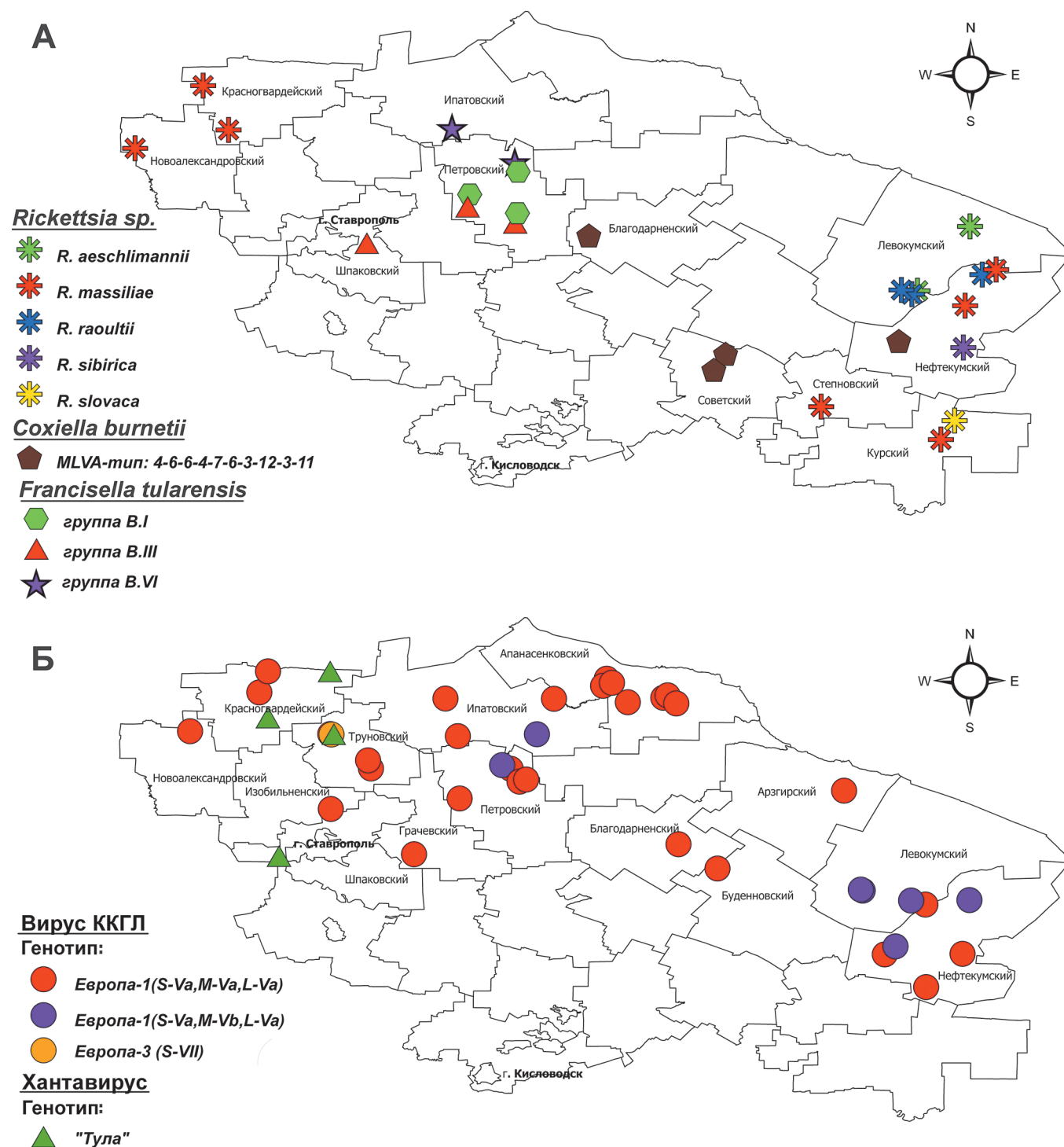


Рис. 3. Места выделения изолятов возбудителей природно-очаговых инфекций, циркулировавших на территории Ставропольского края в 2016–2017 гг.

Fig. 3. Sites of isolation of natural-focal infections agents that circulated in the Stavropol Territory in 2016–2017

отдельного региона – Ставропольского края. На основании генетической идентификации изолятов определены особенности региональных популяций возбудителей ПОИ. Получены новые данные о генетической гетерогенности штаммов *F. tularensis* и *C. burnetii*, циркулирующих на территории СК. Впервые доказана инфицированность грызунов в СК хантавирусом «Тула», получены сведения о ви-

довом разнообразии изолятов риккетсий группы КПЛ. Проведена оценка эпидемического потенциала возбудителей ПОИ на территории СК: низким патогенным потенциалом для человека обладают хантавирус генотипа «Тула», выявленные виды риккетсий группы КПЛ, наибольшей эпидемической значимостью обладают выявленные варианты вируса ККГЛ, *F. tularensis*, *C. burnetii*.

Продолжение начатых исследований позволит уточнить особенности фоновых генетических вариантов возбудителей ПОИ на этой территории, оценить динамику и направленность вероятных изменений. Полученные данные будут использованы при эпидемиологическом анализе возможных случаев (вспышек) инфекционных болезней для определения источника и путей распространения инфекции.

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

Список литературы

1. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф., Манин Е.А., Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Григорьев М.П. Эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым инфекционным болезням в Южном, Северо-Кавказском и Крымском федеральных округах в 2015 г.: аналитический обзор. Ставрополь: Литера; 2016. 95 с.
2. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф., Манин Е.А., Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Григорьев М.П., составители. Эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым инфекционным болезням в Южном и Северо-Кавказском федеральном округах в 2016 г. Аналитический обзор. Ставрополь: Литера; 2017. 164 с.
3. Klempa B., Fichet-Calvet E., Lecompte E., Auste B., Aniskin V., Meisel H., Denys C., Koivogui L., ter Meulen J., Krüger D.H. Hantavirus in African Wood Mouse, Guinea. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(5):838–40. DOI:10.3201/eid1205.051487.
4. Johansson A., Farlow J., Larsson P., Dukerich M., Chambers E., Byström M., Fox J., Chu M., Forsman M., Sjöstedt A., Keim P. Worldwide Genetic Relationships among *Francisella tularensis* Isolates Determined by Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis. *J. Bacteriol.* 2004; 186(17):5808–18. DOI: 10.1128/JB.186.17.5808-5818.2004.
5. Arricau-Bouvery N., Hauck Y., Bejaoui A., Frangoulidis D., Bodier C.C., Souriau A., Meyer H., Neubauer H., Rodolakis A., Vergnaud G. Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates by infrequent restriction site-PCR and MLVA typing. *BMC Microbiology.* 2006; 6:38. DOI: 10.1186/1471-2180-6-38.
6. Куличенко А.Н., Волынкина А.С., Котенев Е.С., Писаренко С.В., Шапошникова Л.И., Лисицкая Я.В., Василенко Н.Ф., Цыганкова О.И., Евченко Ю.М., Тохов Ю.М., Савельев В.Н., Тихонов С.Н., Пеньковская Н.А. Новый генетический вариант вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, выявленный в Крыму. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2016; 34(2):76–80. DOI: 10.18821/0208-0613-2016-34-2-76-80.
7. MLVAbank for Microbes Genotyping [Электронный ресурс]. URL: <http://microbesgenotyping.i2bc.paris-saclay.fr/databases/view/524/2?panel=911> (дата обращения 15.06.2018 г.).
8. Тимофеев В.С., Кудрявцева Т.Ю., Мокриевич А.Н., Павлов В.М., Дятлов И.А. Молекулярное типирование штаммов *Francisella tularensis* методом мультилокусного анализа вариабельности числа тандемных повторов. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2014; 1:8–15.
9. Torina A., Fernández de Mera I.G., Alongi A., Mangold A.J., Blanda V., Scarlata F., Di Marco V., de la Fuente J. *Rickettsia conorii* Indian Tick Typhus Strain and *R. slovaca* in Humans, Sicily. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(6):1008–10. DOI:10.3201/eid1806.110966.
10. Яшина Л.Н., Зайковская А.В., Протопопова Е.В., Бабкин И.В., Малышев Б.С., Товпинцев Н.Н., Евстафьев И.Л. Хантавирус Тула на территории Крыма. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2015; 33(4):38–40.

