

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 2

2019

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

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

Проблемы особо опасных инфекций
2019. Вып. 2. 116 с.

Подписано в печать 20.06.19
Формат 60×88 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 14,21
Гарнитура Таймс. Заказ 1992-19/24069

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

© Федеральное казенное учреждение
здравоохранения «Российский научно-
исследовательский противочумный
институт «Микроб», 2019

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Акимкин В.Г., докт. мед. наук, академик РАН (Москва, Россия)
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,
иностраннный член РАН (Минск, Беларусь)
Цогбадрах Н., канд. мед. наук (Улаанбаатар, Монголия)

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)
Круликов 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)
Микиш 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

2019, Issue 2

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.*, Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS

Editorial Council

Abdikarimov S.T., Doctor of Medical Science, Associate Professor (Bishkek, Kyrgyzstan)
Akimkin V.G., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)
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, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)
Dyatlov I.A., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Obolensk, Russia)
Kulichenko A.N., Doctor of Medical Science, Professor, Corresponding Member of the RAS (Stavropol, Russia)
Lvov D.K., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)

Maleev V.V., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)
Motin V.L., Ph. D., Professor (Galveston, USA)
Onishchenko G.G., Doctor of Medical Science, Professor, 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, Professor, 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. (Ulaanbaatar, 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>

Обзоры

Казачинская Е.И., Шаньшин Д.В., Иванова А.В.
Лихорадка Зика: разработка средств диагностики, профилактики и лечения

6

Пономаренко Д.Г., Ежлова Е.Б., Русанова Д.В.,
Хачатурова А.А., Пакскина Н.Д., Бердникова
Т.В., Манин Е.А., Семенко О.В., Логвиненко
О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Малецкая
О.В., Куличенко А.Н. Анализ эпизоотолого-
эпидемиологической обстановки по бруцеллезу в
Российской Федерации в 2018 г. и прогноз на 2019 г. ..

14

Рудакова С.А., Пенъевская Н.А., Рудаков
Н.В., Пакскина Н.Д., Савельев Д.А., Блох А.И.
Интенсивность и тенденции развития эпидемиче-
ского процесса иксодовых клещевых боррелиозов в
Российской Федерации в 2002–2018 гг. и прогноз на
2019 г.

22

Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Исаева Г.Ш.,
Решетникова И.Д., Пакскина Н.Д., Серова И.В.,
Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В. Обзор со-
временной эпидемиологической обстановки по забо-
леваемости геморрагической лихорадкой с почечным
синдромом в мире и прогноз заболеваемости на терри-
тории Российской Федерации в 2019 г.

30

Стовба Л.Ф., Кротков В.Т., Павельев Д.И.,
Мельников С.А., Лебедев В.Н., Борисевич С.В.
Анализ и перспективы применения рекомбинантного
вируса вакцины, штамм MVA, в качестве вектора при
разработке вакцин против заболеваний, вызванных ви-
русами иммунодефицита человека и обезьян

37

Оригинальные статьи

Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Прислегина
Д.А., Манин Е.А., Семенко О.В., Шапошникова
Л.И., Волюнкина А.С., Лисицкая Я.В., Таран Т.В.,
Варфоломеева Н.Г., Герасименко Е.В., Куличенко
А.Н. Эпизоотологический мониторинг природно-
очаговых инфекций на территории юга европейской
части России в 2017 г.

45

Дудина Л.Г., Малкова М.А., Чернядьев А.В.,
Литвинец С.Г., Бывалов А.А. Влияние специфиче-
ских бактериофагов и гентамицина на морфологию и
везикулообразование бактерий *Yersinia pestis* EV.....

50

Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Альхова Ж.В.,
Балыкова А.Н., Куклева Л.М., Кутырев В.В.
Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis*
средневекового биовара, выделенных в Прикаспийском
Северо-Западном степном очаге чумы в XX столетии..

55

Заднова С.П., Крицкий А.А., Плеханов Н.А.,
Гусева Н.П., Лозовский Ю.В., Смирнова Н.И.
Выявление механизмов изменения продукции ацетон-
а у генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae*
O1 биовара Эль Тор.....

62

Reviews

Kazachinskaya E.I., Shan'shin D.V., Ivanova A.V.
Zika Fever: Development of Diagnostics, Prevention and
Treatment

Ponomarenko D.G., Ezhlova E.B., Rusanova D.V.,
Khachaturova A.A., Pakskina N.D., Berdnikova T.V.,
Manin E.A., Semenko O.V., Logvinenko O.V., Rakitina
E.L., Kostyuchenko M.V., Maletskaya O.V., Kulichenko
A.N. Analysis of Epizootiological-Epidemiological
Situation on Brucellosis in the Russian Federation in 2018
and Forecast for 2019

Rudakova S.A., Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V.,
Pakskina N.D., Savel'ev D.A., Blokh A.I. Intensity and
Trends in Development of Epidemic Process of Ixodes Tick-
Borne Borrelioses in the Russian Federation in 2002–2018
and Forecast for 2019

Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Isaeva G.Sh.,
Reshetnikova I.D., Pakskina N.D., Serova I.V., Ivanova
A.V., Safronov V.A., Popov N.V. Review of the Current
Epidemiological Situation on the Incidence of Hemorrhagic
Fever with Renal Syndrome in the World and Forecast of
the Incidence for the Territory of the Russian Federation in
2019

Stovba L.F., Krotkov V.T., Paveli'ev D.I., Mel'nikov
S.A., Lebedev V.N., Borisevich S.V. Analysis and Prospects
of Using Recombinant Vaccinia Virus MVA Strain as a
Vector in the Development of the Vaccines against Human
and Simian Immunodeficiency Virus Diseases

Original articles

Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Prislegina
D.A., Manin E.A., Semenko O.V., Shaposhnikova
L.I., Volynkina A.S., Lisitskaya Ya.V., Taran T.V.,
Varfolomeeva N.G., Gerasimenko E.V., Kulichenko A.N.
Epizootiological Monitoring of Natural Focal Infections in
the South of the European Part of the Russian Federation in
2017

Dudina L.G., Malkova M.A., Chernyad'ev A.V.,
Litvinets S.G., Byvalov A.A. Effect of Bacteriophages
and Gentamycin on Morphology and Vesicle Formation of
Bacteria *Yersinia pestis* EV

Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V.,
Balykova A.N., Kukleva L.M., Kutyrev V.V. Phylogenetic
Analysis of *Yersinia pestis* Strains of Medieval Biovar,
Isolated in Precaspian North-Western Steppe Plague Focus
in the XX Century

Zadnova S.P., Kritsky A.A., Plekhanov N.A., Guseva
N.P., Lozovsky Yu.V., Smirnova N.I. Identification of the
Mechanisms of Acetoin Production Change in Genetically
Altered *Vibrio cholerae* Strains O1 Biovar El Tor

- Зинич Л.С., Коваленко И.С., Пидченко Н.Н., Тихонов С.Н. Эпидемиологическая значимость хантавирусной инфекции в Крыму 69
- Ковалевская А.А., Василькова О.Л., Агапов Б.Л., Куклев Е.В., Сафронов В.А., 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 лихорадке Западного Нила 74
- Корзун В.М., Балахонов С.В., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Токмакова Е.Г., Санаров П.П., Акулова С.С., Косилко С.А., Отгонбаяр Д., Оргилбаяр Л., Батжав Д., Уржих Ч., Тоголдор Н., Махбал А., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д. Эпизоотическая ситуация в Монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 г. 79
- Монахова Е.В., Демидова Г.В., Писанов Р.В., Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н. Рекомбинантный штамм *Escherichia coli* с повышенной продукцией нейраминидазы *Vibrio cholerae* 87
- Найденкова Е.В., Захаров К.С., Карташов М.Ю., Агафонов Д.А., Бойко А.В., Касьян Ж.А., Сеничкина А.М., Никифоров К.А., Оглодин Е.Г., Шиповалов А.В., Дубинина А.А., Поршаков А.М., Nouridine I., Diallo M.G., Nassour A.A., Kourouma A., Drame F., Сафронов В.А., Лопатин А.А., Boumbali S., Kalivogui S., Boiro M.Y., Щербак С.А., Кутырев В.В. Выявление маркеров вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки в пробах иксодовых клещей, собранных на территории Гвинейской Республики 93
- Никитин А.Я., Андаев Е.И., Носков А.К., Пакскина Н.Д., Яценко Е.В., Веригина Е.В., Балахонов С.В. Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом в субъектах Российской Федерации. Сообщение 2. Оценка соответствия данных прогноза и сезонного мониторинга фактической заболеваемости.. 99
- Попов В.П., Мезентцев В.М., Антонов А.В., Шкурин Г.П., Безсмертный В.Е., Лопатин А.А. Ландшафтно-эпидемиологическое районирование Краснодарского края и Республики Адыгея по туляремии..... 105
- Хаммадов Н.И. Генетические маркеры вируса ящура крупного рогатого скота, геномный анализ 111
- Zinich L.S., Kovalenko I.S., Pidchenko N.N., Tikhonov S.N. Epidemiological Significance of Hantavirus Infection in Crimea 69
- Kovalevskaya A.A., Vasil'kova O.L., Agapov B.L., Kouklev E.V., Safronov V.A., Shcherbakova S.A., Nikeshina N.N., Noskova L.N., Arshba T.E., Rudenko G.G., Shishlonov A.M. Risk-Oriented Characteristics of the Current Epidemiological Situation on West Nile Fever in the Astrakhan Region 74
- Korzun V.M., Balakhonov S.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Tokmakova E.G., Sanarov P.P., Akulova S.S., Kosilko S.A., Otgonbayar D., Orgilbayar L., Batzhav D., Urzhikh Ch., Togoldor N., Makhbal A., Tsogbadrakh N., Tserennorov D. Epizootic Situation in the Mongolian Part of the Transboundary Sailugem Natural Plague Focus in 2018 79
- Monakhova E.V., Demidova G.V., Pisanov R.V., Duvanov O.V., Mishan'kin B.N. Recombinant *Escherichia coli* Strain with Enhanced Production of *Vibrio cholerae* Neuraminidase 87
- Naydenova E.V., Zakharov K.S., Kartashov M.Yu., Agafonov D.A., Boiko A.V., Kas'yan Zh.A., Senichkina A.M., Nikiforov K.A., Oglodin E.G., Shipovalov A.V., Dubinina A.A., Porshakov A.M., Nouridine I., Diallo M.G., Nassour A.A., Kourouma A., Drame F., Safronov V.A., Lopatin A.A., Boumbali S., Kalivogui S., Boiro M.Y., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Markers in Samples of Ixodes Ticks Collected in the Territory of the Republic of Guinea 93
- Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Noskov A.K., Pakskina N.D., Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Balakhonov S.V. Tick-Borne Viral Encephalitis Incidence in the Constituent Entities of the Russian Federation. Communication 2. Verification of Conformity of the Forecast Data and Seasonal Monitoring of Actual Morbidity Rates 99
- Popov V.P., Mezentshev V.M., Antonov A.V., Shkurin G.P., Bezsmertny V.E., Lopatin A.A. Landscape-Epidemiological Zoning of the Krasnodar Territory and the Republic of Adygea by Tularemia 105
- Khammadov N.I. Genetic Markers of the Cattle Foot and Mouth Disease Virus: Genomic Analysis 111

Е.И. Казачинская, Д.В. Шаньшин, А.В. Иванова

ЛИХОРАДКА ЗИКА: РАЗРАБОТКА СРЕДСТВ ДИАГНОСТИКИ, ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ*ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация*

Обзор посвящен анализу литературных данных о разрабатываемых средствах диагностики лихорадки Зика и выявления этиологического агента – вируса Зика (ZIKV), относящегося к семейству флавивирусов (*Flaviviridae*). Рассмотрены также варианты профилактических вакцин и противовирусных препаратов. Метод ОТ-ПЦР имеет решающее значение для подтверждения диагноза лихорадки Зика. РНК ZIKV может быть обнаружена в сыворотке крови, слюне, амниотической и цереброспинальной жидкостях, моче, сперме, вагинальных и цервикальных выделениях. Виремия при лихорадке Зика непродолжительная, в связи с чем присутствие РНК ZIKV в моче и в сперме до 26 и 80 сут соответственно расширяет временной интервал обнаружения этого патогена. Выявление антител класса IgM серологическими методами не является достаточным основанием для подтверждения недавней инфекции, так как антитела этого класса, специфичные к флавивирусам, циркулируют в кровотоке более 12 недель. Диагностическую ценность IgM имеют только для подтверждения врожденной инфекции. Существует проблема дифференциальной диагностики флавивирусных инфекций, вызываемых опасными для человека антигенно-родственными вирусами (например, денге, желтой лихорадки, лихорадки Западного Нила, клещевого и японского энцефалитов) из-за подобия их геномов и, соответственно, схожей антигенной структуры вирусных белков, особенно структурного гликопротеина Е. Более надежные результаты можно получить, используя в качестве антигена для выявления специфических антител неструктурный гликопротеин NS1, полученный методами молекулярной биологии. Этот вирусный белок также может быть использован в серологических тестах в качестве клинического индикатора при острой ЛЗ. При конструировании и исследовании 45 видов кандидатных вакцин (инактивированных, живых аттенуированных, рекомбинантных пептидных, на основе рекомбинантных ДНК и РНК, вирус-векторных и вирусоподобных частиц) против ZIKV установлено, что их защитная эффективность опосредуется индуцированными антителами, специфичными к структурному гликопротеину Е, который инициирует рецепторное связывание и слияние с мембранами инфицируемых клеток. В настоящее время нет ни одного лицензированного средства для лечения пациентов с флавивирусными инфекциями. Ведется скрининг различных препаратов с известной антивирусной активностью и одобренных для применения в клинической практике и поиск новых соединений, ингибирующих проникновение вирусных частиц в клетки хозяина (мишень – структурный гликопротеин Е) и репликацию вируса (мишени – неструктурные белки NS5, NS3, NS2B).

Ключевые слова: вирус Зика (ZIKV), лихорадка Зика (ЛЗ), диагностика, кандидатные вакцины, антивирусные препараты.

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

Для цитирования: Казачинская Е.И., Шаньшин Д.В., Иванова А.В. Лихорадка Зика: разработка средств диагностики, профилактики и лечения. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-6-13

E.I. Kazachinskaya, D.V. Shan'shin, A.V. Ivanova

Zika Fever: Development of Diagnostics, Prevention and Treatment*State Scientific Centre of Virology and Biotechnology "Vector"; Kol'tsovo, Russian Federation*

Abstract. This review is devoted to the analysis of the literature data on the development of tools for diagnostics of Zika fever and detection of etiological agent – Zika virus (ZIKV) belonging to the *Flaviviridae* family. Preventive vaccines and antiviral drugs are also considered. RT-PCR method is critical for confirmation of Zika fever diagnosis. ZIKV RNA may be detected in blood serum, saliva, amniotic and cerebrospinal fluids, urine, semen, vaginal and cervical secretions. The duration of viremia in case of Zika fever is short; therefore the presence of ZIKV RNA in urine and sperm for up to 26 and 80 days, respectively, extends the time interval for the detection of this pathogen. Detection of IgM antibodies by serological methods is not a good reason to confirm a recent infection, since antibodies of this class, specific to flaviviruses, circulate in the bloodstream for more than 12 weeks. The IgM show high diagnostic value in confirmation of congenital infection only. There is a problem of differential diagnostics of flavivirus infections caused by antigenically related viruses that are dangerous for humans, for instance, Dengue, Yellow fever, West Nile fever viruses, tick-borne and Japanese encephalitis viruses. It is associated with the similarity of their genomes and, consequently, similar antigenic structure of viral proteins, structural glycoprotein E in particular. More reliable results can be obtained by using the nonstructural glycoprotein NS1, produced by molecular biology methods, as an antigen for the detection of specific antibodies. This viral protein can also be used in serological tests, as a clinical indicator in case of acute Zika fever. Forty five types of candidate vaccines against ZIKV, such as inactivated, live attenuated, recombinant, peptide, recombinant DNA and RNA-based, virus-vector and virus-like particle ones were designed and studied. It was established that their

protective efficacy is mediated by induced antibodies, specific to structural glycoprotein E which initiates receptor binding and fusion with the membranes of infected cells. Currently, there is no licensed preparation for treating patients with flaviviral infections. Various drugs are screened, both with known antiviral effect and approved for use in clinical practice, and new compounds that inhibit the penetration of viral particles into host cells (structural glycoprotein E being the target) and virus replication (targets are NS5, NS2B nonstructural proteins).

Key words: Zika virus, Zika fever, diagnostics, candidate vaccines, antiviral drugs.

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., Shan'shin D.V., Ivanova A.V. Zika Fever: Development of Diagnostics, Prevention and Treatment. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2019; 2:6–13. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-6-13

Received 05.09.18. Revised 03.10.18. Accepted 05.12.18.

Вирус Зика (ZIKV) является представителем антигенного комплекса вируса Spondweni, рода *Flavivirus* семейства *Flaviviridae* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser>). Строение вириона, организация генома, структура и функции вирусных белков подобны у всех представителей рода *Flavivirus* [1]. Флавивирусный вирион имеет сферическую форму с диаметром 40–60 нм, содержит в липидной оболочке, окружающей нуклеокапсид, 180 молекул гликопротеина E (envelope) и 180 молекул негликолизированного матричного протеина M (matrix). Капсид с кубическим типом симметрии, сформированный 180 молекулами белка С (capsid), содержит геном в виде линейной одноцепочечной +РНК, выполняющей функции мРНК в клетке хозяина. Геномная РНК имеет размер приблизительно 11000 пар нуклеотидов (п.н.) и кодирует полипротеин, который подвергается посттрансляционной модификации с образованием 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 [2].

ZIKV впервые изолирован в 1947 г. в Уганде из сыворотки крови обезьяны *Macaca mulatta* (макака-резус), находящейся в лихорадочном состоянии [3]. Длительное время этот вирус не считался опасным для человека, несмотря на серологические доказательства его циркуляции во многих странах Африки и Азии [4]. Эпидемия лихорадки Зика (ЛЗ), неожиданно начавшаяся в 2007 г. на острове Яп Федеральных Штатов Микронезии, к 2014 г. распространилась по всем тихоокеанским островам. В начале 2015 г. ZIKV впервые идентифицирован в Бразилии, а к концу года распространился по континентальной Южной Америке, появился в странах Центральной Америки и Карибского бассейна, а также в Мексике [1, 5, 6].

Кроме классического векторного пути при укусе синантропным комаром *Aedes aegypti* [1], ZIKV способен передаваться также и при половом контакте [7], при переливании крови [8] и трансплантации органов [9], что создает угрозу распространения ЛЗ на территории, свободные от комаров-переносчиков. По данным Роспотребнадзора, всего за период с января 2015 по 19 мая 2017 г. в мире зарегистрировано 8176 завозных случаев ЛЗ в 62 странах, в том числе 18 в РФ (<http://www.rosпотребнадзор.ru>). Инфекция, вызываемая ZIKV, приблизительно в 80 % случаев протекает бессимптомно, либо со слабовыраженной

симптоматикой [4, 5]. Среди наиболее частых симптомов при ЛЗ отмечаются макулопапулезные высыпания (в 90–96 % случаев), лихорадка (62–65 %), миалгия и артралгия (48–65 %), головная боль (45–58 %), негнойный конъюнктивит (38–55 %) и ретроорбитальные боли (40 %). Связь ZIKV с такими неврологическими расстройствами, как синдром Гийена-Барре, менингит, менингоэнцефалит и миелит, стала прослеживаться во время эпидемии ЛЗ во Французской Полинезии в течение 2013–2014 гг. [4, 10]. Нейротератогенное влияние ZIKV на эмбрионы стало очевидным при увеличении числа младенцев с микроцефалией, рожденных в Бразилии в 2015 г. от матерей, переболевших ЛЗ в первом триместре беременности [5, 6]. Инфицирование беременных женщин может приводить к самопроизвольному аборт [1], а у детей, родившихся с микроцефалией, в 55 % случаев наблюдается высокая частота аномалий сетчатки, катаракта и макулопатия [11]. Есть предположение, что со временем у детей, рожденных у матерей с бессимптомной ЛЗ, может развиваться синдром Гийена-Барре в виде паралича нижних конечностей, энцефалита, миелита или болезни глаз, приводящие к слабослыдению или слепоте. Кроме того, рост психических расстройств в будущем может быть связан с бессимптомной инфекцией ZIKV у новорожденных [12].

Глобальное распространение ZIKV в современном мире способствовало углубленному исследованию патогенеза ЛЗ [13, 14], разработкам диагностических тест-систем [15] и профилактических вакцин [8], а также поиску противовирусных препаратов [16].

Диагностика лихорадки Зика. Клиническая симптоматика ЛЗ подобна лихорадкам денге и Чикунгунья [5], малярии, краснухе, кори, лептоспирозу, риккетсиозам, парво-, адено- и стрептококковым инфекциям [10], а также лихорадке Западного Нила, желтой лихорадке и герпесвирусным инфекциям [8]. Инкубационный период при ЛЗ обычно равен 2–7 сут, но может составлять до двух месяцев, болезнь также длится 2–7 сут [17]. РНК ZIKV выявляется методом ОТ-ПЦР в сыворотке крови и моче пациентов только через несколько дней после проявления симптомов заболевания [18], но этот метод имеет решающее значение для подтверждения диагноза ЛЗ. Вирусная РНК может быть обнаружена в амниотической жидкости эмбрионов, а у заболевших людей – в слюне, сперме, цереброспинальной жидкости [5], вагинальных и цервикальных выделениях

[19]. Обнаружение РНК ZIKV в плазме/сыворотке крови в образцах, собранных через неделю после начала заболевания, является сложной задачей из-за непродолжительной виремии. Присутствие РНК ZIKV в моче до 26 сут после появления симптомов расширяет временной период обнаружения этого патогена [20]. После появления симптомов лихорадки, РНК ZIKV обнаруживается в слюне и в сперме до 29 и 80 сут соответственно [21]. Лабораторные и коммерческие тест-системы ОТ-ПЦР, применяемые в настоящее время для выявления РНК ZIKV, основаны на праймерах, позволяющих амплифицировать районы кДНК, соответствующие генам prM, E, NS5, NS3 и NS1 африканского штамма MR 766 (GenBank № AY632535) и NS2b азиатской линии ZIKV [5].

Серологическое исследование по выявлению иммуноглобулинов М (IgM), обычно рано появляющихся в сыворотке крови заболевших, как правило, не является достаточно специфическим для подтверждения диагноза ЛЗ. Антитела класса IgM, специфичные к ZIKV, как и в случае с другими флавивирусами, циркулируют в кровотоке более 12 недель после заражения. Но антитела этого класса не проходят через плаценту, поэтому они могут быть хорошим маркером врожденной инфекции у новорожденных. Обнаружение в спинномозговой жидкости IgM, специфичных к ZIKV, является подтверждающим фактором неврологической инфекции [22].

Проблема дифференциальной серологической диагностики представителей рода *Flavivirus*, особенно имеющих перекрывающиеся ареалы, затруднена из-за подобия их геномов и, соответственно, схожей антигенной структуры вирусных белков [13]. Известно, что оболочечный структурный вирусный гликопротеин E ZIKV, состоящий из трех доменов (I, II и III) более чем на 50 % по общей структуре, а в петле слияния домена II – на 100 % идентичен у наиболее опасных для человека флавивирусов: денге (dengue virus, DENV), желтой лихорадки (Yellow fever virus, YFV), Западного Нила (West Nile virus, WNV), японского энцефалита (Japanese encephalitis virus, JEV) [23] и клещевого энцефалита (Tick-borne encephalitis virus, TBEV) [24]. Большинство серийно выпускаемых в настоящее время диагностических наборов для выявления антител методом ИФА на основе рекомбинантных белков E или NS1 ZIKV не обеспечивают достаточной специфичности из-за перекрестной активности этих антигенов с антителами, специфичными к DENV [25]. Рекомбинантные белки E, NS1 и NS5 ZIKV использовали при разработке мультиплексного серологического анализа для обнаружения специфических антител классов IgM и IgG. Показано, что выявление антител, специфичных к неструктурным белкам NS1 и NS5, имеет более высокую диагностическую ценность [26]. Гликопротеин NS1 ZIKV может быть использован в качестве клинического индикатора инфекции при острой ЛЗ. Показано, что моноклональные антитела выявляют этот антиген ZIKV в концентрации 1 и 10 нг/мл. Методы, разработанные на принципе вы-

явления белка NS1, могут стать альтернативой методу ПЦР и эффективным подтверждающим методом диагностики ЛЗ [27].

Эталонным методом диагностики флавивирусных инфекций остается метод редукции бляшек на культуре клеток нейтрализующими антителами, содержащимися в сыворотках крови переболевших людей. Однако этот метод (plaque reduction neutralization test, PRNT) трудоемкий и требует много времени. Для преодоления названных недостатков разработан новый высокопроизводительный PRNT с серологическим детектированием антигена ZIKV моноклональными антителами, специфичными к белку E, и антивидовыми флуоресцирующими антителами [18].

Кандидатные вакцины против ZIKV. Необходимость защиты беременных женщин от инфицирования ZIKV, недостаточная информация об инфекционных свойствах этого патогена и вызываемом им иммунитете, возможное антителозависимое усиление заболевания при наличии антител, специфичных к другим флавивирусам – основные проблемы на пути развития вакцины против ZIKV [13]. Однозначно лишь то, что разработанная вакцина будет эффективна против всех штаммов ZIKV из-за небольших генетических расхождений между ними [8].

В связи с тем, что структурный гликопротеин E флавивирусов инициирует рецепторное связывание и слияние с мембранами инфицируемых клеток, он является главной мишенью при разработке вакцин [2, 28]. Картирование эпитопов в структуре этого белка позволило предположить его потенциальную роль в индуцировании В- и Т-клеточных иммунных ответов [29]. В настоящее время в разработке находятся 45 кандидатных вакцин для экстренного использования у женщин детородного возраста, включая беременных. Используются традиционные подходы для получения инактивированных, живых аттенуированных, вирус-векторных, рекомбинантных субъединичных вакцин, на основе вирусоподобных частиц (virus-like particles, VLPs) и платформы нового типа на основе рекомбинантных ДНК и РНК [30]. Вакцина на основе очищенного препарата штамма Puerto Rico PRVABC59, инактивированного 0,05 % формалином, обеспечивала защиту мышей линии BALB/c при внутримышечном заражении в дозе 10^2 БОЕ/мл (бляшкообразующих единиц в миллилитре) бразильским штаммом ZIKV Brazil/ZKV2015, который проходит через плаценту и индуцирует фетальную микроцефалию и внутриутробное ограничение роста мышей [31]. Эта же экспериментальная вакцина стимулировала выработку нейтрализующих антител у иммунизированных макаков-резусов и их защиту при заражении в дозе 10^3 БОЕ/мл как бразильским штаммом Brazil/ZKV2015 так и пуэрториканским PRVABC59. Вирус не обнаружили в сыворотке крови, моче, спинномозговой жидкости, ректальных и вагинальных секретах иммунизированных животных [31]. Вакцина на основе инактивированного формалином ZIKV прошла фазу I клинических ис-

пытаний в 2017 г. на добровольцах [28].

Живые аттенуированные вакцины, противопоказанные при беременности, могут быть использованы для иммунизации взрослых или детей и подростков [30]. Такие вакцины производятся путем ослабления вирулентности вируса с целью сохранения его способности вызывать легкое заболевание и индуцировать полноценные иммунные реакции. Показано, что вариант ZIKV с делецией 10 нуклеотидов в 3'-нетраслируемой области вирусного генома не может инфицировать комаров. Тем не менее, такой ZIKV был иммуногенным и без развития виремии вызывал защитные реакции у инфицированных мышей линии A129, иммунодефицитных по рецептору интерферона [32]. Использование методов обратной генетики позволило обнаружить несколько инфекционных кДНК-клонов ZIKV изолята Paraiba_01/2015, выделенного в Бразилии, эффективно реплицирующихся на культуре клеток различного происхождения, в том числе нейронального и плацентарного. Авторы считают, что при ослаблении вирулентности эти кДНК-клоны могут быть использованы в качестве генетической платформы для разработки альтернативных живых аттенуированных вакцин [33]. В 2017 г. проведена фаза I клинических испытаний одновалентной живой вакцины против ZIKV и мновалентной, одновременно защищающей от ZIKV и четырех серотипов DENV [28].

Векторная вакцина на основе аденовируса серотипа 52 (RhAd52), экспрессирующая гены prM/E ZIKV, при однократной иммунизации индуцировала у макаков-резусов синтез нейтрализующих антител и защищала их от развития виремии при заражении штаммом Brazil/ZKV2015 в дозе 10^3 БОЕ/мл [34]. Искусственную генетическую конструкцию, содержащую гены C, prM, E ZIKV (изолят KU312312.1) и ген протеазы (NS2b) WNV, клонировали в вектор pcDNA3.1. Эффективное производство химерных VLPs достигнуто в клетках линии 293T. Электронная микроскопия показала, что морфология этих VLPs согласуется с морфологией нативного ZIKV, а общее содержание белка в препаратах варьировало от 1,7 до 2,3 мг/мл. Результаты иммунизации мышей линии BALB/c показали, что VLPs стимулировали синтез нейтрализующих антител, специфичных к ZIKV [35]. Показана высокая иммуногенность фаговых VLPs, несущих аминокислотные последовательности, отображающие множественные В-клеточные эпитопы гликопротеина E ZIKV [36]. Использование в качестве вакцины ДНК, экспрессирующей гены prM/E ZIKV, продемонстрировало полную защиту от инфицирования полупермиссивных и иммунодефицитных мышей линии BALB/c и C57BL/6, соответственно, при их заражении штаммами Brazil/ZKV2015 и PRVABC59 в дозе 10^2 БОЕ/мл [31]. Показано, что введение синтетически синтезированных ДНК, кодирующих гены prM и E штаммов MR766 и Brazilian-2016, полностью защищало мышей линии C57BL/6 от повреждения семенников и сперматозоидов, а также препятствовало персистен-

ции вируса в яичках при заражении животных этими штаммами ZIKV [37]. Химерная рекомбинантная вакцина, названная ChinZIKV, получена на основе лицензированной аттенуированной вакцины против JEV (штамм SA14-14-2) путем замены генов prM/E JEV соответствующей областью генов ZIKV азиатского штамма FSS1302531. Исследования *in vitro* показали, что ChinZIKV сохраняет репликативную активность и генетическую стабильность. Однократная иммунизация этой вакциной макаков-резусов, а также иммунодефицитных мышей линии A129 и иммунокомпетентных мышей линии BALB/c вызывала формирование устойчивого и длительного иммунного ответа, обеспечивающего полную защиту животных от заражения ZIKV (с предварительным введением мышам линии BALB/c антител против интерферона, который подавляет репликацию ZIKV у иммунокомпетентных мышей). Инфицирование беременных мышей, ранее иммунизированных препаратом ChinZIKV, не вызывало внутриутробного повреждения эмбрионов [38]. Вакцины против ZIKV разрабатываются и на основе мРНК, инкапсулированных липидными наночастицами. Например, две дозы инкапсулированной мРНК, кодирующей гены prM и E штамма Micronesia 2007, с мутацией в последовательности эпитопа петли слияния белка E, индуцировали синтез нейтрализующих антител в титре 1/100000 у иммунодефицитных мышей двух линий (AG129 и C57BL/6), что обеспечивало защиту животных от заражения ZIKV (штамм Malaysia 1966) в дозе 10^4 БОЕ/мл [39]. В целом, при конструировании и исследовании кандидатных вакцин против ZIKV, установлено, что их защитная эффективность опосредуется индуцированными антителами, специфичными к структурному гликопротеину E и имеющими биологическую активность в виде нейтрализации нативного вируса [28].

Современные подходы к разработке лекарственных препаратов против ZIKV. В настоящее время нет ни одного лицензированного противовирусного средства для лечения пациентов с флавивирусными инфекциями. В поиске антивирусных препаратов для борьбы с болезнью, вызываемой ZIKV, используются различные подходы и методологии – от тестирования конкретных соединений с известной антивирусной активностью до библиотек, состоящих из сотен биоактивных молекул, многие из которых уже одобрены FDA (Food and Drug Administration, USA) для применения в клинической практике, причем многие из этих молекул являются препаратами широкого спектра действия. Например, тестировались аналоги нуклеозидов, ингибиторы полимеразы, иммуномодуляторы, антибиотики, противовоспалительные препараты, антималярийные, антигельминтные средства и т.д. В обзоре J.C. Saiz *et al.* [16] приведена сводная таблица по результатам исследований этих препаратов на культурах клеток животного и человеческого происхождения. Авторы отмечают, что необходима тщательная проверка терапевтических препаратов, так как основными полу-

чателями антивирусной терапии при ЛЗ будут беременные женщины.