References

1. Kulichenko A.N., Maletskaia O.V., Vasilenko N.F., Manin E.A., Prislegina D.A., Dubiansky V.M., Grigor'ev M.P. [Epidemiological situation on natural-focal infectious diseases in Southern, North-Caucasian and Crimean Federal Districts in 2015: analytical review]. Stavropol: "Litera"; 2016. 95 p.
2. Kulichenko A.N., Maletskaia O.V., Vasilenko N.F., Manin E.A., Prislegina D.A., Dubiansky V.M., Grigor'ev M.P., contributors. [Epidemiological situation on natural-focal infectious diseases in Southern, North-Caucasian and Crimean Federal Districts in 2016: analytical review]. Stavropol: "Litera"; 2017. 164 p.
3. Klempa B., Fichet-Calvet E., Lecompte E., Auste B., Aniskin V., Meisel H., Denys C., Koivogui L., ter Meulen J., Krüger D.H. Hantavirus in African Wood Mouse, Guinea. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(5):838–40. DOI:10.3201/eid1205.051487.
4. Johansson A., Farlow J., Larsson P., Dukerich M., Chambers E., Byström M., Fox J., Chu M., Forsman M., Sjöstedt A., Keim P. Worldwide Genetic Relationships among *Francisella tularensis* Isolates Determined by Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis. *J. Bacteriol.* 2004; 186(17):5808–18. DOI: 10.1128/JB.186.17.5808-5818.2004.
5. Arricau-Bouvery N., Hauck Y., Bejaoui A., Frangoulidis D., Bodier C.C., Souriau A., Meyer H., Neubauer H., Rodolakis A., Vergnaud G. Molecular characterization of *Coxiella burnetii* isolates by infrequent restriction site-PCR and MLVA typing. *BMC Microbiology.* 2006; 6:38. DOI: 10.1186/1471-2180-6-38.
6. Kulichenko A.N., Volynkina A.S., Kotenev E.S., Pisarenko S.V., Shaposhnikova L.I., Lisitskaya Ya.V., Vasilenko N.F., Tsygankova O.I., Evchenko Yu.M., Tokhov Yu.M., Savel'ev V.N., Tikhonov S.N., Pen'kovskaya N.A. [New genetic variant of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus detected in Crimea]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya, i Virusologiya.* 2016; 34(2):76–80. DOI: 10.18821/0208-0613-2016-34-2-76-80.
7. MLVAbank for Microbes Genotyping [Internet] (cited 15 Jun 2018). Available from: <http://microbesgenotyping.i2bc.paris-saclay.fr/databases/view/524/2?panel=911>.
8. Timofeev V.S., Kudryavtseva T.Yu., Mokrievich A.N., Pavlov V.N., Dyatlov I.A. [Molecular typing of *Francisella tularensis* strains using multi-locus VNTR analysis]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya, i Virusologiya.* 2014; 1: 8–15.
9. Torina A., Fernández de Mera I.G., Alongi A., Mangold A.J., Blanda V., Scarlata F., Di Marco V., de la Fuente J. *Rickettsia conorii* Indian Tick Typhus Strain and *R. slovaca* in Humans, Sicily. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(6):1008–10. DOI:10.3201/eid1806.110966.
10. Yashina L.N., Zaikovskaya A.V., Protopopova E.V., Babkin I.V., Malyshev B.S., Tovpinets N.N., Evstaf'ev I.L. [Hantavirus of the «Tula» genotype in the territory of Crimea]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya, i Virusologiya.* 2015; 33 (4): 38–40.

Authors:

Chekrygina E.V. Stavropol State Medical University. Stavropol, Russian Federation.

Volynkina A.S., Kotenev E.S., Lisitskaya Ya.V., Gnusareva O.A., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Чекрыгина Е.В. Ставропольский государственный медицинский университет. Российская Федерация, 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310. E-mail: Chekrygina-e@mail.ru.

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

Поступила 02.08.18.

Отправлена на доработку 29.08.18.

Принята к публ. 05.10.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-89-93

УДК 578.833.29(571.1/5)

Л.Н. Яшина¹, С.А. Абрамов², Т.А. Дупал², В.В. Якименко³, А.К. Танцев³, Б.С. Малышев¹,
М.Ю. Карташов¹

ХАНТАВИРУСЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ НАСЕКОМОЯДНЫХ НА ТЕРРИТОРИИ СИБИРИ

¹ФБУН «Государственный Научный Центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация;²Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация; ³ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», Омск, Российская Федерация

Цель работы: исследование хантавирусов в новом природном резервуаре – насекомоядных, их многообразие и распространения на территории Западной и Восточной Сибири. **Материалы и методы.** Бурозубки рода *Sorex* (71 особь) отловлены на территории Республики Алтай, Алтайского, Красноярского краев и Омской области. Все образцы выделенных РНК проанализированы методом обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции с последующим секвенированием. **Результаты и выводы.** Генотипированы 12 РНК изолятов вируса, выделенных от двух видов бурозубок – обыкновенной (*S. araneus*) и бурой (*S. roboratus*). Анализ последовательностей L- и S-сегментов вирусного генома выявил циркуляцию двух видов хантавирусов. В Алтайском крае у бурой бурозубки (*S. roboratus*) обнаружен вирус Кенкеме (KKMV), ранее найденный в географически удаленных точках Республики Саха и Китая. Новые очаги циркуляции вируса Сивис (SWSV) среди обыкновенных бурозубок (*S. araneus*) установлены на территории Омской области, Алтайского и Красноярского краев. Суммируя новые и ранее полученные данные, можно заключить, что хантавирусы в популяциях насекомоядных широко распространены на территории Российской Федерации. Установленная на территории Сибири широкая циркуляция вирусов SWSV и KKMV дает веские основания для исследования роли выявленных вирусов в патологии человека.

Ключевые слова: хантавирус, насекомоядные, Сибирь.

Корреспондирующий автор: Яшина Людмила Николаевна, e-mail: yashina@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Яшина Л.Н., Абрамов С.А., Дупал Т.А., Якименко В.В., Танцев А.К., Малышев Б.С., Карташов М.Ю. Хантавирусы в популяциях насекомоядных на территории Сибири. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 4:89–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-89-93

Л.Н. Yashina¹, S.A. Abramov², T.A. Dupal², V.V. Yakimenko³, A.K. Tantsev³, B.S. Malyshev¹,
M.Yu. Kartashov¹

Hantaviruses in Insectivore Populations in Siberia

¹State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;²Institute of Systematics and Ecology of Animals, RAS Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation;³Omsk Research Institute of Natural-Foci Infections, Omsk, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was investigation of hantaviruses in a new natural reservoir – insectivores, their diversity and geographic distribution in the Western and Eastern Siberia. **Materials and methods.** Sorex shrews (71 specimens) were captured in Altai Republic, Altai, and Krasnoyarsk Territories, and Omsk Region. All samples were analyzed for hantavirus RNA using reverse transcription polymerase chain reaction with subsequent sequencing. **Results and conclusions.** A total of 12 viral RNA isolates from two *Sorex* species (*S. araneus* and *S. roboratus*) were genetically typed. Sequence analysis of the partial L and S segments identified two distinct hantaviruses. Kenkeme (KKMV) virus was detected in a flat-skulled shrew (*S. roboratus*) in Altai Territory. This virus was previously found in geographically remote sites in the Sakha Republic and China. New foci of Seewis virus circulation among common shrews (*S. araneus*), were found in the Omsk Region, Altai and Krasnoyarsk Territories. Previously published and new findings suggest that hantaviruses among shrews are widely distributed over the Russian Federation territory. The widespread circulation of SWSV and KKMV throughout Siberia is an important argument for investigation of their role in human infections.

Key words: hantavirus, insectivores, Siberia.

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

Corresponding author: Liudmila N. Yashina, e-mail: yashina@vector.nsc.ru.

Citation: Yashina L.N., Abramov S.A., Dupal T.A., Yakimenko V.V., Tantsev A.K., Malyshev B.S., Kartashov M.Yu. Hantaviruses in Insectivore Populations in Siberia. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 4:89–93. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-89-93

Received 11.10.18. Accepted 29.11.18.

Хантавирусы (род *Orthohantavirus* семейства *Bunyaviridae*) принадлежат к числу наиболее важных зоонозных патогенов человека, передающихся воздушно-пылевым путем, и, поэтому, являются объектом усиливающегося изучения во всем мире [1]. Данные о видовом разнообразии хантавирусов, круге их млекопитающих хозяев и распространении являются ключевыми при разработке стратегии борьбы с

инфекцией. В течение 30 лет после открытия первого хантавируса грызуны отряда *Rodentia* считались основным природным резервуаром хантавирусов. Исследования последних лет установили, что хантавирусы могут инфицировать более широкий круг млекопитающих хозяев, в частности насекомоядных подотряда *Soricomorpha* (кроты и бурозубки) и рукокрылых отряда *Chiroptera* (летучие мыши) [2].

Начиная с 2007 г. началось активное изучение хантавирусов в новых природных резервуарах, их видового состава, распространения и патогенного потенциала. Эти исследования привели к открытию 24 новых хантавирусов среди насекомых и 5 видов хантавирусов среди летучих мышей в географически удаленных районах на трех континентах [3]. Наиболее важным фактом явилось доказательство инфицирования людей хантавирусами, циркулирующими среди насекомых и рукокрылых в Индии и Африке [4, 5].

Особенности экологии насекомых и рукокрылых являются серьезной предпосылкой для заражения людей вирусами, которые инфицируют этих млекопитающих [6]. Насекомоядные (бурозубки) хорошо приспосабливаются к антропогенным ландшафтам и могут использовать предметы человеческого обихода в своих целях. В пригородных лесах, где преимущественно расположены дачные общества и ведется хозяйственная деятельность человека (по обработке участков, сбору грибов, ягод и орехов), численность насекомых сравнима с численностью грызунов. Эти экологические особенности могут приводить к заражению людей вирусами насекомых.