Неструктурный белок NS5 ZIKV является главной мишенью для поиска противовирусных средств, так как состоит из двух молекул: N-концевой метилтрансферазы и С-концевой РНК-зависимой РНК-полимеразы, что определяет его центральную роль в репликации вирусной РНК. Ключевые С-концевые аминокислотные остатки белка NS5 ZIKV схожи с аналогичной структурой вирусов Японского энцефалита и гепатита С. Конформация полимеразы зависит от метилтрансферазы, что позволяет более эффективно удлинять вирусную РНК *in vitro*. Скрининг ингибиторов этих молекул ZIKV, предположительно, позволит обнаружить наиболее эффективные противовирусные агенты [40]. Белок NS3 (хеликаза), а именно его сайт связывания с вирусной РНК, также является многообещающей мишенью для разработки терапевтических средств против ZIKV [41]. Протеазный комплекс секреторных белков NS2B и NS3 играет важную роль в процессинге флавирусного полипротеина и, таким образом, представляет собой привлекательную потенциальную мишень для лекарственных препаратов [42]. Несколько видов нуклеозидных аналогов показали эффективность против ZIKV на культуре клеток Vero. Один из этих препаратов 7-deaza-2'-CMA, проявивший активность на культуре клеток в 50 % эффективной концентрации (effective concentration, EC50) равной 9,6 мМ, с индексом селективности (Selectivity index, SI) 7, влиял на задержку прогрессирования заболевания и на уменьшение вирусной нагрузки в сыворотках крови иммуносупрессивных мышей линии AG129, получавших лекарство один раз в сутки [43]. Софосбувир (нуклеотидный аналог, одобренный FDA для лечения гепатита С) способствовал уменьшению количества белка NS1 в инфицированных нейрорепродуктивных стволовых клетках человека и ингибировал репликацию ZIKV в клетках плаценты с EC50 1–5 мМ и с SI > 4. Этот препарат при пероральном введении в концентрации 33 мг в сутки также повышал выживаемость до 50 % у мышей линии C57BL/6J, которым заранее были введены антитела против интерферона [44]. При скрининге 2816 препаратов выбрали три потенциальных кандидата, уже одобренных для использования по разным терапевтическим показаниям в США и других странах – темпорфин, никлозамин и нитазоксанид. Наиболее эффективное соединение темпорфин не только ингибировало репликацию ZIKV в нейронах и в клетках плаценты человека, но и предотвращало развитие вирусемии и смертность у иммунодефицитных мышей. На основе результатов структурного моделирования было высказано предположение, что этот препарат связывает сайты белка NS3, необходимые для его стыковки с белком NS2B [45]. Широко используемый антималярийный препарат хлорохин, разрешенный к применению у беременных женщин с целью защиты от плазмодия и ранее показавший антивирусную активность против вирусов гриппа и иммунодефицита человека, DENV,

JEV, WNV, также ингибировал и ZIKV на культурах клеток: Vero, мышинных нейронах, человеческих стволовых и эндотелиальных клетках микрососудов мозга [46]. Несколько препаратов, используемых для лечения рака, протестированы на способность ингибировать репликацию ZIKV. Obatoclax, SaliPhe и Gemcitabine подавляли инфекционность ZIKV на культуре эпителиальных клеток сетчатки в концентрациях, которые были ниже цитотоксических. Комбинация Obatoclax и SaliPhe в наномолярных концентрациях показала синергический эффект против ZIKV [47]. Другие химические соединения, например, эпигаллокатехин гидрат и полифенол, присутствующие во многих натуральных продуктах (в зеленом чае, сельдерее, брокколи, зеленом перце и куркуме), проявляют активность против ZIKV с EC50, соответствующей 21,4 мМ [48].

Ингибирование проникновения вирусных частиц в клетки хозяина через рецепторное взаимодействие гликопротеина Е оказалось успешной моделью при исследовании многих флавириусов. Использование специфических нейтрализующих антител, специфичных к этому белку, представляется потенциальной стратегией терапии флавириусных инфекций [2, 16]. Недавно было показано, что внутрибрюшинное введение беременным мышам линии C57BL/6 сыворотки крови переболевшего человека способствовало подавлению репликации ZIKV, уменьшало количество инфицированных клеток-предшественников нейронов в тканях мозга эмбрионов и предотвращало микроцефалию [49]. Гибридные человеческие антитела, распознающие различные эпитопы на гликопротеине Е и нейтрализующие ZIKV *in vitro*, при введении беременным мышам линии C57BL/6 заметно уменьшали плацентарную инфекцию, патологию тканей эмбрионов и их смертность [50].

Таким образом, длительная персистенция ZIKV в биологических жидкостях инфицированных людей и дополнительные способы передачи: при половом контакте, переливании крови и трансплантации органов, способствуют его глобальному распространению в мире. В течение одного десятилетия ZIKV распространился на новые географические территории, где циркулируют антигенно-родственные ему флавириусы, опасные для человека. Многие патогены (малярийный плазмодий, вирусы Чикунгунья, краснухи, кори и др.) вызывают болезни со сходными клиническими признаками. Ранняя дифференциальная диагностика инфекции, вызываемой ZIKV, очень важна, так как последствия явной и бессимптомной ЛЗ могут оказаться угрожающими для новорожденных детей, инфицированных внутриутробно. Необходимость защиты беременных женщин от инфицирования ZIKV также определяет направление разработок профилактических вакцин и антивирусных препаратов.

Работа выполнена в рамках темы ГЗ-9/18 плана основных мероприятий ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора на 2018 г.

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

Список литературы

- Yun S.I., Lee Y.M. Zika virus: An emerging flavivirus. *J. Microbiol.* 2017; 55(3):204–19. DOI: 10.1007/s12275-017-7063-6.
- Liang H., Yang R., Liu Z., Li M., Liu H., Jin X. Recombinant Zika virus envelope protein elicited protective immunity against Zika virus immunocompetent mice. *PLoS One.* 2018; 13(3):e0194860. DOI: 10.1371/journal.pone.0194860.
- Dick G.W., Kitchen S.F., Haddow A.J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1952; 46(5):509–20. DOI: 10.1016/0035-9203(52)90042-4.
- 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.
- 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.
- Kim Y.H., Lee J., Kim Y.E., Chong C.K., Pinchemel Y., Reisdorfer F., Coelho J.B., Dias R.F., Bae P.K., Gusmão Z.P.M., Ahn H.J., Nam H.W. Development of a Rapid Diagnostic Test Kit to Detect IgG/IgM Antibody against Zika Virus Using Monoclonal Antibodies to the Envelope and Non-structural Protein 1 of the Virus. *Korean J. Parasitol.* 2018; 56(1):61–70. DOI: 10.3347/kjp.2018.56.1.61.
- D'Ortenzio E., Matheron S., Yazdanpanah Y., de Lamballerie X., Hubert B., Piorkowski G., Maquart M., Descamps D., Damond F., Leparc-Goffart I. Evidence of Sexual Transmission of Zika Virus. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374(22):2195–8. DOI: 10.1056/NEJMc1604449.
- Wahid B., Ali A., Rafique S., Idrees M. Current status of therapeutic and vaccine approaches against Zika virus. *Eur. J. Intern. Med.* 2017; 44:12–8. DOI: 10.1016/j.ejim.2017.08.001.
- 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.
- Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков А.В., Викторов Д.В., Смельянский 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.
- Ventura C.V., Maia M., Travassos S.B., Martins T.T., Patriota F., Nunes M.E., Agra C., Torres V.L., van der Linden V., Ramos R.C., Rocha M.A., Silva P.S., Ventura L.O., Belfort R. Jr. Risk Factors Associated With the Ophthalmoscopic Findings Identified in Infants With Presumed Zika Virus Congenital Infection. *JAMA Ophthalmol.* 2016; 134(8):912–8. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2016.1784.
- Torales J., Barrios I. The Zika virus beyond microcephaly: will we face an increase in mental disorders? *Medwave.* 2017; 17(1):e6869. DOI: 10.5867/medwave.2017.01.6869.
- Andrade D.V., Harris E. Recent advances in understanding the adaptive immune response to Zika virus and the effect of previous flavivirus exposure. *Virus Res.* 2018; 254:27–33. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.06.019.
- 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.
- Singh R.K., Dhama K., Karthik K., Tiwari R., Khandia R., Munjal A., Iqbal H.M.N., Malik Y.S., Bueno-Mari R. Advances in Diagnosis, Surveillance, and Monitoring of Zika Virus: An Update. *Front Microbiol.* 2018; 8:2677. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02677.
- Saiz J.C., Martin-Acebes M.A. The Race To Find Antivirals for Zika Virus. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61(6). pii: e00411–17. DOI: 10.1128/AAC.00411-17.
- Венгеров Ю.Я., Парфенова О.В. Лихорадка Зика (обзор литературы). *Лечащий врач.* 2016; 3:73–6.
- Koishi A.C., Suzukawa A.A., Zanluca C., Camacho D.E., Comach G., Duarte Dos Santos C.N. Development and evaluation of a novel high-throughput image-based fluorescent neutralization test for detection of Zika virus infection. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(3):e0006342. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006342.
- 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.
- Rossini G., Gaibani P., Vocale C., Cagarelli R., Landini M.P. Comparison of Zika virus (ZIKV) RNA detection in plasma, whole blood and urine – Case series of travel-associated ZIKV infection imported to Italy, 2016. *J. Infect.* 2017; 75(3):242–5. DOI: 10.1016/j.jinf.2017.05.021.
- Paz-Bailey G., Rosenberg E.S., Doyle K., Munoz-Jordan J., Santiago G.A., Klein L., Perez Padilla J., Medina F.A., Waterman S.H., Gubern C.G., Alvarado L.I., Sharp T.M. Persistence of Zika Virus in Body Fluids – Preliminary Report. *N. Engl. J. Med.* 2018; 379(13):1234–43. DOI: 10.1056/NEJMoal1613108.
- Cordeiro M.T., Brito C.A., Pena L.J., Castanha P.M., Gil L.H., Lopes K.G., Dhalia R., Meneses J.A., Ishigami A.C., Mello L.M., Alencar L.X., Guarines K.M., Rodrigues L.C., Marques E.T. Results of a Zika Virus (ZIKV) Immunoglobulin M-Specific Diagnostic Assay Are Highly Correlated With Detection of Neutralizing Anti-ZIKV Antibodies in Neonates With Congenital Disease. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(12):1897–904. DOI: 10.1093/infdis/jiw477.
- 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.
- Duehr J., Lee S., Singh G., Foster G.A., Krysztof D., Stramer S.L., Bermúdez González M.C., Menichetti E., Geretschläger R., Gabriel C., Simon V., Lim J.K., Krammer F. Tick-borne encephalitis virus vaccine-induced human antibodies mediate negligible enhancement of Zika virus infection *in vitro* and in a mouse model. *mSphere.* 2018; 3(1):e00011–18. DOI: 10.1128/mSphereDirect.00011-18.
- Safronetz D., Sloan A., Stein D.R., Mendoza E., Barairo N., Ranadheera C., Scharikow L., Holloway K., Robinson A., Traykova-Andonova M., Makowski K., Dimitrova K., Giles E., Hiebert J., Mogk R., Beddome S., Drebot M. Evaluation of 5 Commercially Available Zika Virus Immunoassays. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(9):1577–80. DOI: 10.3201/eid2309.162043.
- Wong S.J., Furuya A., Zou J., Xie X., Dupuis A.P. 2nd, Kramer L.D., Shi P.Y. A Multiplex Microsphere Immunoassay for Zika Virus Diagnosis. *EBioMedicine.* 2017; 16:136–40. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.01.008.
- Lee K.H., Zeng H. Aptamer-Based ELISA Assay for Highly Specific and Sensitive Detection of Zika NS1 Protein. *Anal. Chem.* 2017; 89(23):12743–8. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b02862.
- Du L., Zhou Y., Jiang S. The latest advancements in Zika virus vaccine development. *Expert. Rev. Vaccines.* 2017; 16(10):951–4. DOI: 10.1080/14760584.2017.1363648.
- Pardy R.D., Rajah M.L., Condotta S.A., Taylor N.G., Sagan S.M., Richer M.J. Analysis of the T Cell Response to Zika Virus and Identification of a Novel CD8⁺ T Cell Epitope in Immunocompetent Mice. *PLoS Pathog.* 2017; 13(2):e1006184. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006184.
- Durbin A., Wilder-Smith A. An update on Zika vaccine developments. *Expert. Rev. Vaccines.* 2017; 16(8):781–7. DOI: 10.1080/14760584.2017.1345309.
- Larocca R.A., Abbink P., Peron J.P., Zanolto P.M., Iampietro M.J., Badamchi-Zadeh A., Boyd M., Ng'ang'a D., Kirilova M., Nityanandam R., Mercado N.B., Li Z., Moseley E.T., Bricault C.A., Borducchi E.N., Giglio P.B., Jetton D., Neubauer G., Nkolola J.P., Maxfield L.F., De La Barrera R.A., Jarman R.G., Eckels K.H., Michael N.L., Thomas S.J., Barouch D.H. Vaccine protection against Zika virus from Brazil. *Nature.* 2016; 536(7617):474–8. DOI: 10.1038/nature18952.
- Shan C., Muruato A.E., Nunes B.T.D., Luo H., Xie X., Medeiros D.B.A., Wakamiya M., Tesh R.B., Barrett A.D., Wang T., Weaver S.C., Vasconcelos P.F.C., Rossi S.L., Shi P.Y. A live-attenuated Zika virus vaccine candidate induces sterilizing immunity in mouse models. *Nat. Med.* 2017; 23(6):763–7. DOI: 10.1038/nm.4322.
- Tsetsarkin K.A., Kenney H., Chen R., Liu G., Manukyan H., Whitehead S.S., Laassri M., Chumakov K., Pletnev A.G. A Full-Length Infectious cDNA Clone of Zika Virus from the 2015 Epidemic in Brazil as a Genetic Platform for Studies of Virus-Host Interactions and Vaccine Development. *mBio.* 2016; 7(4):e01114–16. DOI: 10.1128/mBio.01114-16.
- Abbink P., Larocca R.A., De La Barrera R.A., Bricault C.A., Moseley E.T., Boyd M., Kirilova M., Li Z., Ng'ang'a D., Nanayakkara O., Nityanandam R., Mercado N.B., Borducchi E.N., Agarwal A., Brinkman A.L., Cabral C., Chandrashekar A., Giglio P.B., Jetton D., Jimenez J., Lee B.C., Mojta S., Molloy K., Shetty M., Neubauer G.H., Stephenson K.E., Peron J.P., Zanolto P.M., Misamore J., Finneyfrock B., Lewis M.G., Alter G., Modjarrad K., Jarman R.G., Eckels K.H., Michael N.L., Thomas S.J., Barouch D.H. Protective efficacy of multiple vaccine platforms against Zika virus challenge in rhesus monkeys. *Science.* 2016; 353(6304):1129–32. DOI: 10.1126/science.1256157.
- Garg H., Sedano M., Plata G., Punke E.B., Joshi A. Development of Virus-Like-Particle Vaccine and Reporter Assay for Zika Virus. *J. Virol.* 2017; 91(20):e00834-17. DOI: 10.1128/JVI.00834-17.

36. Basu R., Zhai L., Contreras A., Tumban E. Immunization with phage virus-like particles displaying Zika virus potential B-cell epitopes neutralizes Zika virus infection of monkey kidney cells. *Vaccine*. 2018; 36(10):1256–64. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.01.056.
37. Muthumani K., Griffin B.D., Agarwal S., Kudchodkar S.B., Reuschel E.L., Choi H., Kravnyak K.A., Duperret E.K., Keaton A.A., Chung C., Kim Y.K., Booth S.A., Racine T., Yan J., Morrow M.P., Jiang J., Lee B., Ramos S., Broderick K.E., Reed C.C., Khan A.S., Humeau L., Ugen K.E., Park Y.K., Maslow J.N., Sardesai N.Y., Joseph Kim J., Kobinger G.P., Weiner D.B. *In vivo* protection against ZIKV infection and pathogenesis through passive antibody transfer and active immunisation with a prMEnv DNA vaccine. *NPJ Vaccines*. 2016; 1:16021. DOI: 10.1038/npjvaccines.2016.21.
38. Li X.F., Dong H.L., Wang H.J., Huang X.Y., Qiu Y.F., Ji X., Ye Q., Li C., Liu Y., Deng Y.Q., Jiang T., Cheng G., Zhang F.C., Davidson A.D., Song Y.J., Shi P.Y., Qin C.F. Development of a chimeric Zika vaccine using a licensed live-attenuated flavivirus vaccine as backbone. *Nat. Commun.* 2018; 9(1): 673. DOI: 10.1038/s41467-018-02975-w.
39. Richner J.M., Himansu S., Dowd K.A., Butler S.L., Salazar V., Fox J.M., Julander J.G., Tang W.W., Shresta S., Pierson T.C., Ciaramella G., Diamond M.S. Modified mRNA Vaccines Protect against Zika Virus Infection. *Cell*. 2017; 169(1):176. DOI: 10.1016/j.cell.2017.03.016.
40. Ramharack P., Soliman M.E.S. Zika virus NS5 protein potential inhibitors: an enhanced in silico approach in drug discovery. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2018; 36(5):1118–33. DOI: 10.1080/07391102.2017.1313175.
41. Mottin M., Braga R.C., da Silva R.A., Silva J.H.M.D., Perryman A.L., Ekins S., Andrade C.H. Molecular dynamics simulations of Zika virus NS3 helicase: Insights into RNA binding site activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017; 492(4):643–51. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.03.070.
42. Kang C., Keller T.H., Luo D. Zika Virus Protease: An Antiviral Drug Target. *Trends Microbiol.* 2017; 25(10):797–808. DOI: 10.1016/j.tim.2017.07.001.
43. Zmurko J., Marques R.E., Schols D., Verbeken E., Kaptein S.J., Neyts J. The Viral Polymerase Inhibitor 7-Deaza-2'-C-Methyladenosine Is a Potent Inhibitor of In Vitro Zika Virus Replication and Delays Disease Progression in a Robust Mouse Infection Model. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(5):e0004695. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004695.
44. Bullard-Feibelman K.M., Govero J., Zhu Z., Salazar V., Veselinovic M., Diamond M.S., Geiss B.J. The FDA-approved drug sofosbuvir inhibits Zika virus infection. *Antiviral Res.* 2017; 137: 134–40. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.11.023.
45. Li Z., Brecher M., Deng Y.Q., Zhang J., Sakamuru S., Liu B., Huang R., Koetzier C.A., Allen C.A., Jones S.A., Chen H., Zhang N.N., Tian M., Gao F., Lin Q., Banavali N., Zhou J., Boles N., Xia M., Kramer L.D., Qin C.F., Li H. Existing drugs as broad-spectrum and potent inhibitors for Zika virus by targeting NS2B-NS3 interaction. *Cell Res.* 2017; 27(8):1046–64. DOI: 10.1038/cr.2017.88.
46. Delvecchio R., Higa L.M., Pezzuto P., Valadão A.L., Garcez P.P., Monteiro F.L., Loiola E.C., Dias A.A., Silva F.J., Aliota M.T., Caine E.A., Osorio J.E., Bellio M., O'Connor D.H., Rehen S., de Aguiar R.S., Savarino A., Campanati L., Tanuri A. Chloroquine, an Endocytosis Blocking Agent, Inhibits Zika Virus Infection in Different Cell Models. *Viruses*. 2016; 8(12): pii: E322. DOI: 10.3390/v8120322.
47. Kuivaneen S., Bespalov M.M., Nandania J., Ianevski A., Velagapudi V., De Brabander J.K., Kainov D.E., Vapalahti O. Obatoclox, saliphenylhalamide and gemcitabine inhibit Zika virus infection in vitro and differentially affect cellular signaling, transcription and metabolism. *Antiviral Res.* 2017; 139:117–28. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.12.022.
48. Carneiro B.M., Batista M.N., Braga A.C.S., Nogueira M.L., Rahal P. The green tea molecule EGCG inhibits Zika virus entry. *Virology*. 2016; 496:215–18. DOI: 10.1016/j.virol.2016.06.012.
49. Wang S., Hong S., Deng Y.Q., Ye Q., Zhao L.Z., Zhang F.C., Qin C.F., Xu Z. Transfer of convalescent serum to pregnant mice prevents Zika virus infection and microcephaly in offspring. *Cell Res.* 2017; 27(1):158–60. DOI: 10.1038/cr.2016.144.
50. Sappaparu G., Fernandez E., Kose N., Bin Cao, Fox J.M., Bombardi R.G., Zhao H., Nelson C.A., Bryan A.L., Barnes T., Davidson E., Mysorekar I.U., Fremont D.H., Doranz B.J., Diamond M.S., Crowe J.E. Neutralizing human antibodies prevent Zika virus replication and fetal disease in mice. *Nature*. 2016; 540(7633):443–7. DOI: 10.1038/nature20564.
- DOI: 10.1371/journal.pone.0194860.
3. Dick G.W., Kitchen S.F., Haddock A.J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1952; 46(5):509–20. DOI: 10.1016/0035-9203(52)90042-4.
4. 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.
5. 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.
6. Kim Y.H., Lee J., Kim Y.E., Chong C.K., Pinchemel Y., Reisdörfer F., Coelho J.B., Dias R.F., Bae P.K., Gusmão Z.P.M., Ahn H.J., Nam H.W. Development of a Rapid Diagnostic Test Kit to Detect IgG/IgM Antibody against Zika Virus Using Monoclonal Antibodies to the Envelope and Non-structural Protein 1 of the Virus. *Korean J. Parasitol.* 2018; 56(1):61–70. DOI: 10.3347/kjp.2018.56.1.61.
7. D'Ortenzio E., Matheron S., Yazdanpanah Y., de Lamballerie X., Hubert B., Piorkowski G., Maquart M., Descamps D., Damond F., Leparc-Goffart I. Evidence of Sexual Transmission of Zika Virus. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374(22):2195–8. DOI: 10.1056/NEJMc1604449.
8. Wahid B., Ali A., Rafique S., Idrees M. Current status of therapeutic and vaccine approaches against Zika virus. *Eur. J. Intern. Med.* 2017; 44:12–8. DOI: 10.1016/j.ejim.2017.08.001.
9. 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.
10. 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.
11. Ventura C.V., Maia M., Travassos S.B., Martins T.T., Patriota F., Nunes M.E., Agra C., Torres V.L., van der Linden V., Ramos R.C., Rocha M.A., Silva P.S., Ventura L.O., Belfort R. Jr. Risk Factors Associated With the Ophthalmoscopic Findings Identified in Infants With Presumed Zika Virus Congenital Infection. *JAMA Ophthalmol.* 2016; 134(8):912–8. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2016.1784.
12. Torales J., Barrios I. The Zika virus beyond microcephaly: will we face an increase in mental disorders? *Medwave*. 2017; 17(1):e6869. DOI: 10.5867/medwave.2017.01.6869.
13. Andrade D.V., Harris E. Recent advances in understanding the adaptive immune response to Zika virus and the effect of previous flavivirus exposure. *Virus Res.* 2018; 254:27–33. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.06.019.
14. 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.
15. Singh R.K., Dhama K., Karthik K., Tiwari R., Khandia R., Munjal A., Iqbal H.M.N., Malik Y.S., Bueno-Mari R. Advances in Diagnosis, Surveillance, and Monitoring of Zika Virus: An Update. *Front Microbiol.* 2018; 8:2677. DOI: 10.3389/fmicb.2017.02677.
16. Saiz J.C., Martin-Acebes M.A. The Race To Find Antivirals for Zika Virus. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017; 61(6). pii: e00411–17. DOI: 10.1128/AAC.00411-17.
17. Vengerov Yu.Ya., Parfenova O.V. Zika fever (Literature Review). *Lechashchii Vrach [Physician]*. 2016; 3:73–6.
18. Koishi A.C., Suzukawa A.A., Zanluca C., Camacho D.E., Comach G., Duarte Dos Santos C.N. Development and evaluation of a novel high-throughput image-based fluorescent neutralization test for detection of Zika virus infection. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(3):e0006342. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006342.
19. 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.
20. Rossini G., Gaibani P., Vocale C., Cagarelli R., Landini M.P. Comparison of Zika virus (ZIKV) RNA detection in plasma, whole blood and urine – Case series of travel-associated ZIKV infection imported to Italy, 2016. *J. Infect.* 2017; 75(3):242–5. DOI: 10.1016/j.jinf.2017.05.021.
21. Paz-Bailey G., Rosenberg E.S., Doyle K., Munoz-Jordan J., Santiago G.A., Klein L., Perez Padilla J., Medina F.A., Waterman S.H., Gubern C.G., Alvarado L.I., Sharp T.M. Persistence of Zika Virus in Body Fluids – Preliminary Report. *N. Engl. J. Med.* 2018; 379(13):1234–43. DOI: 10.1056/NEJMoal1613108.
22. Cordeiro M.T., Brito C.A., Pena L.J., Castanha P.M., Gil L.H., Lopes K.G., Dhalia R., Meneses J.A., Ishigami A.C., Mello L.M., Alencar L.X., Guarines K.M., Rodrigues L.C., Marques E.T. Results

References

1. Yun S.I., Lee Y.M. Zika virus: An emerging flavivirus. *J. Microbiol.* 2017; 55(3):204–19. DOI: 10.1007/s12275-017-7063-6.
2. Liang H., Yang R., Liu Z., Li M., Liu H., Jin X. Recombinant Zika virus envelope protein elicited protective immunity against Zika virus immunocompetent mice. *PLoS One*. 2018; 13(3):e0194860.

of a Zika Virus (ZIKV) Immunoglobulin M-Specific Diagnostic Assay Are Highly Correlated With Detection of Neutralizing Anti-ZIKV Antibodies in Neonates With Congenital Disease. *J. Infect Dis.* 2016; 214(12):1897–904. DOI: 10.1093/infdis/jiw477.

23. Priyamvada L., Quicke K.M., Hudson W.H., Onlamoon N., Sewatanon J., Edupuganti S., Pattanapanyasat K., Choekhaibulkit 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.

24. Duehr J., Lee S., Singh G., Foster G.A., Krystof D., Stramer S.L., Bermúdez González M.C., Menichetti E., Geretschlager R., Gabriel C., Simon V., Lim J.K., Krammer F. Tick-borne encephalitis virus vaccine-induced human antibodies mediate negligible enhancement of Zika virus infection *in vitro* and in a mouse model. *mSphere.* 2018; 3(1):e00011–18. DOI: 10.1128/mSphereDirect.00011-18.

25. Safronetz D., Sloan A., Stein D.R., Mendoza E., Barairo N., Ranadheera C., Scharikow L., Holloway K., Robinson A., Traykova-Andonova M., Makowski K., Dimitrova K., Giles E., Hiebert J., Mogk R., Beddome S., Drebot M. Evaluation of 5 Commercially Available Zika Virus Immunoassays. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(9):1577–80. DOI: 10.3201/eid2309.162043.

26. Wong S.J., Furuya A., Zou J., Xie X., Dupuis A.P. 2nd, Kramer L.D., Shi P.Y. A Multiplex Microsphere Immunoassay for Zika Virus Diagnosis. *EBioMedicine.* 2017; 16:136–40. DOI: 10.1016/j.ebiom.2017.01.008.

27. Lee K.H., Zeng H. Aptamer-Based ELISA Assay for Highly Specific and Sensitive Detection of Zika NS1 Protein. *Anal. Chem.* 2017; 89(23):12743–8. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b02862.

28. Du L., Zhou Y., Jiang S. The latest advancements in Zika virus vaccine development. *Expert. Rev. Vaccines.* 2017; 16(10):951–4. DOI: 10.1080/14760584.2017.1363648.

29. Pardy R.D., Rajah M.M., Condotta S.A., Taylor N.G., Sagan S.M., Richer M.J. Analysis of the T Cell Response to Zika Virus and Identification of a Novel CD8⁺ T Cell Epitope in Immunocompetent Mice. *PLoS Pathog.* 2017; 13(2):e1006184. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006184.

30. Durbin A., Wilder-Smith A. An update on Zika vaccine developments. *Expert. Rev. Vaccines.* 2017; 16(8):781–7. DOI: 10.1080/14760584.2017.1345309.

31. Larocca R.A., Abbink P., Peron J.P., Zannotto P.M., Iampietro M.J., Badamchi-Zadeh A., Boyd M., Ng'ang'a D., Kirilova M., Nityanandam R., Mercado N.B., Li Z., Moseley E.T., Bricault C.A., Borducchi E.N., Giglio P.B., Jetton D., Neubauer G., Nkolola J.P., Maxfield L.F., De La Barrera R.A., Jarman R.G., Eckels K.H., Michael N.L., Thomas S.J., Barouch D.H. Vaccine protection against Zika virus from Brazil. *Nature.* 2016; 536(7617):474–8. DOI: 10.1038/nature18952.

32. Shan C., Muruato A.E., Nunes B.T.D., Luo H., Xie X., Medeiros D.B.A., Wakamiya M., Tesh R.B., Barrett A.D., Wang T., Weaver S.C., Vasconcelos P.F.C., Rossi S.L., Shi P.Y. A live-attenuated Zika virus vaccine candidate induces sterilizing immunity in mouse models. *Nat. Med.* 2017; 23(6):763–7. DOI: 10.1038/nm.4322.

33. Tsatsarkin K.A., Kenney H., Chen R., Liu G., Manukyan H., Whitehead S.S., Laassri M., Chumakov K., Pletnev A.G. A Full-Length Infectious cDNA Clone of Zika Virus from the 2015 Epidemic in Brazil as a Genetic Platform for Studies of Virus-Host Interactions and Vaccine Development. *mBio.* 2016; 7(4):e01114–16. DOI: 10.1128/mBio.01114-16.

34. Abbink P., Larocca R.A., De La Barrera R.A., Bricault C.A., Moseley E.T., Boyd M., Kirilova M., Li Z., Ng'ang'a D., Nanayakkara O., Nityanandam R., Mercado N.B., Borducchi E.N., Agarwal A., Brinkman A.L., Cabral C., Chandrashekar A., Giglio P.B., Jetton D., Jimenez J., Lee B.C., Mojta S., Molloy K., Shetty M., Neubauer G.H., Stephenson K.E., Peron J.P., Zannotto P.M., Misamore J., Finneyfrock B., Lewis M.G., Alter G., Modjarrad K., Jarman R.G., Eckels K.H., Michael N.L., Thomas S.J., Barouch D.H. Protective efficacy of multiple vaccine platform forms against Zika virus challenge in rhesus monkeys. *Science.* 2016; 353(6304):1129–32. DOI: 10.1126/science.aah6157.

35. Garg H., Sedano M., Plata G., Punke E.B., Joshi A. Development of Virus-Like-Particle Vaccine and Reporter Assay for Zika Virus. *J. Virol.* 2017; 91(20):e00834–17. DOI: 10.1128/JVI.00834-17.

36. Basu R., Zhai L., Contreras A., Tumban E. Immunization with phage virus-like particles displaying Zika virus potential B-cell epitopes neutralizes Zika virus infection of monkey kidney cells. *Vaccine.* 2018; 36(10):1256–64. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.01.056.

37. Muthumani K., Griffin B.D., Agarwal S., Kudchodkar S.B., Reuschel E.L., Choi H., Kravnyak K.A., Duperret E.K., Keaton A.A., Chung C., Kim Y.K., Booth S.A., Racine T., Yan J., Morrow M.P., Jiang J., Lee B., Ramos S., Broderick K.E., Reed C.C., Khan A.S., Humeau L., Ugen K.E., Park Y.K., Maslow J.N., Sardesai N.Y., Joseph Kim J., Kobinger G.P., Weiner D.B. *In vivo* protection against

ZIKV infection and pathogenesis through passive antibody transfer and active immunisation with a prMEnv DNA vaccine. *NPJ Vaccines.* 2016; 1:16021. DOI: 10.1038/npjvaccines.2016.21.