Установленная патогенность для человека ряда хантавирусов, циркулирующих в популяциях насекомых, дает основание для изучения их видового разнообразия и распространения среди насекомых на территории РФ. В настоящее время в отдельных регионах азиатской части России в популяциях бурозубок рода *Sorex* установлена циркуляция четырех видов хантавирусов: Seewis (SWSV), Altai (ALTV), Artybash (ARTV), Kenkeme (KKMV) [7, 8, 9, 10].

Целью исследования явилось дальнейшее изучение циркуляции хантавирусов среди насекомых на территории Западной и Восточной Сибири, их видового состава и распространения.

Материалы и методы

Экспедиции по отлову мелких млекопитающих и сбору образцов биоматериала проведены в различных ландшафтах Западной и Восточной Сибири (Республике Алтай, Алтайском и Красноярском краях, Омской области) в период 2007–2009 и 2017 гг.

Отлов мелких млекопитающих и отбор образцов осуществляли в соответствии с протоколом и рекомендациями по безопасной работе согласно МУ 3.1.1029-01. Отобранные ткани легких помещали в жидкий азот, либо в стабилизирующий раствор RNeasy lysis buffer (QIAGEN GmbH, Германия) для последующего выделения РНК и ее анализа методом обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР). Для подтверждения таксономической принадлежности бурозубок, определенной экспертами-зоологами, проведено определение и сравнение с базой данных GenBank фрагмента гена цитохрома b

митохондриальной ДНК зверьков.

Вирусную кДНК синтезировали с использованием обратной транскриптазы RevertAid Premium (Thermo Scientific, США) и родоспецифического праймера HPS (5'-TAGTAGTAGACTCC). Продукты двухраундовой амплификации получали с использованием двух серий праймеров по стандартному протоколу с использованием Hot start Taq ДНК-полимеразы производства фирмы «Сибэнзим» (Новосибирск). Первая серия праймеров и условия проведения реакции описаны ранее [11], вторая серия праймеров выбрана авторами и описана в [10].

Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли с помощью алгоритма MUSCLE в программе MEGA7. Для построения филогенетических деревьев использован метод максимального правдоподобия (Maximum Likelihood) с моделью эволюции Tamura-Nei. Вычисления проводили для 500 итераций.

Результаты и обсуждение

Мелкие млекопитающие отловлены на территории Республики Алтай, Алтайского и Красноярского краев и Омской области. Всего собраны образцы тканей от 71 особи бурозубок рода *Sorex*, из которых обыкновенных бурозубок (*Sorex araneus*) – 50 особей; бурых бурозубок (*S. roboratus*) – 2, равнозубых бурозубок (*S. isodon*) – 10, средних бурозубок (*S. caecutiens*) – 8, малых бурозубок (*S. minutus*) – 1.

Все образцы протестированы методом ОТ-ПЦР с использованием родоспецифических праймеров для L-сегмента генома. Хантавирусная РНК была выявлена в образцах от 12 бурозубок, отловленных в исследованных ключевых участках: озеро Телецкое (Республика Алтай), Солтон и Покровка (Алтайский край), Парная и Средняя Шушь (Красноярский край), Река Шишь (Омская область) (таблица). РНК-положительные образцы из новых очагов далее анализировали с использованием праймеров к S-сегменту генома. Полученные нуклеотидные последовательности депонированы в банке данных GenBank под номерами MG279208-MG279218, MK005196-MK005200. Филогенетический анализ частичной 426-нуклеотидной последовательности гена цитохрома b, идентифицировал носителей вируса как *S. araneus* и *S. roboratus* (номера в банке данных MG279219-MG279221, GQ355606-GQ355620).

Анализ последовательностей L- (2968–3313 н.о.) и S-сегментов (407–1243 н.о.) генома новых РНК изолятов от *S. araneus* показал их принадлежность к вирусу SWSV, ранее выявленному от обыкновенной бурозубки на территории Европы и в Сибири [10, 12]. Установлено, что новые вирусные последовательности близки к сибирским генетическим вариантам вируса SWSV и отличаются от опубликованных РНК изолятов вируса на 2,2–10,2 % по нуклеотидным (0–1,7 % по кодируемым аминокислотным) последовательностям L-сегмента, на 1,4–8,9 % (0–0,4 %) для

Места и даты отлова бурозубок рода *Sorex*, исследованных на наличие РНК хантавирусовSites and dates of catching *Sorex* shrews examined and analyzed for the presence of Hantavirus RNA

Регион	Сайт отлова	Год	<i>Sorex</i> species	Число РНК+/исследованных
Алтайский край	Солтон	2007	<i>S. roboratus</i>	1/1
			<i>S. araneus</i>	1/5
	Покровка	2008	<i>S. isodon</i>	0/1
			<i>S. caecutiens</i>	0/1
Красноярский край	Средняя Шушь	2008	<i>S. araneus</i>	2/13
			<i>S. isodon</i>	0/4
	Парная	2008	<i>S. araneus</i>	4/14
Республика Алтай	Телецкое	2008	<i>S. caecutiens</i>	0/2
			<i>S. roboratus</i>	0/1
			<i>S. araneus</i>	0/6
			<i>S. isodon</i>	0/3
		2009	<i>S. caecutiens</i>	0/5
			<i>S. isodon</i>	0/1
			<i>S. minutus</i>	0/1
			<i>S. araneus</i>	1/5
Омская область	Река Шишь	2017	<i>S. araneus</i>	2/4
	Верх. Аев	2017	<i>S. araneus</i>	0/3
Итого:				12/71

S-сегмента, тогда как от географически удаленного вируса SWSV из Швейцарии более чем на 16,0 (1,7 %) и на 20,2 % (1,2 %) соответственно. Выравнивание и сравнение последовательностей между собой позволило установить уровень вариабельности геномов новых сибирских изолятов вируса SWSV 3,3–12,0 % (0–1,7 %) для L-сегмента и 0,9–3,7 % (0–0,8 %) для S-сегмента.

Филогенетический анализ, основанный на фрагментах 837 н.о. S-сегмента генома, выявил группирование изолятов вируса SWSV по географическому принципу (рисунок). Анализ на основе фрагментов 346 н.о. L-сегмента разделяет РНК изоляты из одного места отлова на отдельные подгруппы, которые, как предполагалось ранее [10], соответствуют различным расам их носителя *S. araneus*. Так, изоляты SWSV из Красноярского края филогенетически разделены на две подгруппы: (Parn-Sa1197, Parn-Sa1212) и (Parn-Sa1191, Parn-Sa1196, Parn-Sa1220), что подтверждается и относительно высоким уровнем межгруппового различия нуклеотидных последовательностей L-сегмента, достигающим 12 %.

Анализ вирусных последовательностей, полученных из тканей легких *S. roboratus*, отловленной в окрестностях пос. Солтон (Алтайский край), продемонстрировал их принадлежность к вирусу KKMV. Для нового РНК изолята Solton-Sr54 в дополнение к фрагменту L-сегмента получена полноразмерная последовательность S-сегмента генома, составляющая 1640 н.о. Кодированная нуклеокапсидный белок по-

следовательность S-сегмента образца Solton-Sr54 отличалась от ранее опубликованных штаммов KKMV MSB148794 из Республики Саха на 13,6 % и KKMV Fuyan SR326 из Китая на 16,9 %. Различие аминокислотных последовательностей составляло 3,0 и 3,6 % соответственно. Филогенетический анализ показал группирование российских штаммов KKMV из Алтайского края и Республики Саха отдельно от штамма из Китая.

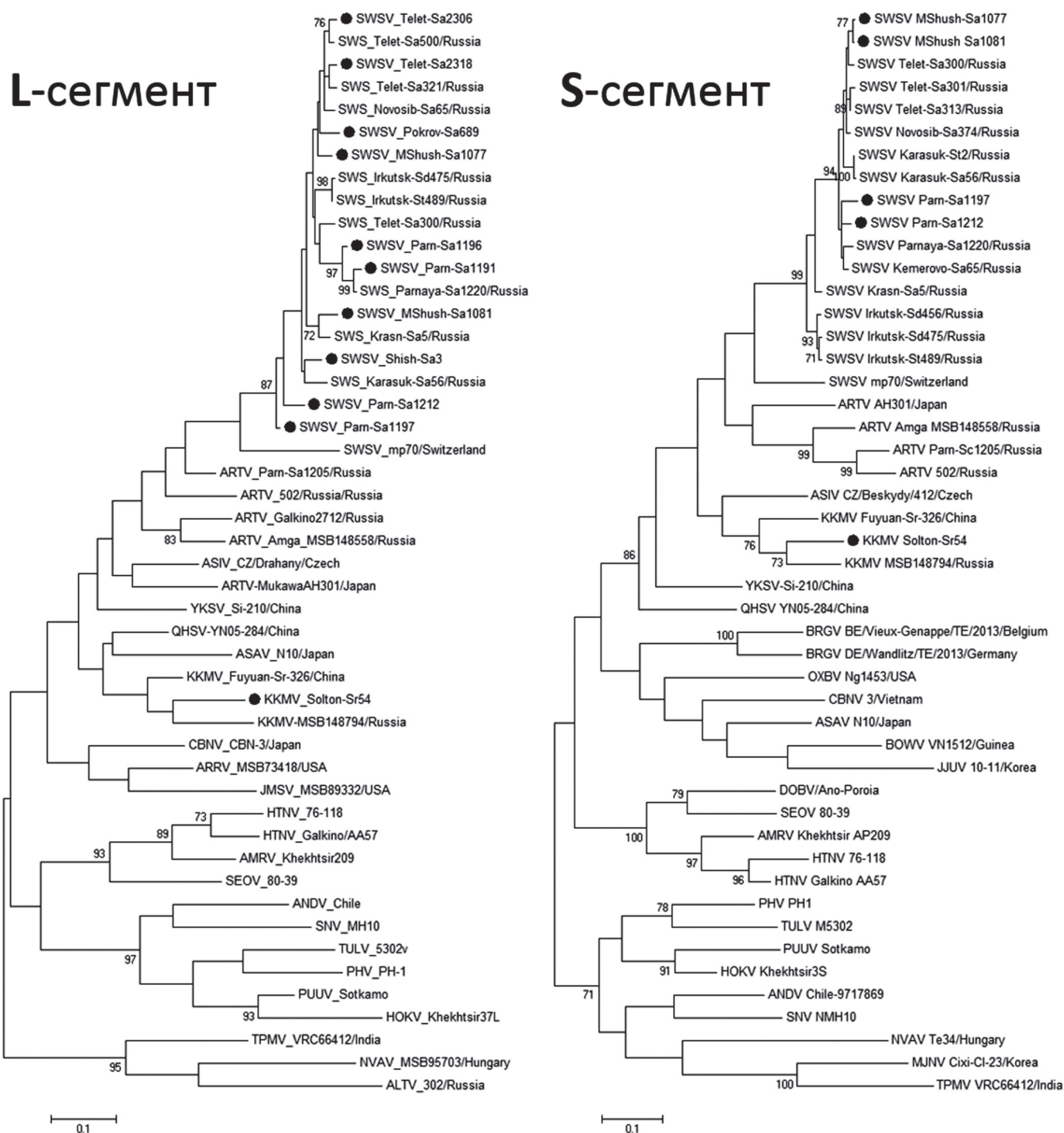
Проведенное исследование дополнило ранее полученные данные по изучению хантавирусов среди новых природных носителей, насекомоядных, на территории Российской Федерации. К настоящему времени выявлена циркуляция четырех видов хантавирусов, ассоциированных с бурозубками рода *Sorex* [7, 8, 9, 10].

На территории Сибири установлено широкое распространение вируса SWSV, открытого в 2007 г. в Швейцарии. Показано, что вирус SWSV встречается у нескольких близкородственных видов бурозубок рода *Sorex*: *S. araneus*, *S. tundrensis* и *S. daphaenodon* [10]. Очаги циркуляции вируса SWSV выявлены в Республике Алтай, Красноярском крае, Кемеровской, Новосибирской областях и в окрестностях городов Новосибирск и Иркутск. Основываясь на выявлении SWSV на территории Европы (Швейцария, Венгрия и Финляндия) [12], Сибири [10] и европейской части России, сделано предположение о широком распространении вируса SWSV на территории географического распространения евроазиатской обыкновенной бурозубки от Центральной и Северной Европы до Восточной Сибири. Вновь полученные данные подтверждают эту гипотезу. Очаги циркуляции вируса SWSV найдены на севере Омской области (р. Шишь), в Алтайском (Покровка) и Красноярском (р. Средняя Шушь) краях.

Вирус KKMV впервые выявлен на территории Республики Саха от *S. roboratus* [8]. Позднее этот вирус обнаружен в Китае от того же вида природного носителя [2]. Новая находка вируса KKMV на территории Алтайского края свидетельствует о его широком распространении не только в северо-восточной части Азии, но, подобно вирусу SWSV, по всей территории распространения его носителя – бурой бурозубки. Вирус ARTV впервые обнаружен в Республике Алтай. Последующие исследования установили циркуляцию вируса ARTV в популяциях средних бурозубок в Красноярском крае, Республике Саха, Хабаровском крае и в Японии [7]. Вирус ALTV выделен от обыкновенной бурозубки лишь в Республике Алтай (GenBank EU424341).

Суммируя новые и ранее полученные данные можно заключить, что три из четырех вирусов (SWSV, ARTV, KKMV) широко распространены на территории России, так как каждый из вирусов выявлен в географически удаленных точках ареалов их природных носителей (*S. araneus*, *S. caecutiens*, *S. roboratus*).

Вопрос о патогенном потенциале новых ханта-



Филогенетические деревья, отображающие взаимосвязи исследованных сибирских изолятов хантавирусов (●) и штаммов из других регионов мира. Деревья построены на основе L- и S-сегментов генома длиной 346 и 837 н.о., соответственно, с использованием метода максимального правдоподобия, индексы поддержки рассчитаны для 500 повторов

Phylogenetic trees reflecting relations between the studied Siberian isolates of hantaviruses (●) and the strains from other regions of the world. The trees are drawn on the basis of L and S genome segments, the length of 346 and 837 bp, respectively, using maximum likelihood method; indexes of support are calculated for 500 repeats

вирусов на территории Российской Федерации остается открытым. Однако исследования патогенности для людей новых хантавирусов, ассоциированных с насекомоядными и рукокрылыми, активно продолжаются в других регионах мира. Так, серологическое доказательство инфицирования людей хантавирусами от насекомоядных было получено при ис-

следовании сывороток больных с лихорадками неясной этиологии из Африки, среди которых выявлены сыворотки, содержащие специфические антитела к хантавирусам Bowe (BOWV) и Uluguru (ULUV), выделенным от насекомоядных [4]. Установленная на территории Сибири широкая циркуляция вирусов SWSV, KKMV и ARTV дает веские основания для

исследования роли выявленных вирусов в патологии человека.

Результаты исследований были получены в рамках выполнения государственного задания Роспотребнадзора № 141-00069-18-01.

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

Список литературы

1. Jonsson C.B., Figueiredo L.T., Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 2010; 23(2):412–41. DOI: 10.1128/CMR.00062-09.
2. Guo W.P., Lin X.D., Wang W., Tian J.H., Cong M.L., Zhang H.L., Wang M.R., Zhou R.H., Wang J.B., Li M.H., Xu J., Holmes E.C., Zhang Y.Z. Phylogeny and origins of hantaviruses harbored by bats, insectivores, and rodents. *PLOS Pathog.* 2013; 9(2):e1003159. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003159.
3. Holmes E.C., Zhang Y.Z. The evolution and emergence of hantaviruses. *Curr. Opin. Virol.* 2015; 10:27–33. DOI: 10.1016/j.coviro.2014.12.007.
4. Heinemann P., Tia M., Alabi A., Anon J.C., Auste B., Essbauer S., Gnionsahe A., Kigninlman H., Klempa B., Kraef C., Kruger N., Leendertz F.H., Ndhatz-Sanogo M., Schaumburg F., Witkowski P.T., Akoua-Koffi C.G., Kruger D.H. Human Infections by Non-Rodent-Associated Hantaviruses in Africa. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(10):1507–11. DOI:10.1093/infdis/jiw401.
5. Okumura M., Yoshimatsu K., Kumperasart S., Nakamura I., Ogino M., Taruishi M., Sugdee A., Pattamadilok S., Ibrahim I., Erlina S., Agui T., Yanagihara R., Arikawa J. Development of serological assays for Thottapalayam virus, an insectivore-born hantavirus. *Clin. Vaccine Immunol.* 2007; 14(2):173–81. DOI: 10.1128/CVI.00347-06.
6. Соколов И.И., редактор. Млекопитающие фауны СССР. Л.: Наука; 1963. Т. 1. 638 с.
7. Arai S., Kang H.J., Gu S.H., Ohdachi S.D., Cook J.A., Yashina L.N., Tanaka-Taya K., Abramov S.A., Morikawa S., Okabe N., Oishi K., Yanagihara R. Genetic Diversity of Artybash Virus in the Laxmann's Shrew (*Sorex caecutiens*). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16(7):468–75. DOI: 10.1089/vbz.2015.1903.
8. Kang H.J., Arai S., Hope A.G., Cook J.A., Yanagihara R. Novel hantavirus in flat-skulled shrew (*Sorex roboratus*). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(6):593–7. DOI: 10.1089/vbz.2009.0159.
9. Papa A., Vaheri A., LeDuc J.W., Kruger D.H., Avšič-Županc T., Arikawa J., Song J.W., Markotic A., Clement J., Liang M., Li D., Yashina L.N., Jonsson C.B., Schmaljohn C.S. Meeting report: Tenth International Conference on Hantaviruses. *Antiviral Res.* 2016; 133:234–41. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.08.015.
10. Yashina L.N., Abramov S.A., Gutorov V.V., Dupal T.A., Krivopalov A.V., Panov V.V., Danchinova G.A., Vinogradov V.V., Luchnikova E.M., Hay J., Kang H.J., Yanagihara R. Seewis virus: phylogeography of a shrew-borne hantavirus in Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(6):585–91. DOI: 10.1089/vbz.2009.0154.
11. Klempa B., Fichet-Calvet E., Lecompte E., Auste B., Aniskin V., Meisel H. Hantavirus in African wood mouse, Guinea. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12:838–40. DOI: 10.3201/eid1205.051487.
12. Kang H.J., Arai S., Hope A.G., Song J.W., Cook J.A., Yanagihara R. Genetic diversity and phylogeography of Seewis virus in the Eurasian common shrew in Finland and Hungary. *Virol. J.* 2009; 6:208. DOI: 10.1186/1743-422X-6-208.