38. Li X.F., Dong H.L., Wang H.J., Huang X.Y., Qiu Y.F., Ji X., Ye Q., Li C., Liu Y., Deng Y.Q., Jiang T., Cheng G., Zhang F.C., Davidson A.D., Song Y.J., Shi P.Y., Qin C.F. Development of a chimeric Zika vaccine using a licensed live-attenuated flavivirus vaccine as backbone. *Nat. Commun.* 2018; 9(1): 673. DOI: 10.1038/s41467-018-02975-w.

39. Richner J.M., Himansu S., Dowd K.A., Butler S.L., Salazar V., Fox J.M., Julander J.G., Tang W.W., Shresta S., Pierson T.C., Ciaramella G., Diamond M.S. Modified mRNA Vaccines Protect against Zika Virus Infection. *Cell.* 2017; 169(1):176. DOI: 10.1016/j.cell.2017.03.016.

40. Ramharack P., Soliman M.E.S. Zika virus NS5 protein potential inhibitors: an enhanced *in silico* approach in drug discovery. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2018; 36(5):1118–33. DOI: 10.1080/07391102.2017.1313175.

41. Mottin M., Braga R.C., da Silva R.A., Silva J.H.M.D., Perryman A.L., Ekins S., Andrade C.H. Molecular dynamics simulations of Zika virus NS3 helicase: Insights into RNA binding site activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017; 492(4):643–51. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.03.070.

42. Kang C., Keller T.H., Luo D. Zika Virus Protease: An Antiviral Drug Target. *Trends Microbiol.* 2017; 25(10):797–808. DOI: 10.1016/j.tim.2017.07.001.

43. Zmurok J., Marques R.E., Schols D., Verbeken E., Kaptein S.J., Neyts J. The Viral Polymerase Inhibitor 7-Deaza-2'-C-Methyladenosine Is a Potent Inhibitor of *In Vitro* Zika Virus Replication and Delays Disease Progression in a Robust Mouse Infection Model. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(5):e0004695. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004695.

44. Bullard-Feibelman K.M., Govero J., Zhu Z., Salazar V., Veselinovic M., Diamond M.S., Geiss B.J. The FDA-approved drug sofosbuvir inhibits Zika virus infection. *Antiviral. Res.* 2017; 137: 134–40. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.11.023.

45. Li Z., Brecher M., Deng Y.Q., Zhang J., Sakamuru S., Liu B., Huang R., Koetzner C.A., Allen C.A., Jones S.A., Chen H., Zhang N.N., Tian M., Gao F., Lin Q., Banavali N., Zhou J., Boles N., Xia M., Kramer L.D., Qin C.F., Li H. Existing drugs as broad-spectrum and potent inhibitors for Zika virus by targeting NS2B-NS3 interaction. *Cell Res.* 2017; 27(8):1046–64. DOI: 10.1038/cr.2017.88.

46. Delvecchio R., Higa L.M., Pezzuto P., Valadão A.L., Garcez P.P., Monteiro F.L., Loiola E.C., Dias A.A., Silva F.J., Aliota M.T., Caine E.A., Osorio J.E., Bellio M., O'Connor D.H., Rehen S., de Aguiar R.S., Savarino A., Campanati L., Tanuri A. Chloroquine, an Endocytosis Blocking Agent, Inhibits Zika Virus Infection in Different Cell Models. *Viruses.* 2016; 8(12): pii: E322. DOI: 10.3390/v8120322.

47. Kuivanen S., Beshpalov M.M., Nandania J., Ianevski A., Velagapudi V., De Brabander J.K., Kainov D.E., Vapalahti O. Obatoclox, salphenylthalamide and gemcitabine inhibit Zika virus infection *in vitro* and differentially affect cellular signaling, transcription and metabolism. *Antiviral. Res.* 2017; 139:117–28. DOI: 10.1016/j.antiviral.2016.12.022.

48. Carneiro B.M., Batista M.N., Braga A.C.S., Nogueira M.L., Rahal P. The green tea molecule EGCG inhibits Zika virus entry. *Virology.* 2016; 496:215–18. DOI: 10.1016/j.virol.2016.06.012.

49. Wang S., Hong S., Deng Y.Q., Ye Q., Zhao L.Z., Zhang F.C., Qin C.F., Xu Z. Transfer of convalescent serum to pregnant mice prevents Zika virus infection and microcephaly in offspring. *Cell Res.* 2017; 27(1):158–60. DOI: 10.1038/cr.2016.144.

50. Sappapapu G., Fernandez E., Kose N., Bin Cao, Fox J.M., Bombardi R.G., Zhao H., Nelson C.A., Bryan A.L., Barnes T., Davidson E., Mysorekar I.U., Fremont D.H., Doranz B.J., Diamond M.S., Crowe J.E. Neutralizing human antibodies prevent Zika virus replication and fetal disease in mice. *Nature.* 2016; 540(7633):443–7. DOI: 10.1038/nature20564.

Authors:

Kazachinskaya E.I., Shan'shin D.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., Шанышин Д.В., Иванова А.В. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Колыцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Поступила 05.09.18.

Отправлена на доработку 03.10.18.

Принята к публ. 05.12.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-14-21

УДК 616.98:579.841.93(470)

Д.Г. Пономаренко¹, Е.Б. Ежлова², Д.В. Русанова¹, А.А. Хачатурова¹, Н.Д. Пакскина², Т.В. Бердникова¹,
Е.А. Манин¹, О.В. Семенко¹, О.В. Логвиненко¹, Е.Л. Ракитина¹, М.В. Костюченко¹, О.В. Малецкая¹,
А.Н. Куличенко¹

АНАЛИЗ ЭПИЗООТОЛОГО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2018 г. И ПРОГНОЗ НА 2019 г.

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

²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Представлен анализ заболеваемости людей и животных бруцеллезом в Российской Федерации в 2018 г. Эпизоотологическая обстановка в регионах развитого животноводства остается достаточно напряженной. В 2018 г., как и в прошлые годы, регистрировались очаги бруцеллеза крупного и мелкого рогатого скота в Северо-Кавказском, Южном, Приволжском и Сибирском федеральных округах, их доля составляет более 90 % от всех регистрируемых в России неблагополучных пунктов и случаев заболевания животных. На фоне длительного эпизоотического неблагополучия уровень заболеваемости людей бруцеллезом в последние три года ниже средних многолетних показателей в среднем на 14 %. Наибольшее количество заболеваний (94,1 % от общероссийской заболеваемости) регистрируется в Северо-Кавказском, Южном и Сибирском федеральных округах, которые имеют максимальный уровень заболеваемости крупного (88,9 %) и мелкого (95 %) рогатого скота. В 2019 г. прогнозируется сохранение эпизоотологического неблагополучия по бруцеллезу в субъектах Северо-Кавказского федерального округа (прежде всего, Республика Дагестан, Ставропольский край), Южного федерального округа (Республика Калмыкия, Волгоградская и Астраханская области), Сибирского федерального округа (Республика Тыва, Омская и Тюменская области). Количество заболеваний людей бруцеллезом может находиться в диапазоне 290–310 случаев (интенсивный показатель – 0,21).

Ключевые слова: бруцеллез, заболеваемость, эпизоотический процесс, эпидемические проявления.

Корреспондирующий автор: Пономаренко Дмитрий Григорьевич, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Для цитирования: Пономаренко Д.Г., Ежлова Е.Б., Русанова Д.В., Хачатурова А.А., Пакскина Н.Д., Бердникова Т.В., Манин Е.А., Семенко О.В., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Анализ эпизоотолого-эпидемиологической обстановки по бруцеллезу в Российской Федерации в 2018 г. и прогноз на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:14–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-14-21

D.G. Ponomarenko¹, E.B. Ezhlova², D.V. Rusanova¹, A.A. Khachaturova¹, N.D. Pakskina²,
T.V. Berdnikova¹, E.A. Manin¹, O.V. Semenko¹, O.V. Logvinenko¹, E.L. Rakitina¹,
M.V. Kostyuchenko¹, O.V. Maletskaya¹, A.N. Kulichenko¹

Analysis of Epizootiological-Epidemiological Situation on Brucellosis in the Russian Federation in 2018 and Forecast for 2019

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

Abstract. Presented is the analysis of brucellosis incidence among humans and animals in the Russian Federation in 2018. Epizootiological situation in the regions of developed animal husbandry remains reasonably tense. In 2018, as in previous years, the foci of bovine cattle and small ruminant brucellosis were registered in the North Caucasian, Southern Federal Districts, Volga and Siberian Federal Districts, the share of which made up to more than 90% of all registered in Russia potentially hazardous as regards brucellosis areas and cases of the disease in animals. Against the background of long-term unfavorable epizootic condition, the incidence of brucellosis over the past three years was, on average, 14 % lower than the average long-term indicators. The greatest number of cases (94.1 % of the overall Russian incidence) is registered in the administrative subjects of the North Caucasus Federal District, Southern Federal District and Siberian Federal District, which have the maximum levels of brucellosis incidence in cattle (88.9 %) and small ruminants (95 %). In 2019, persistence of epidemiological problems in regard to brucellosis in the subjects of the North Caucasus Federal District (primarily the Republic of Dagestan, Stavropol Territory), the Southern Federal District (the Republic of Kalmykia, Volgograd and Astrakhan Regions), and the Siberian Federal District (the Tuva Republic, the Omsk and Tyumen Regions) is predicted. The number of human cases of brucellosis may be within the range of 290–310 cases (intensive incidence rate per 100 thousand population – 0.21).

Key words: brucellosis, incidence, epizootic process, epidemic manifestations.

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

Corresponding author: Dmitry G. Ponomarenko, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Citation: Ponomarenko D.G., Ezhlova E.B., Rusanova D.V., Khachaturova A.A., Pakskina N.D., Berdnikova T.V., Manin E.A., Semenko O.V., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Analysis of Epizootiological-Epidemiological Situation on Brucellosis in the Russian Federation in 2018 and Forecast for 2019. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:14–21. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-14-21

Received 27.03.19. Revised 23.04.19. Accepted 20.05.19.

Бруцеллез распространен на всех континентах, особенно в странах Средиземноморья, Восточной Европы, Южной и Центральной Америки, Африки, Центральной и Южной Азии, Южного Кавказа, Аравийского полуострова и Ближнего Востока. В этих регионах инфекция встречается в основном у крупного рогатого скота (КРС), овец и коз, а также у диких свиней, бизонов, лосей, зайцев. Активная международная реализация животных, продуктов и сырья животного происхождения из стран, эндемичных по бруцеллезу, может являться причиной существенных экономических потерь, обусловленных распространением бруцеллезной инфекции среди восприимчивого поголовья, возникновения групповых вспышек бруцеллеза среди населения. Хронические формы бруцеллеза у людей нередко приводят к длительной утрате трудоспособности и инвалидности [1, 2, 3].

Наиболее высокие значения показателей неблагополучия регистрируются в странах Ближнего Востока. Строгий контроль над производством молока и запрет на продажу местных молочных продуктов, особенно традиционных сыров, привели к снижению заболеваемости по сравнению с тем же периодом 2017 г. Тем не менее, несмотря на усиленные профилактические меры, в 2018 г. сохраняются многолетние высокие показатели заболеваемости бруцеллезом на 100 тыс. населения в арабских странах: Сирии – 158,7, Ираке – 26,6, Турции – 23,2, Иране – 21,7, Саудовской Аравии – 20,3, в Иордании, в зависимости от региона, заболеваемость находилась в диапазоне 25,7–130, в Египте – 0,26–70,0. В Израиле зарегистрировано 312 случаев, в 2017 г. – 348, в 2016 г. – 1547 [4, 5, 6, 7].

Показатели заболеваемости на 100 тыс. населения в Китае в среднем составляют 4,3, в отдельных регионах – до 10, в США – 0,02–0,09, в Германии – 0,03.

В государствах-участниках Содружества Независимых Государств в последние годы достигнуты существенные успехи в борьбе с бруцеллезом животных, однако заболеваемость людей остается еще на достаточно высоком уровне. Напряженная ситуация складывается в Республике Казахстан, средний многолетний уровень заболеваемости людей составляет 17,0 на 100 тыс. населения. В 2018 г. достигнуто снижение заболеваемости на 10,8 %. В Кыргызстане эпидемиологическая ситуация стабильно неблагоприятная, показатели заболеваемости – 20,5–25,0 на 100 тыс. населения. За последние 5 лет выявлен 6631 случай, наблюдается тенденция к увеличению числа групповых «семейных» вспышек и уровня заболеваемости среди детей до 14 лет. В Республике Узбекистан заболеваемость за последние 10 лет варьировала от 1,8 до 2,8 на 100 тыс. населения. Высокий уровень заболеваемости сохраняется в Таджикистане – 11, Азербайджане – 4,9 [8, 9, 10].

В эпизоотологически неблагоприятных по бруцеллезу странах Южной и Центральной Америки, а также Африки практически ежегодно регистри-

руются случаи групповых заболеваний. В 2018 г. в Республике Парагвай (г. Асунсьон) среди студентов и преподавателей ветеринарного факультета Национального университета выявлено 76 лиц с положительной реакцией на бруцеллез. Серопозитивных выявили при обследовании контактных лиц в рамках эпидемиологического расследования групповой вспышки бруцеллеза в октябре 2017 г. среди студентов (15 чел.), которые находились на практике в учебном центре университета (г. Сан-Лоренцо). Источником инфекции стали больные козы.

На Африканском континенте отмечена тенденция к миграции возбудителя болезни с севера от Средиземного моря на юг вглубь континента. Это особенно заметно по территории Алжира, где за 2018 г. зарегистрировано две крупных вспышки бруцеллеза среди людей: в регионе Гелла – 53 случая и долине Мзаб (северная часть Сахары) – 76 случаев. На северо-востоке Алжира отмечены несколько групповых вспышек в местности Батна (11 чел.), провинции Тизи Узу (36 чел.). Заболевания людей регистрировались в провинциях Айт-Бумеди, Драа-эль-Мизан, Тизи-Рахед, Иллитен и Айт-Умалу. Причина заболевания – употребление сырого молока или молочных продуктов, изготовленных из сырого молока, в частности, традиционного для региона сыра «Камария». В Нигерии в штате Баучи при проведении (весна–лето) серомониторинга работников мясоперерабатывающих предприятий выявлено 95 заболевших [11, 12, 13, 14].

В США в штате Пенсильвания выявлены случаи заболевания людей, которые напрямую связаны с употреблением непастеризованного молока от коров, иммунизированных живой вакциной на основе штамма *Brucella abortus* RB51. Молоко реализовано в 18 штатах. Реальное количество заболевших трудно установить, так как, в отличие от диких штаммов бруцелл, *B. abortus* RB51 находится в диссоциированной R-форме, что затрудняет проведение рутинной серологической диагностики. Кроме того, RB51 устойчив к рифампину. Подобные случаи также регистрировались в 2017 г. в штатах Техас и Нью-Джерси [15, 16].

Экспертная оценка эпизоотологической и эпидемиологической обстановки в Российской Федерации проведена на основе анализа официальных статистических данных Россельхознадзора и Роспотребнадзора о заболеваемости людей и сельскохозяйственных животных, анализа материалов и сообщений, представленных в специальной научной и периодической печати по вопросам бруцеллеза сельскохозяйственных животных и людей в Российской Федерации, данных эпидемиологического расследования случаев заболевания, предоставленных Референс-центру по мониторингу за возбудителем бруцеллеза Управлениями Роспотребнадзора по субъектам РФ, а также сведений, обобщенных Федеральным центром гигиены и эпидемиологии по заболеваемости, объемам вакцинации и ревакцинации подлежащих контингентов в разрезе субъектов РФ, номенклатуре

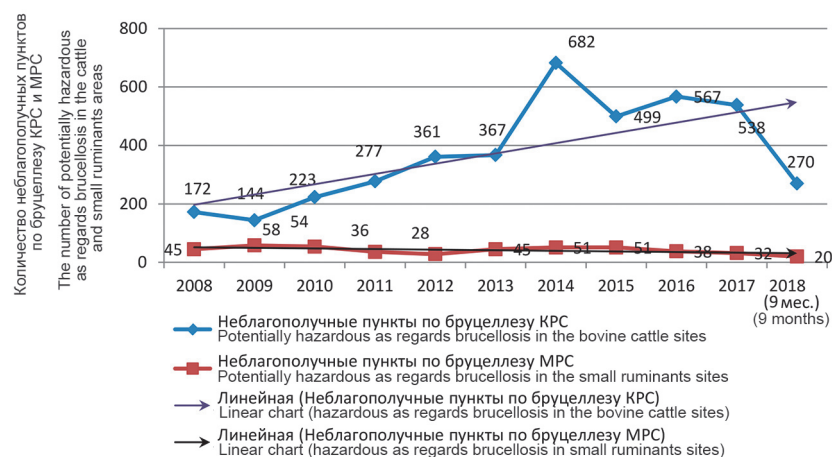


Рис. 1. Динамика регистрации первичных неблагополучных пунктов по бруцеллезу КРС и МРС

Fig. 1. Dynamics of registration of primary potentially hazardous as regards brucellosis in the bovine cattle and small ruminants sites

и количестве проведенных диагностических исследований [17, 18, 19].