References

1. Jonsson C.B., Figueiredo L.T., Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clin. Microbiol. Rev.* 2010; 23(2):412–41. DOI: 10.1128/CMR.00062-09.

2. Guo W.P., Lin X.D., Wang W., Tian J.H., Cong M.L., Zhang H.L., Wang M.R., Zhou R.H., Wang J.B., Li M.H., Xu J., Holmes E.C., Zhang Y.Z. Phylogeny and origins of hantaviruses harbored by bats, insectivores, and rodents. *PLOS Pathog.* 2013; 9(2):e1003159. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003159.
3. Holmes E.C., Zhang Y.Z. The evolution and emergence of hantaviruses. *Curr. Opin. Virol.* 2015; 10:27–33. DOI: 10.1016/j.coviro.2014.12.007.
4. Heinemann P., Tia M., Alabi A., Anon J.C., Auste B., Essbauer S., Gnionsahe A., Kigninlman H., Klempa B., Kraef C., Kruger N., Leendertz F.H., Ndhatz-Sanogo M., Schaumburg F., Witkowski P.T., Akoua-Koffi C.G., Kruger D.H. Human Infections by Non-Rodent-Associated Hantaviruses in Africa. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(10):1507–11. DOI: 10.1093/infdis/jiw401.
5. Okumura M., Yoshimatsu K., Kumperasart S., Nakamura I., Ogino M., Taruishi M., Sugdee A., Pattamadilok S., Ibrahim I., Erlina S., Agui T., Yanagihara R., Arikawa J. Development of serological assays for Thottapalayam virus, an insectivore-born hantavirus. *Clin. Vaccine Immunol.* 2007; 14(2):173–81. DOI: 10.1128/CVI.00347-06.
6. Sokolov I.I., editor. [Mammals of the Fauna of USSR]. L.: "Nauka", 1963. Vol. 1. 638 p.
7. Arai S., Kang H.J., Gu S.H., Ohdachi S.D., Cook J.A., Yashina L.N., Tanaka-Taya K., Abramov S.A., Morikawa S., Okabe N., Oishi K., Yanagihara R. Genetic Diversity of Artybash Virus in the Laxmann's Shrew (*Sorex caecutiens*). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16(7):468–75. DOI: 10.1089/vbz.2015.1903.
8. Kang H.J., Arai S., Hope A.G., Cook J.A., Yanagihara R. Novel hantavirus in flat-skulled shrew (*Sorex roboratus*). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(6):593–7. DOI: 10.1089/vbz.2009.0159.
9. Papa A., Vaheri A., LeDuc J.W., Kruger D.H., Avšič-Županc T., Arikawa J., Song J.W., Markotic A., Clement J., Liang M., Li D., Yashina L.N., Jonsson C.B., Schmaljohn C.S. Meeting report: Tenth International Conference on Hantaviruses. *Antiviral Res.* 2016; 133:234–41. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.08.015.
10. Yashina L.N., Abramov S.A., Gutorov V.V., Dupal T.A., Krivopalov A.V., Panov V.V., Danchinova G.A., Vinogradov V.V., Luchnikova E.M., Hay J., Kang H.J., Yanagihara R. Seewis virus: phylogeography of a shrew-borne hantavirus in Siberia, Russia. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(6):585–91. DOI: 10.1089/vbz.2009.0154.
11. Klempa B., Fichet-Calvet E., Lecompte E., Auste B., Aniskin V., Meisel H. Hantavirus in African wood mouse, Guinea. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12:838–40. DOI: 10.3201/eid1205.051487.
12. Kang H.J., Arai S., Hope A.G., Song J.W., Cook J.A., Yanagihara R. Genetic diversity and phylogeography of Seewis virus in the Eurasian common shrew in Finland and Hungary. *Virol. J.* 2009; 6:208. DOI: 10.1186/1743-422X-6-208.

Authors:

Yashina L.N., Malyshev B.S., Kartashov M.Yu. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Abramov S.A., Dupal T.A. Institute of Systematics and Ecology of Animals, RAS Siberian Branch, Novosibirsk, Russian Federation.

Yakimenko V.V., Tantssev A.K. Omsk Research Institute of Natural-Foci Infections. Omsk, Russian Federation.

Об авторах:

Яшина Л.Н., Малышев Б.С., Карташов М.Ю. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Абрамов С.А., Дупал Т.А. Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация.

Якименко В.В., Танцев А.К. Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций. Омск, Российская Федерация.

Поступила 11.10.18.

Принята к публ. 29.11.18.

**РОССИЙСКОМУ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМУ
ПРОТИВОЧУМНОМУ ИНСТИТУТУ «МИКРОБ» – 100 ЛЕТ**



**ПРЕДСЕДАТЕЛЬ
ПРАВИТЕЛЬСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Коллективу
Российского научно-исследовательского
противочумного института
"Микроб"

« 15 » ноября 2018 г.

№ 9060П-ПЗ7

МОСКВА

Уважаемые друзья!

Поздравляю вас с замечательным юбилеем - 100-летием Российского научно-исследовательского противочумного института "Микроб".

За свою вековую историю Институт прошел большой путь от "Особой лаборатории" до крупнейшего научно-исследовательского и организационно-методического центра по проблемам инфекционных болезней, санитарно-эпидемиологической охране территории России и биологической безопасности.

В разные годы в Институте работали и продолжают работать специалисты высочайшей квалификации, ученые, эпидемиологи, вирусологи, бактериологи - люди мужественные и самоотверженные, преданные своей профессии. Вы всегда находитесь в эпицентре особых событий, происходящих в стране и мире: боретесь с опасными болезнями и инфекциями, участвуете в ликвидации эпидемий, надежно охраняете здоровье миллионов людей.

Сегодня НИИ "Микроб" - это уникальная организация, где используются инновационные диагностические, информационные и производственные технологии, в научных лабораториях проводятся исследования, разрабатываются лекарственные препараты, вакцины, тест-системы, не имеющие аналогов в мире. Специалисты Института активно участвовали в ликвидации вспышки вируса Эбола в Гвинейской Республике, борьбе с чумой в Республике Мадагаскар и в настоящее время оказывают помощь зарубежным партнерам в противодействии распространению опасных инфекционных болезней. Особой благодарности заслуживает ваша большая работа по обеспечению благоприятных санитарно-эпидемиологических условий при проведении в нашей стране XXVII Всемирной летней Универсиады 2013 года,

XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр 2014 года, Чемпионата мира по футболу FIFA 2018 года.

Дорогие друзья! От всей души хочу поздравить вас с юбилеем и поблагодарить за ваш благородный и важный труд.

Желаю ветеранам и коллективу Института крепкого здоровья, успехов и всего наилучшего.


Д.Медведев



15 ноября 2018 г. Российскому научно-исследовательскому противочумному институту «Микроб» исполнилось 100 лет. Институт создан в 1918 г. на базе кафедры микробиологии Саратовского университета как Краевой институт микробиологии и эпидемиологии Юго-Востока РСФСР.

История становления института «Микроб» неразрывно связана с организацией противочумной службы страны, начало которой было положено указом Николая II от 11 января 1897 г. о создании «Особой комиссии для предупреждения занесения чумной заразы и борьбы с нею в случае ее появления в России» (КОМОЧУМ) на базе Императорского института экспериментальной медицины (ИЭМ). В 1901 г. при ИЭМ создана «Особая лаборатория ИЭМ по заготовлению противочумных препаратов», получившая известность как «Чумной форт». Особая лаборатория ИЭМ официально просуществовала до 1 января 1918 г.

В этот непростой для нашей страны период, на рубеже XIX и XX веков, не стихали эпидемии опасных инфекционных болезней – чумы, холеры, тифа. Самая тяжелая ситуация сложилась на юго-востоке России. Саратов находился в центре обширных оча-

гов чумы Заволжья, Прикаспия и Юга нашей страны. Для выяснения возможностей продолжения научной работы по изучению чумы и борьбе с ней в Саратов прибыл профессор А.И. Бердников – последний руководитель Особой лаборатории, опытный специалист и хороший организатор. Здесь, в Саратовском университете, в 1918 г. его избрали заведующим кафедрой микробиологии, создание которой выгодно выделяло Университет среди других высших учебных заведений страны. А.И. Бердников стал одним из инициаторов создания в Саратове «мощного бактериологического института» с противочумным отделением по образцу «Особой лаборатории». Большой вклад в создание института внесли академик Д.К. Заболотный и профессор А.А. Богомолец. Официальной датой образования института является дата подписания решения коллегии Наркомздрава России от 15 ноября 1918 г., протокол № 10. Первым директором института стал профессор Алексей Ильич Бердников. К январю 1920 г. институт получает утвержденный Наркомздравом РСФСР Устав, в соответствии с которым становится самостоятельным, независимым от университета государственным учреждением. На институт с самого начала его существования воз-

ложено руководство научной и оперативной работой по борьбе с чумой и другими особо опасными инфекциями. В мае 1920 г. в Саратове состоялось первое противочумное совещание, а к 1927 г. под руководством института «Микроб» объединены все противочумные лаборатории юго-востока России. Благодаря энергичным действиям специалистов института «Микроб» в период Гражданской войны ни одна из вспышек чумы на юго-востоке России не вышла за пределы очага инфекции.

В 1922 г. в институте начали работать первые в России курсы специализации врачей по особо опасным инфекциям. За первые десять лет существования курсов проведено 13 обучающих циклов по чуме, которые закончили 170 человек, ставшие основной кадровой силой зарождавшейся противочумной системы.

В 1923–1925 гг. сотрудники института «Микроб» провели успешную борьбу со вспышками чумы на территории Уральской, Астраханской, Калмыцкой автономной и других областей.

В 1930-е годы проходило формирование целостной противочумной службы СССР: создание противочумных институтов в Ростове-на-Дону и Иркутске, структурная организация региональной противочумной сети Северного Кавказа, Средней Азии, Сибири и Дальнего Востока. Институт «Микроб» выполнял функции методического центра.

Знаковым событием и крупнейшим достижением иммунологии стало изучение под руководством профессора Е.И. Коробковой в 1936–1938 гг. иммуногенности и безвредности штамма *Y. pestis* ЕВ и в последующем производство чумной живой вакцины. Вакцина ЕВ до сих пор признается эффективным профилактическим препаратом и является единственной зарегистрированной живой вакциной против чумы в мире. Еще одним важнейшим достижением ученых института «Микроб» стало теоретическое обоснование возможности оздоровления природных очагов чумы Северо-Западного Прикаспия, где в 30–40-е годы при активном участии сотрудников института успешно проведены масштабные профилактические мероприятия.

В стенах института работали ученые, снискавшие мировую известность. Среди них Н.Н. Жуков-Вережников, С.М. Никаноров, Н.И. Николаев, В.Н. Федоров, Б.К. Фенюк, И.Г. Иофф, Ю.М. Ралль, А.А. Безсонова, Е.И. Коробкова, М.П. Покровская, В.М. Туманский и многие другие.

В 1962 г. институт получил союзное подчинение – Всесоюзный научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», приобрел статус научного, методического и оперативного центра страны по борьбе с чумой и другими особо опасными инфекциями.

За большие заслуги в развитии медицинской науки и советского здравоохранения и в связи с 50-летием со дня создания Указом Президиума Верховного Совета СССР от 3 октября 1968 г. институт награжден орденом Трудового Красного

Знамени.

В настоящее время ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора – ведущий научно-исследовательский и организационно-методический центр по проблемам особо опасных инфекционных болезней, санитарно-эпидемиологической охране и биологической безопасности территории Российской Федерации. Коллектив института состоит из 675 человек, из которых 9 профессоров, 23 доктора и 85 кандидатов наук. Возглавляет институт академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, лауреат Государственной премии Российской Федерации в области науки и техники Владимир Викторович Кутырев.

Коллективом института получены приоритетные результаты исследований возбудителей особо опасных инфекционных болезней, разработана и внедрена в Российской Федерации единая система эпидемиологического надзора за чумой, холерой и другими особо опасными инфекциями. Разработаны методология внедрения и реализации Международных медико-санитарных правил (2005 г.), модель обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в ходе проведения массовых мероприятий, научно обосновано содержание широкого формата биологической безопасности.

Исследованы особенности эволюции возбудителей особо опасных инфекционных болезней. На основе данных молекулярно-генетического анализа и полногеномного секвенирования усовершенствована внутривидовая систематика возбудителя чумы. Всесторонне охарактеризованы изменения иммунного статуса людей, вакцинированных против чумы и холеры, детально изучены механизмы иммуногенеза к чуме и холере. Разработаны и внедрены в производство препараты для диагностики чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза и других инфекционных болезней. За разработку и внедрение в медицинскую практику новых средств специфической профилактики, диагностики и лечения сибирской язвы сотрудникам института в составе авторского коллектива присуждена Государственная премия РФ 2002 г. в области науки и техники. За последние 10 лет получено более 100 патентов на изобретения и полезные модели, свидетельств о регистрации программ для ЭВМ и баз данных, из которых многие отмечены золотыми и серебряными медалями, дипломами на Международных салонах инноваций и инвестиций.

Разработана новая технология паспортизации природных очагов чумы на электронной основе с использованием комплекса технологий ГИС. Исследован механизм природной очаговости и особенности экологии возбудителей особо опасных инфекционных болезней. Созданы и внедрены в практику принципиально новые методы их профилактики и прогнозирования на основе современных информационных технологий. В 2014–2018 гг. специалисты института обеспечивали эпидемиологиче-

ское благополучие по чуме при возникновении случаев заболевания в Республике Алтай.

Коллектив института обеспечивает постоянную противозидемическую готовность учреждения и его специализированных противозидемических бригад, которые с момента создания в 1963 г. участвовали в ликвидации 67 эпидемических вспышек чумы, холеры и других опасных инфекционных болезней на территории России, государств-участников СНГ и дальнего зарубежья. Специалисты института приняли самое активное участие в ликвидации вспышки холеры в Поволжском регионе в 1970-е годы и в Дагестане в 1994 г., а также в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в зоне землетрясения в Армении (1988–1989 гг.).

В 2006 г. Российская Федерация выступила с глобальной инициативой в области борьбы с инфекционными болезнями, в том числе о повышении эффективности международных мер реагирования на чрезвычайные ситуации, включая использование для этих целей команд быстрого реагирования. При поддержке Правительства Российской Федерации, в целях формирования устойчивой международной системы противозидемической готовности, одним из компонентов которой является укрепление национальных сил оперативного реагирования на чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, в 2007–2010 гг. осуществлена техническая и технологическая модернизация 10 СПЭБ пяти научно-исследовательских противочумных институтов Роспотребнадзора. В 2017 г. РосНИПЧИ «Микроб» оснащен МК СПЭБ II поколения.

Специалисты института обеспечивали санитарно-эпидемиологическое благополучие при проведении XXVII Всемирной летней универсиады 2013 г. в Казани, XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр в Сочи в 2014 г., саммитов стран ШОС и государств БРИКС в Уфе в 2015 г., Кубка конфедераций по футболу в 2017 г. и Чемпионата мира по футболу в 2018 г.

В 2014–2016 гг. сотрудники института участвовали в ликвидации эпидемии болезни, вызванной вирусом Эбола в Гвинейской Республике, а в настоящее время на базе Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра продолжают оказание практической помощи по предотвращению вспышек особо опасных инфекционных болезней. За эту работу 34 специалиста института «Микроб» награждены государственными, правительственными наградами и поощрены благодарностью Президента Российской Федерации. Расширяется международное сотрудничество института «Микроб» с государствами ближнего и дальнего зарубежья. Проводятся совместные экспедиционные работы в природных очагах чумы Киргизии и Вьетнама.

РосНИПЧИ «Микроб» – единственный производитель в Российской Федерации препарата для специфической профилактики бешенства – антирабического иммуноглобулина, которым обеспечивается более 75 % от потребности страны. Производится

холерная бивалентная химическая вакцина и 30 диагностических препаратов для особо опасных инфекций. Выпускаемые препараты поставляются во все регионы Российской Федерации. В последние годы в институте «Микроб» проводится реконструкция производственных помещений и переоборудование технологических линий, совершенствуются методы контроля качества препаратов, активно внедряется стратегия GMP. В производственном комплексе Елшанка расположены конеклиника и виварии с современным технологическим оборудованием для содержания животных-продуцентов и биомоделей.

На базе института функционирует Государственная коллекция патогенных бактерий – крупнейшая в России коллекция микроорганизмов I–II групп патогенности.

РосНИПЧИ «Микроб» осуществляет послевузовское и дополнительное профессиональное образование по вопросам биологической безопасности, эпидемиологии, микробиологии и профилактики особо опасных инфекций. В образовательном процессе активно используются современные информационные технологии в формах электронного и дистанционного обучения. Однако уникальность подготовки специалистов заключается в использовании живых культур возбудителей особо опасных инфекций для максимального приближения к условиям реальной профессиональной деятельности. За последние 15 лет обучение прошли свыше 3000 специалистов учреждений Роспотребнадзора, Министерства здравоохранения, Министерства обороны и других ведомств.

РосНИПЧИ «Микроб» осуществляет издательскую деятельность – с 1968 г. выпускается научно-практический журнал «Проблемы особо опасных инфекций». За последние 15 лет сотрудниками института опубликовано 25 монографий и руководств, свыше 800 научных статей, разработано несколько десятков нормативно-методических документов.