Цель настоящего исследования – комплексный анализ эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации за 2018 г. и прогноз на 2019 г.

Эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в России на протяжении последних лет имеет тенденцию к стабилизации. При этом, по данным информационно-аналитического центра Россельхознадзора, риск распространения инфекции среди животных в РФ остается высоким. Многолетний тренд неблагополучия по бруцеллезу крупного рогатого скота имеет возрастающий характер. В период с 2008 по 2017 год в России зарегистрировано 3830 неблагополучных пунктов с заболеванием КРС, в которых выявлено 97257 голов больных животных, и 438 неблагополучных пунктов по бруцеллезу мелкого рогатого скота (МРС), в которых зарегистрировано 17512 больных овец и коз (рис. 1).

Показатель средней многолетней очаговой инцидентности (среднее количество заболевших животных в одном неблагополучном пункте) по бруцеллезу КРС составил 47,8, МРС – 47,7. Динамика показателя очаговой инцидентности указывает на наличие выраженной положительной тенденции к ежегодному снижению заболеваемости животных в эпизоотических очагах (рис. 2).

За 9 месяцев 2018 г. выявлено 270 новых неблагополучных пунктов и 4513 голов (гол.) заболевшего

КРС (за аналогичный период 2017 г. зарегистрировано 458 пунктов и 6300 больных животных), установлено 20 неблагополучных пунктов МРС и 868 гол. МРС, инфицированных возбудителем (за 9 мес. 2016 г. – 28 первичных неблагополучных пунктов МРС и 838 больных животных). Показатель очаговой инцидентности по бруцеллезу КРС составил 29, МРС – 41.

Случаи заболевания КРС преимущественно регистрировались на территориях Северо-Кавказского (СКФО) (193 пункта, 2273 гол.), Южного (ЮФО) (38 пунктов, 950 гол.) и Приволжского (ПФО) (24 пункта, 1210 гол.) федеральных округов. Основное количество неблагополучных по бруцеллезу МРС хозяйств и больного поголовья выявлено в двух федеральных округах – СКФО (9 пунктов, 543 гол.), ЮФО (9 пунктов, 297 гол.).

По данным Управления Роспотребнадзора по Республике Башкортостан, на территории Учалинского района зарегистрировано 12 эпизоотических очагов бруцеллеза, из которых один пункт, неблагополучный по бруцеллезу МРС (овцы – 15 гол.), 11 – лошадей (122 гол.). Из биоматериала от больных лошадей выделена ДНК *Brucella abortus*.

К территории, неблагополучной по бруцеллезу северных оленей, относится субрегион России Северная Азия. Болезнь этих животных в 2018 г. регистрировалась в Республике Саха (Якутия) (35 пунктов, 164 гол.), Ямало-Ненецком (9 пунктов, 322 гол.) и Чукотском (1 пункт, 3 гол.) автономных округах,

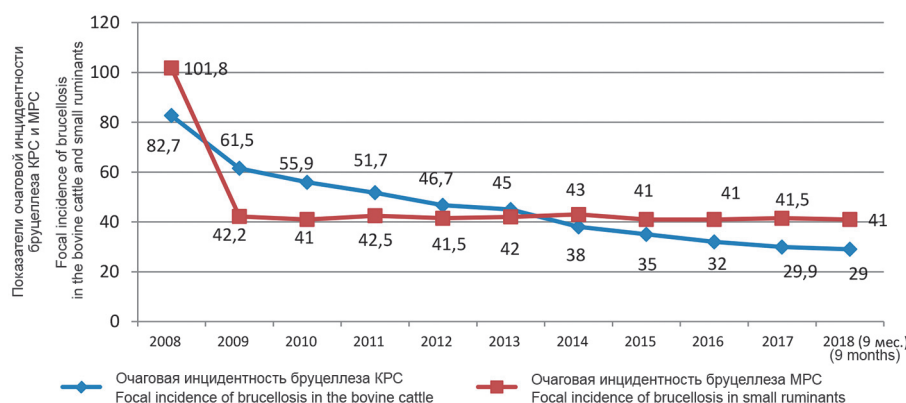


Рис. 2. Динамика уровня инцидентности (заболеваемости) в эпизоотических очагах бруцеллеза КРС и МРС

Fig. 2. Dynamics of brucellosis incidence in the cattle and small ruminants in эпизоотических очагах

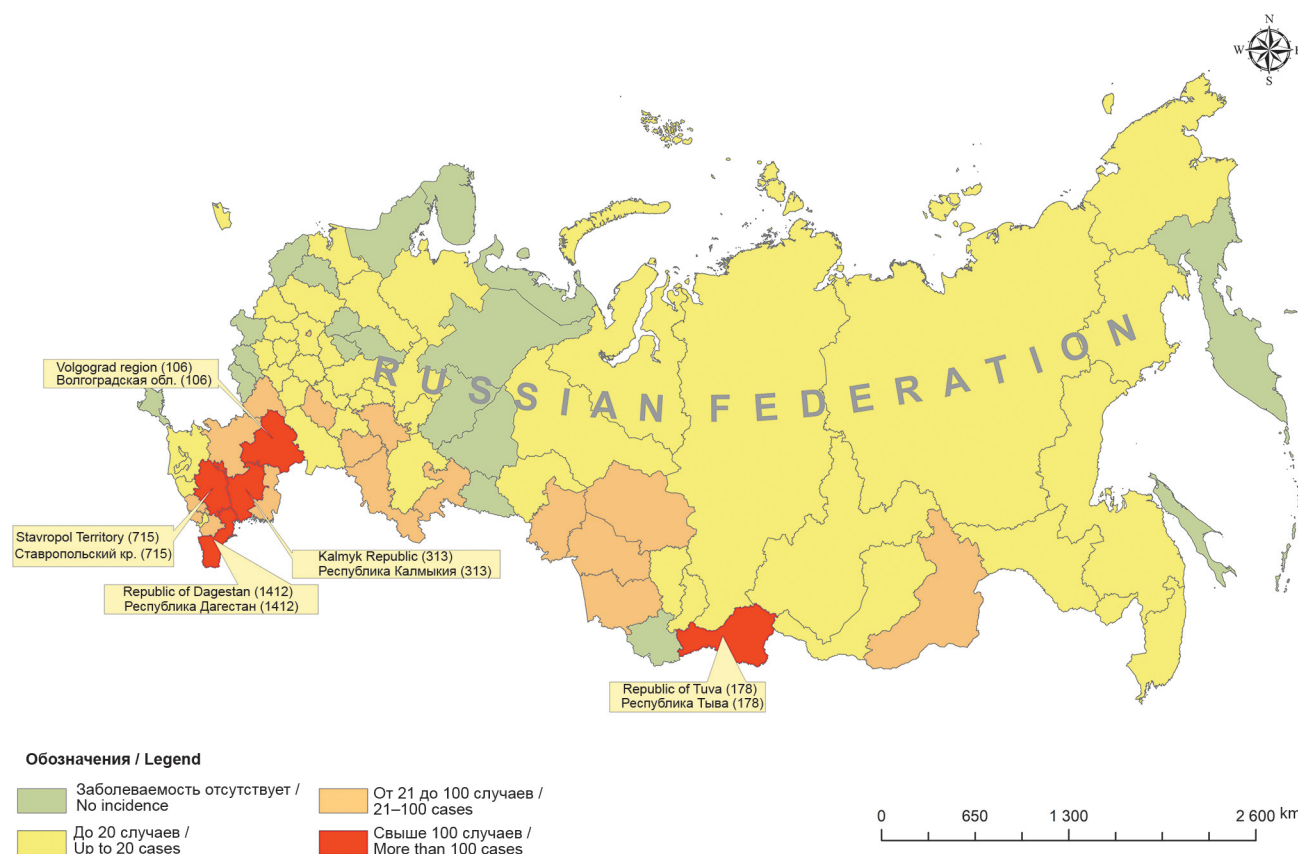


Рис. 3. Регистрация случаев бруцеллеза среди людей на территории Российской Федерации в период 2009–2018 гг.

Fig. 3. Registration of brucellosis cases among the population in the territory of the Russian Federation in the 2009–2018

Красноярском крае (1 пункт, 1 гол.). Инфицирование северных оленей чаще всего происходит при абортках, в период гона и отела, бесконтрольном вводе в стада самцов-производителей, молодых маток (важенок), контактах с дикими животными на путях миграции. В эпизоотическую цепь включаются домашние, дикие северные олени и плотоядные животные (собаки).

Эпидемические проявления бруцеллеза на территории Российской Федерации связаны с активностью эпизоотического процесса среди основных эпидемиологически значимых видов сельскохозяйственных животных – МРС и в большей степени КРС, интенсивность и распространенность которого в Российской Федерации не имеет выраженной тенденции к снижению.

Эпидемиологическая обстановка в Российской Федерации за последние 10 лет характеризовалась как неблагоприятная с тенденцией к снижению и стабилизации уровня заболеваемости. Наибольшее количество случаев заболевания людей регистрировалось в СКФО, ЮФО, ПФО и Сибирском федеральном округе (СФО) (рис. 3).

В период с 2008 по 2018 год в России зарегистрировано 3952 случая впервые выявленного бруцеллеза, в том числе 349 (8,8 %) – среди детей до 17 лет. Средний многолетний интенсивный показатель заболеваемости на 100 тыс. населения (ИП) составил 0,27, ИП среди несовершеннолетних детей – 0,13 (рис. 4).

В 2018 г. в России отмечается снижение заболеваемости людей бруцеллезом. Зарегистрировано 290 случаев в 22 субъектах семи федеральных округов, интенсивный показатель на 100 тыс. населения составил 0,20, что ниже средней многолетней заболеваемости за последние 10 лет (383 случая, ИП – 0,27), на 24 % (92 случая). Среди детей до 17 лет зарегистрировано 22 случая (ИП – 0,08), в сравнении со средней многолетней (2009–2018 гг.) заболеваемостью детей до 17 лет (32 случая ИП – 0,12) отмечается снижение абсолютного количества заболевших детей до 17 лет на 33,9 % (10 случаев).

Как и в предыдущие годы, наибольшее количество заболевших людей регистрировалось в СКФО – 203 случая (ИП – 2,08), что составляет 69,7 % от общероссийской заболеваемости. Напряженность эпидемиологической ситуации обуславливает стойкое эпизоотическое неблагоприятное положение территории округа по бруцеллезу КРС (71,5 % от общего числа неблагоприятных пунктов в России) и МРС (45,0 %).

В сравнении со средней многолетней заболеваемостью людей бруцеллезом в СКФО (248 случаев, ИП – 2,54), в 2018 г., наблюдается снижение количества заболевших на 18,1 % (45 случаев).

Наиболее высокий уровень заболеваемости в округе отмечается Республике Дагестан (РД), где за последние 10 лет ежегодно регистрировалось до 200 случаев впервые выявленного бруцеллеза. В 2018 г.

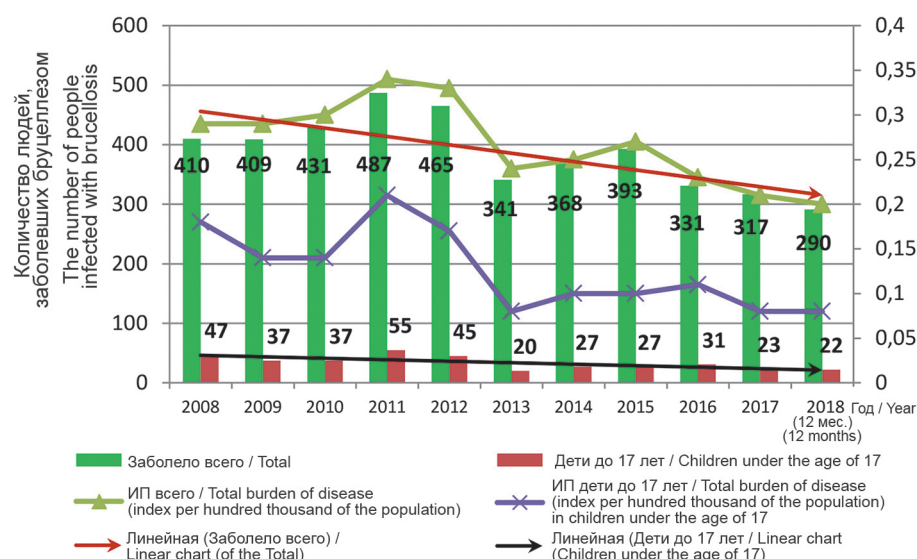


Рис. 4 Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллезом людей в Российской Федерации в 2008–2018 гг.

Fig. 4 Dynamics of incidence registration and the number of people with brucellosis in the Russian Federation in 2008–2018

в республике установлено 134 (46 % от общероссийских показателей) случая бруцеллеза у людей (ИП – 4,42). Средний многолетний уровень заболевания составляет 155 случаев, ИП – 5,38. В республике ежегодно регистрируется один из самых высоких в стране уровней заболеваемости детей, что связано с традиционно активным привлечением несовершеннолетних к уходу за животными. В 2018 г. выявлено 14 случаев (ИП – 1,58, 63,6 % от общероссийских показателей) заболевания лиц до 17 лет, что сопоставимо с показателями средней многолетней заболеваемости несовершеннолетних в республике (16 случаев, ИП – 1,93). Среди заболевших: 56 человек (41,8 %) – индивидуальные владельцы животных. Бруцеллез в республике регистрировался в течение всего календарного года, при этом наибольшее количество больных (109 случаев, 81,3 %) выявлено в период с апреля по ноябрь. Источником возбудителя инфекции в равной степени стал инфицированный КРС и МРС. В 89 случаях заболевания людей бруцеллезом определен контактный механизм передачи инфекции, в 42 – алиментарный. Основные факторы передачи возбудителя инфекции – естественные выделения больных животных (66,4 %) и продукты животноводства (молоко, молочные продукты, мясо, мясные продукты), инфицированные бруцеллами (31,3 %). Наибольшее количество заболевших выявляли на административных территориях Левашинского (15 случаев), Акушинского (13), Кизлярского (10), Тарумовского (9) районов и Махачкалы (8).

Ставропольский край (СК) – один из наиболее неблагополучных по бруцеллезу регионов России (18,5–30,5 % от общего числа заболевших в стране). Средние многолетние показатели заболеваемости в крае за последние 10 лет составляют 78 случаев (ИП – 2,83). В 2015–2017 гг. в СК регистрировались групповые вспышки с реализацией пищевого пути заражения, факторами передачи возбудителя послужили молочные продукты, полученные от инфицированного бруцеллами поголовья сельскохозяйственных животных. Возникновение случаев

группового заболевания можно связать с наличием в крае так называемых «скрытых» (не выявленных) эпизоотических очагов в индивидуальном секторе животноводства.

В 2018 г. в СК зарегистрировано 65 человек с впервые выявленным бруцеллезом – 22,3 % от общероссийской заболеваемости (ИП – 2,32). Согласно данным эпидемиологических исследований, случаи заболевания людей фиксировались в течение всего календарного года, наибольшее количество случаев выявлено в периоды – апрель–июль (34 случая, 52,3 % от общего количества случаев в крае) и сентябрь–ноябрь (21 случай, 32,3 %). Среди заболевших преобладали жители сельской местности (83,1 %), доля профессионально связанных с животноводством (зооветеринарные специалисты, чабаны, работники МТФ) составила 27,7 %, индивидуальных владельцев животных – 13,8 %. Из установленных факторов передачи возбудителя инфекции 46,1 % – продукты животноводства (молоко, кисломолочные продукты, мясо, мясные продукты), 15,4 % – сырье животного происхождения. Преобладал алиментарный механизм передачи возбудителя инфекции. Наибольшее количество заболевших в СК зарегистрировано в районах, граничащих с субъектами России, эпизоотически неблагополучными по бруцеллезу (республики Дагестан и Калмыкия) – Нефтекумском (7 случаев), Левокумском (6) и Ипатовском (6).

Вместе с тем случаи бруцеллеза в СКФО отмечены среди жителей Кабардино-Балкарской Республики (2 случая, ИП – 0,23), Карачаево-Черкесской Республики (1 случай, ИП – 0,21), Республики Северная Осетия-Алания (1 случай, ИП – 0,14).

В ЮФО выявлен 51 случай заражения людей (ИП – 0,31), что сопоставимо с данными средней многолетней заболеваемости людей бруцеллезом в округе (54 случая, ИП – 0,38).

Наиболее напряженная эпидемиологическая ситуация в округе ежегодно отмечается в Республике Калмыкия – субъекте стабильно неблагополучном по бруцеллезу КРС и МРС.

В 2018 г. здесь зарегистрировано 35 случаев заболевания людей (ИП – 12,65), что сопоставимо со средними многолетними значениями заболеваемости за последние 10 лет (35 случаев, ИП – 12,23). Источником инфекции в республике чаще являлся МРС (61,5 % от всех установленных источников инфекции). В 42,8 % случаев установлен контактный механизм передачи патогена. Основное количество заболевших отмечено в Черноземельском (16 случаев), Лаганском (4) и Кетченеровском (4) районах.

Кроме того, случаи заболевания людей зафиксированы в Волгоградской (11 случаев, ИП – 0,44), Ростовской (4 случая, ИП – 0,09) и Астраханской (1 случай, ИП – 0,10) областях.

В СФО зарегистрировано 19 случаев впервые выявленного бруцеллеза (ИП – 0,10), что существенно ниже средних показателей заболеваемости в округе за последние 10 лет (47 случаев, ИП – 0,24). Бруцеллез у людей регистрировался в Республике Тыва (10, ИП – 3,12), Омской (10, ИП – 0,36), Томской (1, ИП – 0,09) областях и в Алтайском крае (1, ИП – 0,04).

В ПФО в 2018 г. выявлено восемь случаев бруцеллеза (ИП – 0,03), что в два раза ниже показателей средней многолетней заболеваемости в округе (15 случаев, ИП – 0,06). Заболевания регистрировались в Пензенской (5 случаев, ИП – 0,37), Саратовской (2, ИП – 0,08) и Самарской (1, ИП – 0,03) областях.

В Пензенской области продолжает оставаться достаточно напряженной эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация, вероятно связанная с завозом в область (2017 г.) больного скота и дальнейшим распространением инфекции. В 2018 г. выявлено два новых неблагополучных пункта по бруцеллезу КРС (126 больных животных), установлено пять случаев заболевания людей, в том числе один в Сосновоборском районе, где ранее регистрировалась групповая вспышка.

В Центральном федеральном округе (ЦФО) средняя многолетняя заболеваемость людей составляет 0,04 на 100 тыс. населения (в среднем 14 случаев в год). В 2018 г. выявлено четыре случая (ИП – 0,01), по два случая в Тамбовской области (ИП – 0,19) и Москве (ИП – 0,02).

В Уральском федеральном округе (УФО) зарегистрировано три случая (ИП – 0,02) бруцеллеза у людей: в Ханты-Мансийском (2 случая, ИП – 0,12) и Ямало-Ненецком (1, ИП – 0,19) автономных округах.

На территории Северо-Западного федерального округа (СЗФО) выявлено два случая бруцеллеза (ИП – 0,01) в Ленинградской области (1 случай, ИП – 0,06) и Санкт-Петербурге (1, ИП – 0,02).

Специфическая иммунопрофилактика заболевания у людей применяется к контингентам повышенного риска заражения возбудителем бруцеллеза козье-овечьего вида. Профилактические прививки входят в Национальный календарь прививок по эпидемическим показаниям и проводятся в соответствии с действующими нормативными актами в области иммунопрофилактики. За период с 2009 по

2018 год в РФ против бруцеллеза привито 40208 человек. В 2018 г. иммунизация населения проведена в 28 субъектах Российской Федерации, всего привито 4581 человек, из которых 2451 ревакцинирован. План вакцинации в 2018 г. выполнен на 113,6 % и ревакцинации на 91,9 %.

При наличии запланированных объемов не приступали к иммунизации в Чеченской Республике, Забайкальском и Приморском краях, Ханты-Мансийском АО, также не выполнены планы по вакцинации в республиках Хакасия (70 %) и Дагестан (94), Краснодарском (97,4) и Алтайском (90) краях и ревакцинации в Волгоградской (47,6), Оренбургской (90,8), Самарской (74,7), Свердловской (96,7) областях, Ставропольском (36,36) и Алтайском (85,7) краях, Удмуртской Республике (63,7), республиках Ингушетия (97,7) и Хакасия (93,3).

На динамику регистрации заболеваемости бруцеллезом во всем мире влияет уровень и качество диагностики, поэтому низкие показатели на неблагополучной по бруцеллезу территории, могут быть связаны с недостаточной выявляемостью заболевших. По данным ВОЗ, в развитых странах диагностируется лишь 10 % случаев бруцеллеза, тогда как в развивающихся, вероятно, не более 1 % [20].

Согласно данным Федерального центра гигиены и эпидемиологии, в 2018 г. проведено 40414 лабораторных исследований на бруцеллез. Основной вид анализов (40104, 99,2 %) – серологические исследования материала от людей, из которых 525 – с парными сыворотками (187, 35,6 % – с сероконверсией), 27708 – с одиночными сыворотками (1701, 6,1 %) с наличием специфических антител). В лабораториях особо опасных инфекций учреждений Роспотребнадзора также проведено 95 исследований материала от людей бактериологическим методом, 190 – молекулярно-биологическим методом.

На базе Референс-центра по мониторингу за возбудителем бруцеллеза в 2018 г. выполнено 364 бактериологических, 515 иммуносерологических, 205 молекулярно-генетических исследований, проведен 91 аллелотест *in vitro* в формате проточного цитометрического анализа. Идентифицировано 17 штаммов бруцелл, выделенных от больных людей в республиках Калмыкия (12 штаммов) и Дагестан (1), Самарской (1) и Свердловской (1) областях, Ставропольском крае (1).

Таким образом, анализ ситуации по заболеваемости бруцеллезом в Российской Федерации дает основания полагать, что эпизоотологическая обстановка в регионах развитого животноводства остается достаточно напряженной. В 2018 г., как и в прошлые годы, регистрировались очаги бруцеллеза КРС и МРС в субъектах СКФО, ЮФО, ПФО и СФО, доля которых – более 90 % от всех регистрируемых в России неблагополучных пунктов и случаев заболевания бруцеллезом. В данных регионах сосредоточено более 70 % общероссийского поголовья скота, при этом большая часть (более 65 %) в индивидуальном секторе.

По данным Россельхознадзора, уровень риска распространения инфекции среди сельскохозяйственных животных остается значительным; среднесрочный прогноз развития ситуации – негативный. Несмотря на наличие в последние годы положительной динамики по снижению заболеваемости животных в эпизоотических очагах, тренды по неблагополучию имеют нарастающий характер.

К основным причинам стойкого эпизоотического неблагополучия по бруцеллезу в Российской Федерации можно отнести: несоблюдение ветеринарных требований при приобретении, реализации и содержании животных, несанкционированное перемещение больного скота по административной территории страны, отсутствие должного контроля со стороны муниципальных органов за регистрацией поголовья (особенно в частном секторе), несвоевременная сдача больных животных на убой, присутствие не выявленных эпизоотических очагов и бруцеллоносителей. Наличие индивидуальных хозяйств (КФХ, ЛПХ), в которых содержится неучтенный скот, существенно усложняет проведение плановых профилактических и противоэпизоотических мероприятий.

На фоне длительного эпизоотического неблагополучия уровень заболеваемости людей в последние три года стабилизировался на уровне 290–310 случаев (ИП – 0,20–0,23), что ниже средней многолетней заболеваемости в среднем на 14 %. Наибольшее количество заболеваний (94,1 % от общероссийской заболеваемости) регистрируется в административных субъектах СКФО, ЮФО и СФО, которые имеют максимальный уровень заболеваемости КРС (88,9 %) и МРС (95). В зоне повышенного риска по заболеваемости бруцеллезом остаются индивидуальные владельцы животных (28,2 % – от заболевших), лица, профессионально связанные с животноводством, переработкой продукции и сырья от животных (17,5 %). Основным источником возбудителя инфекции является КРС, ведущими путями передачи – контактный и алиментарный. Заражение людей происходит в результате тесных контактов с больными животными – при уходе за скотом, оказании ветеринарной помощи, а также употреблении в пищу контаминированной бруцеллами мясомолочной продукции.

Эпидемиологический прогноз на 2019 г. в большей степени будет определяться сохраняющимся неблагополучием по бруцеллезу среди КРС и МРС в эндемичных административных территориях Северо-Кавказского, Южного, Сибирского и Приволжского федеральных округов. Наличие не выявленных («скрытых») очагов, особенно в мелкотоварных индивидуальных хозяйствах, где часто умышленно изменяют технологии ведения животноводства (совместное содержание животных, в т. ч. КРС и МРС) может формировать благоприятные условия для миграции *Brucella melitensis* на крупный рогатый скот с последующей реализацией алиментарного пути передачи возбудителя инфекции через молоко коров и возникновением эпидемических очагов острого

бруцеллеза, в том числе далеко за пределами очага.

В 2019 г., как и в предыдущие годы, прогнозируется сохранение эпидемиологического неблагополучия по бруцеллезу в субъектах СКФО (прежде всего, Республика Дагестан, Ставропольский край), Южном Федеральном округе (Республика Калмыкия, Волгоградская и Астраханская области), Сибирском федеральном округе (Республика Тыва, Омская и Тюменская области). Возможно ухудшение эпидемиологической ситуации в регионах России, сопредельных с эндемичными по бруцеллезу государствами – Азербайджан, Казахстан, Китай, Монголия. Требуется внимания ситуация в странах Евразийского экономического сотрудничества (таможенный союз), Средиземноморья, Ближнего Востока, Южной Америки, являющихся эндемичными по бруцеллезу.

С учетом вышеизложенных факторов, в 2019 г. можно прогнозировать стабилизацию заболеваемости на уровне 2016–2018 гг., что на 10–15 % ниже средних многолетних величин. Количество заболеваний людей бруцеллезом может находиться в диапазоне 290–310 случаев (ИП – 0,21).

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

Список литературы

1. Closer intersectoral collaboration using existing tools can defeat zoonoses affecting humans. Geneva: WHO, 16 July, 2015. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/neglected_diseases/intersectoral_collaboration_to_defeat_zoonoses/en/ (дата обращения 23.11.2017).
2. Shi Y., Gao H., Pappas G., Chen Q., Li M., Xu J., Lai S., Liao Q., Yang W., Yi Z., Rouzi Z., Yu H. Clinical features of 2041 human brucellosis cases in China. *PLoS ONE*. 2018; 13(11):e0205500. DOI: 10.1371/journal.pone.0205500.
3. Olsen, S.C., Palmer, M.V. Advancement of knowledge of *Brucella* over the past 50 years. *Vet. Pathol.* 2014; 51(6):1076–89. DOI: 10.1177/0300985814540545.
4. Periodic reports of the Department of Epidemiology. Ministry of Health of the State of Israel (official website). [Электронный ресурс]. URL: https://www.health.gov.il/UnitsOffice/HD/PH/epidemiology/Pages/epidemiology_report.aspx (дата обращения 31.01.2019).
5. Periodic reports of the Ministry of Health of the Turkey (official website). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.saglik.gov.tr/TR,11584/istatistikler-ve-yayinlar.html> (дата обращения 31.01.2019 г.).
6. Periodic reports of the Ministry of Health of the Egypt. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.mohp.gov.eg/PublicationsCategories.aspx> (дата обращения 31.01.2019).
7. Almasri M., Ahmed Q.A., Turkestani A., Memish Z.A. Hajj abattoirs in Makkah: risk of zoonotic infections among occupational workers. *Vet. Med. Sci.* 2019. [Электронный ресурс]. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/vms3.169> (дата обращения 26.04.2019). DOI: 10.1002/vms3.169.
8. Charypkhan D., Sultanov A.A., Ivanov N.P., Baramova S.A., Taitubayev M.K., Torgerson P.R. Economic and health burden of brucellosis in Kazakhstan. *Zoonoses Public Health*. 2019. [Электронный ресурс]. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/zph.12582> (дата обращения 16.05.2019). DOI: 10.1111/zph.12582.
9. Karunanayake L., Karunanayake P., Rathnayaka C.S., Senarath U., Ranbanda J.M., Kothalawala M. Seroprevalence and associated risk factors of human *Brucella* infection in selected provinces in Sri Lanka. *Ceylon Med. J.* 2019; 64(1):25–9. DOI: 10.4038/cmj.v64i1.8824.
10. Lounes N., Cherfa M-A., Le Carrou G., Bouyoucef A., Jay M., Garin-Bastuji B., Mick V. Human Brucellosis in Maghreb: Existence of a Lineage Related to Socio-Historical Connections with Europe. *PLoS ONE*. 9(12):e115319. DOI: 10.1371/journal.pone.0115319.
11. Algérie Presse Service: Ghardaïa: 175 cas de brucellose humaine et 171 autres de leishmaniose cutanée durant les 8 mois de

2018. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.aps.dz/sante-science-technologie/78148-ghardaia-175-cas-de-brucellose-humaine-et-171-autres-de-leishmaniose-cutanee-durant-les-8-mois-de-2018> (дата обращения 31.01.2019).

12. Algerie Presse Service: Batna: 11 cas confirmés de brucellose humaine enregistrés. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.aps.dz/sante-science-technologie/74123-batna-11-cas-confirmes-de-brucellose-humaine-enregistres> (дата обращения 31.01.2019).

13. Dadar M., Shahali Y., Whatmore A.M. Human brucellosis caused by raw dairy products: A review on the occurrence, major risk factors and prevention. *Int. J. Food Microbiol.* 2019; 292:39–47. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.12.009.

14. Mohamed A.A., Chehab M.A., Al-Dahshan A., Al-Romaihi H.E., Farag E.A. An Evaluation of the National Brucellosis Surveillance System in Qatar, 2018. *Cureus.* 2019; 11(3):e4169. DOI: 10.7759/cureus.4169

15. CDC and Texas Health Officials Warn About Illness Linked to Raw Milk from Texas Dairy. Disease Control and Prevention. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/media/releases/2017/p0915-raw-milk-brucella.html> (дата обращения 23.11.2017).

16. Exposure to RB51 through Raw Milk or Milk Products: How to Reduce Risk of Infection. Disease Control and Prevention. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/brucellosis/clinicians/rb51-raw-milk.html> (дата обращения 23.11.2017).

17. Пономаренко, Д.Г. Обзор эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации в 2017 г. и прогноз на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 2: 23–29. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-23-29.

18. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за январь–декабрь 2018 г. форма № 1: Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях за январь–декабрь 2018 федерального статистического наблюдения Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. [Электронный ресурс]. URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/statistic_detail.php?ID=11277&sphrase_id=1703598 (дата обращения 19.03.2018)

19. Эпизоотическая ситуация в РФ. Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (официальный сайт). [Электронный ресурс]. URL: http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2016/report_3_quater.pdf (дата обращения 19.03.2018).

20. Brucellosis in humans and animals, WHO/CDS/EPR/2006. 102 p. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf> (дата обращения 17.02.2019).

References

1. Closer intersectoral collaboration using existing tools can defeat zoonoses affecting humans. Geneva: WHO, 16 July, 2015. [Internet]. (Cited 23 Nov 2017). Available from: https://www.who.int/neglected_diseases/intersectoral_collaboration_to_defeat_zoonoses/en/.

2. Shi Y., Gao H., Pappas G., Chen Q., Li M., Xu J., Lai S., Liao Q., Yang W., Yi Z., Rouzi Z., Yu H. Clinical features of 2041 human brucellosis cases in China. *PLoS ONE.* 2018; 13(11):e0205500. DOI: 10.1371/journal.pone.0205500.