РосНИПЧИ «Микроб» обеспечивает функции базовой организации Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации и Координационного Совета в области санитарной охраны территорий государств-участников СНГ от завоза и распространения особо опасных инфекций.

За последнее десятилетие коллектив института участвовал в реализации распоряжений Правительства Российской Федерации. Основным итогом стало создание системы обеспечения биологической безопасности, направленной на раннее выявление и реагирование на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера в Российской Федерации, а также в зарубежных странах.

За достигнутые трудовые успехи и высокие показатели в трудовой деятельности Правительство Российской Федерации наградило ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Почетной грамотой.

DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-98-100

УДК 061.62:579.61(470.44)

А.Н. Микеров¹, С.В. Райкова¹, И.Г. Швиденко¹, И.О. Лунёва¹, Э.Г. Донецкая¹, О.Н. Цветкова¹,
Н.В. Сладкова¹, В.В. Кутырев^{1,2}

К 100-ЛЕТИЮ КАФЕДРЫ МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ САРАТОВСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА ИМ. В.И. РАЗУМОВСКОГО

¹Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

В 1909 г. в Саратове открылся десятый в Российской Империи Университет с единственным медицинским факультетом. Уже в 1911 г. организована кафедра общей патологии, которую возглавил молодой профессор А.А. Богомолец, воспитанник Новороссийского университета и ученик И.И. Мечникова. Как талантливый ученый он уже тогда хорошо понимал роль и значение бактерий в патологии человека. Поэтому с 1912 г. на кафедре общей патологии Саратовского университета он начал читать студентам курс лекций по общей и частной микробиологии с основами учения об иммунитете. В феврале 1918 г. он внес предложение о создании самостоятельной кафедры бактериологии, которая была открыта решением Ученого совета Саратовского университета 8 апреля 1918 г. Этот день и считается днем рождения кафедры.

Первым заведующим кафедрой стал профессор А.И. Бердников, видный представитель Петербургской школы микробиологов, который в 1918 г. приехал в Саратов из Петрограда, где он работал в знаменитом чумном форте под руководством профессора Д.К. Заболотного.

Время создания кафедры микробиологии было трудным, поскольку эпидемиологическая обстановка в Поволжье и на Юго-Востоке России была очень напряженной. По инициативе профессоров А.А. Богомольца и А.И. Бердникова при поддержке медико-санитарного отдела губисполкома на вновь созданной кафедре было развернуто производство вакцин, открылись прививочный пункт и противоэпидемическое отделение. На базе этих подразделений кафедры 15 ноября 1918 г. создан Институт

микробиологии и эпидемиологии Юго-Востока, ныне всемирно известный противочумный институт «Микроб» (РосНИПЧИ «Микроб»). Его первым директором был назначен профессор А.И. Бердников.

В разное время кафедру возглавляли профессора А.В. Лавринович (1921–1923 гг.), С.М. Никаноров (1923–1930 гг.), В.В. Сукнев (1931–1934 гг.), М.П. Гнутенко (1934–1937 гг.), С.И. Шеришорина (1937–1973 гг.), Г.М. Шуб (1973–2014 гг.). При этом, заведующие кафедрой микробиологии С.М. Никаноров и В.В. Сукнев, так же как и А.И. Бердников, руководили институтом «Микроб». С 2014 г. и по настоящее время кафедру возглавляет директор РосНИПЧИ «Микроб», Академик РАН, доктор медицинских наук, профессор В.В. Кутырев.

Важным этапом в дальнейшем развитии кафедры стали тридцатые годы прошлого столетия. В 1931 г. кафедру возглавил профессор В.В. Сукнев, крупный ученый, воспитанник московской школы микробиологов. Он многое сделал для совершенствования учебного процесса, приобретения специальной литературы, таблиц, бактериологического оборудования. Создан учебный фильм «Введение в микробиологию». В эти годы на кафедре появились первые аспиранты, а в дальнейшем подготовку в аспирантуре при кафедре микробиологии прошли более 50 молодых специалистов. Интенсивно развивалась научная работа. Убежденный диалектик, В.В. Сукнев отстаивал идеи изменчивости бактерий и внес существенный вклад в учение о бактериофагии, фильтрующихся формах бактерий, вакцинологию.

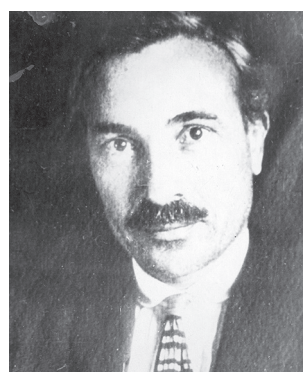
В 1932 г. ассистентами кафедры утверждены Н.Н. Жуков-Вережников (в будущем академик АМН



Профессор
А.А. Богомолец



Профессор
А.И. Бердников



Профессор
В.В. Сукнев



Профессор М.
Никаноров

СССР) и С.И. Шеришорина, ставшая заслуженным деятелем науки РСФСР, с именем которой связан более чем 35-летний период истории кафедры. С 1937 г. она заведовала ею, отдавая свой талант организатора, ученого и педагога делу совершенствования научной, учебной и воспитательной работы. Основным направлением деятельности профессора С.И. Шеришориной и исследований ее многочисленных учеников были изменчивость бактерий и экспериментальная химиотерапия. С.И. Шеришорина стала инициатором осуществления в университете комплексной работы «Нитрофураны», в реализации которой участвовало более 10 кафедр. Под руководством Софьи Исидоровны подготовлено и защищено более 75 кандидатских и докторских диссертаций. За выдающиеся заслуги в науке и подготовке кадров высшей квалификации она награждена орденом Ленина (тогда высший орден в стране), а также ей присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки РСФСР». В 1950–1955 гг. Софья Исидоровна была депутатом Верховного Совета СССР и единственным микробиологом в органах высшей власти.

В тяжелые годы Великой Отечественной войны коллектив кафедры микробиологии основные силы направлял на оказание помощи раненым бойцам и офицерам Советской Армии. Ассистенты В.В. Акимович, О.И. Пономарева, М.К. Щеглова и А.Г. Хинчук ушли в армию, а оставшиеся сотрудники вели большую работу по обеспечению санитарной и эпидемической защиты города. Не прекращалась учебная и научно-исследовательская работа. В годы войны и в первый послевоенный год защищены докторские диссертации С.И. Шеришориной, М.П. Гнутенко, кандидатские диссертации О.И. Пономаревой, Р.Д. Вайнер и А.И. Метарновского.

В 50–60-е годы улучшается организация учебного процесса, внедряются элементы программированного контроля знаний, активно работают аспирантура и научный студенческий кружок. В научных исследованиях формируется новое направление – химиотерапия бактериальных инфекций.

С 1973 по 2014 год кафедрой руководил доктор медицинских наук, академик РАЕН, профессор, заслуженный изобретатель РФ, почетный

гражданин города Саратова Г.М. Шуб, ученик С.И. Шеришориной. Под его руководством уже в 1975 г. создан центр по синтезу и первичной апробации биологической активности гетероциклических соединений, а в 1977 г. – межвузовская лаборатория экспериментальной химиотерапии. Одной из первых кафедра начала изучение антимикробной активности электромагнитного излучения, лазера, ультразвука, новых серу- азот- и кислородсодержащих гетероциклических соединений и композитов, содержащих наночастицы. В 1979 г. по инициативе профессора Б.А. Шендерова при кафедре организована одна из первых в стране лабораторий микробиологических методов борьбы с загрязнением окружающей среды, которая, впоследствии, дала начало Саратовскому филиалу ВНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов. Многие сотрудники лаборатории успешно защитили кандидатские диссертации, а В.И. Корженевич и О.В. Турковская стали докторами биологических наук. Знания, позволявшие Г.М. Шубу легко ориентироваться в новых направлениях на стыке наук, организаторские способности, умение налаживать деловые контакты с заинтересованными партнерами, позволили кафедре провести ряд пионерских исследовательских работ. На протяжении многих лет научные исследования кафедры были связаны с изучением изменчивости микроорганизмов и химиотерапии бактериальных инфекций. Наряду с этим на кафедре изучались проблемы микробной экологии. Большое место в научной работе кафедры также занимали исследования по клинической микробиологии.

Результатом многогранной научной и организационной деятельности кафедры за годы своего существования явилось то, что кафедра микробиологии Саратовского государственного медицинского университета дала начало трем научно-исследовательским институтам: в 1918 г. – институту микробиологии и эпидемиологии Юго-Востока РСФСР (РосНИПЧИ «Микроб»), в 1986 г. – саратовскому филиалу ВНИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов (ЗАО «Биоамид»), в 1991 г. – институту медицинского приборостроения. Однако трудная экономическая ситуация в стране в начале 90-х годов не дала возможности развернуть



**Профессор С.И.
Шеришорина**



**Профессор
Н.Н. Жуков-Вережников**



**Профессор
Г.М. Шуб**



**Академик РАН,
профессор В.В. Кутырев**

работу последнего из трех НИИ.

На кафедре подготовлено более 120 кандидатов и докторов наук. Среди воспитанников кафедры видные представители микробиологической науки: проф. Н.Н. Жуков-Вережников был действительным членом АМН СССР, проф. В.В. Акимович, О.И. Пономарёва, Л.М. Гольдфарб, О.А. Проценко плодотворно работали в РосНИПЧИ «Микроб», проф. С.М. Рассудов и В.Н. Савельев работали в структурах Роспотребнадзора, проф. Б.А. Шендеров возглавлял Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, проф. Н.Н. Меджидов являлся директором института питательных сред г. Махачкала, проф. О.В. Турковская работала заместителем директора по НИР в НИИ Биохимии и физиологии растений и микроорганизмов, проф. М.П. Гнутенко и М.К. Щеглова возглавляли кафедру микробиологии, а доцент Н.В. Глухов занимал должность декана биологического факультета в Саратовском государственном университете им. Н.Г. Чернышевского.

В 2014 г. кафедру микробиологии, вирусологии и иммунологии возглавил директор РосНИПЧИ «Микроб», академик РАН, д.м.н., профессор В.В. Кутырев.

Сотрудники кафедры начали проводить активную научную работу в рамках НИОКР «Комплексная характеристика штаммов микроорганизмов, выделенных на территории Саратовской области при инфекционных заболеваниях различной этиологии». За научные заслуги в научной работе в рамках данной НИОКР в 2018 г. аспирант кафедры А.В. Казанцев

удостоен персональной президентской стипендии.

В настоящее время коллектив кафедры постоянно поддерживает высокий уровень учебно-методической работы, активно публикует пособия и монографии, необходимые для обеспечения учебного процесса. Кроме того, кафедрой проводятся циклы повышения квалификации по бактериологии, кафедра проводит обучение ординаторов и аспирантов. Кафедра микробиологии – это коллектив единомышленников, в котором работают люди разных поколений, объединенные одной целью – дать студентам глубокие и прочные знания, сформировать у них представления о широких диагностических возможностях современной микробиологии, вирусологии и иммунологии, их роли в развитии профилактической медицины, внести свой посильный вклад в решение актуальных проблем микробиологической науки.

Все преподаватели кафедры имеют ученую степень кандидата или доктора наук. В настоящее время профессорско-преподавательский состав кафедры включает 12 сотрудников: заведующий кафедрой – академик РАН, д.м.н., профессор В.В. Кутырев; профессора – д.м.н. И.Г. Швиденко и д.б.н. А.Н. Микеров; доценты – к.м.н. И.О. Лунева, к.м.н. С.В. Райкова, к.б.н. Э.Г.-А. Донецкая; старшие преподаватели – к.м.н. О.Н. Цветкова, к.м.н. О.Г. Шаповал, к.м.н. Н.Г. Ходакова; ассистенты – к.м.н. Н.В. Сладкова, к.б.н. Е.Ф. Соболева и к.б.н. М.С. Аллянова.

Коллектив встречает 100-летие кафедры с готовностью и дальше решать профессиональные задачи на высоком уровне!

К 90-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ АЛЕКСЕЯ КОНСТАНТИНОВИЧА АДАМОВА

7 ноября 2018 г. исполнилось 90 лет старейшему сотруднику РосНИПЧИ «Микроб» профессору А.К. Адамову.

Алексей Константинович — кадровый военный, участник Великой Отечественной войны. Он окончил Военно-морскую медицинскую академию и адъюнктуру при кафедре эпидемиологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова в 1959 г. до 1963 г. он служил на Военно-морском флоте и в сухопутных войсках. В 1962 г. защитил докторскую диссертацию в Диссертационном совете при институте «Микроб», в 1967 г., в звании подполковника медицинской службы демобилизован и направлен в институт «Микроб», на должность заместителя директора по научной работе, которую занимал до 1972 г. В институте «Микроб» он организовал лабораторию микробиологии и иммунологии холеры, которой заведовал до 1996 г. Основными направлениями деятельности лаборатории являлись разработка и совершенствование методов лабораторной диагностики холеры и создание новых диагностических и профилактических препаратов. Под непосредственным руководством А.К. Адамова проведены полномасштабные противоэпидемические и профилактические мероприятия в очагах холеры на территории СССР в Фирюзе (1969), Астрахани (1970) и Керчи (1970). Много лет Алексей Константинович по-



святил теоретическому обоснованию и разработке искусственно-клеточных вакцин. А.К. Адамовым и его школой разработано свыше 100 новых видов препаратов (из которых 71 зарегистрирован в качестве изобретений), а также более 50 рационализаторских предложений. Большинство из них внедрено в производство и практику. Профессор А.К. Адамов исполнял обязанности заместителя директора института по научной работе с 1967 по 1972 год. С 1996 г. А.К. Адамов работает в должности главного научного сотрудника института.

Алексей Константинович воспитал целую плеяду талантливых молодых ученых, продолжающих дело его жизни. Под его руководством выполнены и успешно защищены более 20 кандидатских и докторских диссертаций. Алексей Константинович внес существенный вклад в создание и развитие журнала «Проблемы особо опасных инфекций». В настоящее время Алексей Константинович Адамов активно продолжает свою научную и педагогическую деятельность.

Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Алексея Константиновича Адамова с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, бодрости и творческого долголетия.

О XIV МЕЖГОСУДАРСТВЕННОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ «ОБЕСПЕЧЕНИЕ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ В ГОСУДАРСТВАХ-УЧАСТНИКАХ СНГ»

20–21 ноября 2018 г. в Саратове проходила XIV Межгосударственная научно-практическая конференция «Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в государствах-участниках СНГ».

В конференции приняли участие Руководитель Роспотребнадзора, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации А.Ю. Попова, руководители министерств и ведомств, научных учреждений государств-участников СНГ и стран дальнего зарубежья (Китайская Народная Республика, Республика Мадагаскар, Гвинейская Республика, Социалистическая Республика Вьетнам, Монголия), представители Всемирной организации здравоохранения, в том числе Глобальной сети по предупреждению о вспышках болезней и ответным действиям (GOARN), руководители и ведущие специалисты управлений Роспотребнадзора, Центров гигиены и эпидемиологии, ведущие ученые научно-исследовательских институтов Роспотребнадзора, а также профильных научно-исследовательских институтов других ведомств. Общее количество делегатов и участников конференции составило более 400 человек.

В рамках конференции проведены торжественные мероприятия в связи со 100-летним юбилеем

РосНИПЧИ «Микроб». В докладах на пленарных заседаниях освещены актуальные аспекты международного научно-технического сотрудничества государств-участников СНГ в области санитарной охраны территорий, эпидемиологического надзора за опасными, природно-очаговыми зоонозными инфекционными болезнями, вопросы внедрения и реализации в странах Международных медико-санитарных правил (2005 г.), реагирования на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера.

В рамках конференции проведена панельная дискуссия ВОЗ и GOARN об использовании мобильных лабораторий и сил быстрого реагирования, в которой приняли участие ведущие специалисты в этой области из стран Европы и Азии.

На проходившей во время конференции выставке мобильных лабораторий представлен модернизированный мобильный комплекс II поколения специализированной противозидемической бригады Роспотребнадзора.

В ходе конференции проведена торжественная передача мобильных лабораторий в дар Республике Узбекистан, Киргизской Республике, Монголии и Гвинейской Республике от Российской Федерации.

По результатам работы конференции принята резолюция.

О XIV ЗАСЕДАНИИ КООРДИНАЦИОННОГО СОВЕТА ПО ПРОБЛЕМАМ САНИТАРНОЙ ОХРАНЫ ТЕРРИТОРИЙ ГОСУДАРСТВ-УЧАСТНИКОВ СОДРУЖЕСТВА НЕЗАВИСИМЫХ ГОСУДАРСТВ ОТ ЗАВОЗА И РАСПРОСТРАНЕНИЯ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ

20 ноября 2018 г. в Саратове в рамках проведения XIV Межгосударственной научно-практической конференции «Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в государствах-участниках СНГ» прошло XIV заседание Координационного совета по проблемам санитарной охраны территорий государств-участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней (Координационный совет).

В заседании приняли участие члены Координационного совета и их полномочные представители от Азербайджанской Республики, Республики Армения, Республики Беларусь, Республики Казахстан, Кыргызской Республики, Республики Молдовы, Российской Федерации, Туркменистана, Республики Узбекистан, а также представитель Исполнительного комитета СНГ.

Координационный совет одобрил информацию о проведении комплекса мероприятий в рамках реализации программ содействия Российской Федерации странам-партнерам по вопросам внедрения ММСП

(2005 г.) и обеспечения эпидемиологического благополучия по чуме.

На заседании рассмотрены и одобрены проекты Соглашения о сотрудничестве органов, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор государств-участников СНГ при предупреждении и реагировании на чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения и Положения о порядке осуществления информационного обмена между государствами-участниками СНГ о чрезвычайных ситуациях в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Координационный совет утвердил План работы на 2019–2020 гг. и Дорожную карту по актуализации нормативных документов, разработанных в рамках деятельности Координационного совета.

Участники заседания единогласно рекомендовали переизбрать В.В. Кутырева, директора ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», на пост Председателя Координационного совета сроком на пять лет.