3. Olsen, S.C., Palmer, M.V. Advancement of knowledge of Brucella over the past 50 years. *Vet. Pathol.* 2014; 51(6):1076–89. DOI: 10.1177/0300985814540545.

4. Periodic reports of the Department of Epidemiology. Ministry of Health of the State of Israel (official website). [Internet]. (Cited 31 Jan 2019). Available from: https://www.health.gov.il/UnitsOffice/HD/PH/epidemiology/Pages/epidemiology_report.aspx.

5. Periodic reports of the Ministry of Health of the Turkey (official website). [Internet]. (Cited 31 Jan 2019). Available from: <https://www.saglik.gov.tr/TR,11584/istatistikler-ve-yayinlar.html>.

6. Periodic reports of the Ministry of Health of the Egypt. [Internet]. (Cited 31 Jan 2019). Available from: <http://www.mohp.gov.eg/PublicationsCategories.aspx>.

7. Almasri M., Ahmed Q.A., Turkestani A., Memish Z.A. Hajj abattoirs in Makkah: risk of zoonotic infections among occupational workers. *Vet. Med. Sci.* 2019. [Internet]. (Cited 26 Apr 2019). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/vms3.169> DOI: 10.1002/vms3.169.

8. Charypkhan D., Sultanov A.A., Ivanov N.P., Baramova S.A., Taitubayev M.K., Torgerson P.R. Economic and health burden of brucellosis in Kazakhstan. *Zoonoses Public Health.* 2019. [Internet]. (Cited 16 May 2019). Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/zph.12582> DOI: 10.1111/zph.12582.

9. Karunanayake L., Karunanayake P., Rathnayaka C.S., Senarath U., Ranbanda J.M., Kothalawala M. Seroprevalence and

associated risk factors of human Brucella infection in selected provinces in Sri Lanka. *Ceylon Med. J.* 2019; 64(1):25–9. DOI: 10.4038/cmj.v64i1.8824.

10. Lounes N., Cherfa M-A., Le Carrou G., Bouyoucef A., Jay M., Garin-Bastuji B., Mick V. Human Brucellosis in Maghreb: Existence of a Lineage Related to Socio-Historical Connections with Europe. *PLoS ONE.* 9(12):e115319. DOI: 10.1371/journal.pone.0115319.

11. Algérie Presse Service: Ghardaia: 175 cas de brucellose humaine et 171 autres de leishmaniose cutanée durant les 8 mois de 2018. [Internet]. (Cited 31 Jan 2019). Available from: <http://www.aps.dz/sante-science-technologie/78148-ghardaia-175-cas-de-brucellose-humaine-et-171-autres-de-leishmaniose-cutanee-durant-les-8-mois-de-2018>.

12. Algerie Presse Service: Batna: 11 cas confirmés de brucellose humaine enregistrés. [Internet]. (Cited 31 Jan 2019). Available from: <http://www.aps.dz/sante-science-technologie/74123-batna-11-cas-confirmes-de-brucellose-humaine-enregistres>.

13. Dadar M., Shahali Y., Whatmore A.M. Human brucellosis caused by raw dairy products: A review on the occurrence, major risk factors and prevention. *Int. J. Food Microbiol.* 2019; 292:39–47. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.12.009.

14. Mohamed A.A., Chehab M.A., Al-Dahshan A., Al-Romaihi H.E., Farag E.A. An Evaluation of the National Brucellosis Surveillance System in Qatar, 2018. *Cureus.* 2019; 11(3):e4169. DOI:10.7759/cureus.4169

15. CDC and Texas Health Officials Warn About Illness Linked to Raw Milk from Texas Dairy. Disease Control and Prevention. [Internet]. (Cited 23 Nov 2017). Available from: <https://www.cdc.gov/media/releases/2017/p0915-raw-milk-brucella.html>.

16. Exposure to RB51 through Raw Milk or Milk Products: How to Reduce Risk of Infection. Disease Control and Prevention. [Internet]. (Cited 23 Nov 2017). Available from: <https://www.cdc.gov/brucellosis/clinicians/rb51-raw-milk.html>.

17. D.G. Ponomarenko, D.V. Rusanova, T.V. Berdnikova, A.A. Khachaturova, E.A. Manin, A.N. Kulichenko [Overview of Epizootiological and Epidemiological Situation on Brucellosis in the Russian Federation in 2017 and Prognosis for 2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 2:23–9.

18. Infectious morbidity in the Russian Federation over the period of January–December, 2018, Form No 1: “The data on infectious and parasitic diseases for January–December, 2018 of the Federal Statistical Observation of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare”. [Internet]. (Cited 19 Mar 2018). Available from: https://www.rospotrebnadzor.ru/activities/statistical-materials/statistic_detail.php?ID=11277&sphrase_id=1703598.

19. Epizootic situation in the Russian Federation. Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (official website). [Internet]. (Cited 19 Mar 2018). Available from: http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2016/report_3_quater.pdf.

20. Brucellosis in humans and animals, WHO/CDS/EPR/2006. 102 p. [Internet]. (Cited 17 Feb 2019). Available from: <https://www.who.int/csr/resources/publications/Brucellosis.pdf>.

Authors:

Ponomarenko D.G., Rusanova D.V., Khachaturova A.A., Berdnikova T.V., Manin E.A., Semenko O.V., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

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.

Об авторах:

Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Хачатурова А.А., Бердникова Т.В., Манин Е.А., Семенов О.В., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

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.

Поступила 27.03.19.

Отправлена на доработку 23.04.19.

Принята к публ. 20.05.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-22-29

УДК 616.98:579.834.114(470)

С.А. Рудакова¹, Н.А. Пенъевская^{1,2}, Н.В. Рудаков^{1,2}, Н.Д. Пакскина³, Д.А. Савельев^{1,2}, А.И. Блох^{1,2}**ИНТЕНСИВНОСТЬ И ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕВЫХ БОРРЕЛИОЗОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2002–2018 гг. И ПРОГНОЗ НА 2019 г.**

¹ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций», Омск, Российская Федерация; ²ГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Омск, Российская Федерация; ³Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Цель работы – проанализировать интенсивность и динамику заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами (ИКБ) в федеральных округах и субъектах Российской Федерации (РФ) в 2002–2018 гг. и дать прогноз развития эпидемического процесса на 2019 г. Максимальное количество случаев ИКБ в 2002–2018 гг. зарегистрировано (по убывающей) в Центральном (ЦФО), Приволжском (ПФО), Сибирском (СФО), Северо-Западном (СЗФО), Уральском (УФО), Дальневосточном (ДФО), Южном (ЮФО) и Северо-Кавказском (СКФО) федеральных округах. Территории распределены по убыванию инцидентности ИКБ: СКФО, УФО, СФО, ПФО, ЦФО, ДФО, ЮФО, СКФО. При оценке динамики инцидентности ИКБ выявлена достоверная тенденция к снижению интенсивности эпидемического процесса для СЗФО и ПФО, в отличие от ЦФО, ЮФО и СКФО, где отмечена достоверная тенденция к росту. Для УФО, СФО, ДФО и РФ в целом наиболее вероятно в ближайшей перспективе варьирование показателей заболеваемости в пределах доверительных интервалов среднескользящих значений. Проведено ранжирование субъектов РФ по уровням заболеваемости ИКБ и определены тенденции развития эпидемического процесса в зависимости от степени эпидемической опасности территории. В группе из 26 субъектов РФ со среднескользящим уровнем заболеваемости выше 6,5 ‰ в половине субъектов выявлен достоверный тренд на снижение интенсивности эпидемического процесса. Исключение составляют Кемеровская область и Республика Тыва, в которых вероятен дальнейший рост заболеваемости ИКБ. В группе из 15 субъектов РФ со среднескользящим уровнем заболеваемости ИКБ от 2,9 ‰ до 6,5 ‰ примерно с равной частотой отмечается как тенденция к росту, так и к снижению или отсутствие достоверного тренда изменения интенсивности эпидемического процесса. В группе субъектов РФ со среднескользящими показателями заболеваемости ИКБ менее 2,9 ‰ высока вероятность увеличения этого показателя в дальнейшем.

Ключевые слова: иксодовые клещевые боррелиозы, заболеваемость, прогноз.

Корреспондирующий автор: Пенъевская Наталья Александровна, e-mail: mail@oniipi.org.

Для цитирования: Рудакова С.А., Пенъевская Н.А., Рудаков Н.В., Пакскина Н.Д., Савельев Д.А., Блох А.И. Интенсивность и тенденции развития эпидемического процесса иксодовых клещевых боррелиозов в Российской Федерации в 2002–2018 гг. и прогноз на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:22–29. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-22-29

S.A. Rudakova¹, N.A. Pen'evskaya^{1,2}, N.V. Rudakov^{1,2}, N.D. Pakskina³, D.A. Savel'ev^{1,2}, A.I. Blokh^{1,2}**Intensity and Trends in Development of Epidemic Process of Ixodes Tick-Borne Borrelioses in the Russian Federation in 2002–2018 and Forecast for 2019**

¹Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections of the Rospotrebnadzor, Omsk, Russian Federation; ²Omsk State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Omsk, Russian Federation; ³Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation

Abstract. Objective: to analyze the intensity and dynamics of Ixodidae tick-borne borreliosis (ITBB) incidence in Federal Districts and constituent entities of the Russian Federation (RF) in 2002–2018 and give a forecast of epidemic process development for 2019. The maximum number of cases of ITBB in 2002–2018 was registered in the Central Federal District (CFD); further on in a decreasing order, the Volga (VFD), Siberian (SiFD), North-West (NWFD), Ural (UFD), Far Eastern (FEFD), Southern (SoFD), and North Caucasian (NCFD) Federal Districts. The territories are distributed according to the incidence of ITBB, as follows (descending): NWFD, UFD, SiFD, VFD, CFD, FEFD, SoFD, NCFD. When assessing the dynamics of ITBB incidence, a reliable tendency towards decrease in the intensity of the epidemic process was found for the North-West Federal District and the Volga Federal District, in contrast to the Central Federal District, the Southern Federal District and the North-West Federal District, where there is a significant upward trend. For the UFD, the Siberian Federal District, Far Eastern Federal District, and the Russian Federation on the whole the variation in the incidence rates within the confidence intervals of the long-term annual average values is the most likely to be observed in the near future. The constituent entities of the Russian Federation were ranked according to the levels of ITBB morbidity; the trends in epidemic process development, depending upon the degree of epidemic hazard of the territory, were determined. In half of the 26 entities of the Russian Federation, with the average annual incidence rate above 6.5 ‰, a reliable trend in epidemic process intensity reduction was revealed. The exception is the Kemerovo Region and the Republic of Tuva, where further increase in ITBB incidence is probable. In the group of 15 entities of the Russian Federation with the average annual incidence of ITBB ranging from 2.9 ‰ to 6.5 ‰, both the tendency towards growth and decrease or absence of a reliable trend in the intensity of the epidemic process is observed with approximately equal frequency. In the group of entities with the average annual incidence rates of ITBB less than 2.9 ‰, the increment of the indicator values in the future is highly probable.

Key words: Ixodidae tick-borne borrelioses, morbidity rates, prognosis.

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

Corresponding author: Natal'ya A. Pen'evskaya, e-mail: mail@oniiipi.org.

Citation: Rudakova S.A., Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Paksina N.D., Savel'ev D.A., Blokh A.I. Intensity and Trends in Development of Epidemic Process of Ixodes Tick-Borne Borrelioses in the Russian Federation in 2002–2018 and Forecast for 2019. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:22–29. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-22-29

Received 26.03.19. Accepted 09.04.19.

Иксодовые клещевые боррелиозы – ИКБ (болезнь Лайма, лайм-боррелиоз, нейроборрелиоз) занимают ведущее место по уровню заболеваемости и социально-экономическому ущербу среди трансмиссивных природно-очаговых инфекций в России [1, 2]. Природные очаги ИКБ широко распространены в лесной ландшафтной зоне умеренного климатического пояса Северного полушария на Европейском, Азиатском и Американском континентах. По данным ВОЗ, болезнью Лайма ежегодно в мире (за пределами РФ) заболевает более 500 тыс. человек [3]. В странах Западной Европы – в среднем 232 тыс. человек [4], в США – около 300 тыс. [5]. В Европе ИКБ является самым распространенным из всех заболеваний, передающихся клещами. Инцидентность ИКБ значительно различается как между странами, так и между регионами внутри стран. Самые высокие показатели заболеваемости ИКБ зарегистрированы в южной части Швеции (464 ‰), а самые низкие – в Италии (0,001 ‰). Средневзвешенная заболеваемость лайм-боррелиозом в Западной Европе оценивается в 22 случая на 100 тыс. населения в год [4].

В 2018 г. нейроборрелиоз Лайма включен в список заболеваний, находящихся под эпидемиологическим надзором Европейского Союза (ЕС). ECDC (Европейский центр профилактики и контроля заболеваний) начнет мониторинг распространения нейроборрелиоза Лайма в ЕС и сбор данных ЕС через сеть эпидемиологического надзора, включающую Европейскую комиссию, ECDC и национальные органы по эпидемиологическому надзору. Первый запрос данных о нейроборрелиозе Лайма в Европейской системе наблюдения (TESSy) будет запущен в 2019 г. [6].

Возбудители ИКБ относятся к классу *Spirochaetales*, семейству *Spirochaetaceae*, наряду с возбудителями возвратных тифов (клещевых рекуррентных лихорадок). Обе группы возбудителей ранее отнесены к роду *Borrelia*. В настоящее время, на основании молекулярно-генетического типирования, возбудители ИКБ выделены в отдельный род *Borrelia* [7, 8]. Однако ряд экспертов предлагает сохранить за спирохетами-возбудителями ИКБ (лайм-боррелиоза) прежнее название *Borrelia* в связи с рисками возникновения путаницы в системах регистрации и кодировки информационных потоков, используемых в здравоохранении, включая МКБ-10 [9]. В настоящей статье используется прежнее родовое название возбудителей ИКБ.

ИКБ – это передаваемая клещами бактериальная инфекция, вызываемая геновидами боррелий, входящими в комплекс *Borrelia burgdorferi* s. l. Комплекс

включает в себя не менее 19 генотипов по всему миру [10]. Патогенность пяти из них убедительно доказана – это *B. burgdorferi* s. str. в Северной Америке и Европе; *B. afzelii*, *B. garinii* и *B. bavariensis*, а также *B. spielmanii* в Евразии. Для трех видов – *B. lusitaniae*, *B. bissettii* и *B. valaisiana*, статус патогенности окончательно не определен, поскольку они редко обнаруживаются у пациентов. Остальные виды боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi* s. l. считают не патогенными для человека [10, 11, 12].

В Российской Федерации ИКБ этиологически связаны преимущественно с *B. afzelii* и *B. garinii*, которые имеют общих резервуарных хозяев и переносчиков. Ареал возбудителей определяется областью распространения их основных переносчиков: клещей *I. persulcatus* и *I. ricinus*. В Сибири и на Дальнем Востоке в передаче могут принимать участие клещи *I. pavlovskyi* [13, 14]. Кроме того, указанные виды иксодовых клещей являются переносчиками возбудителей целого ряда других клещевых трансмиссивных инфекций, что требует комплексного подхода к их лабораторной диагностике и профилактике, а также мониторингу сочетанных природных очагов [15, 16]. Сравнительно недавно российскими учеными доказано, что этиология части безэритемных форм ИКБ может быть связана с *Borrelia miyamotoi*, которая, в отличие от боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi* s. l. – возбудителей «классической» болезни Лайма, хотя и переносится теми же иксодовыми клещами, генетически ближе к боррелиям клещевых возвратных лихорадок [17].

Эпидемическая ситуация по ИКБ в Российской Федерации на протяжении последнего десятилетия оценивалась как напряженная [18].

Цель работы – проанализировать интенсивность и динамику заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами в федеральных округах и субъектах Российской Федерации в 2002–2018 гг. и дать прогноз развития эпидемического процесса на 2019 г.

Анализ заболеваемости ИКБ в РФ за 2002–2018 гг. проведен на основании формы № 2 государственной статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» стандартными статистическими методами [19] с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010.

Согласно данным официальной статистики, всего в России в 80 субъектах за 2002–2018 гг. иксодовыми клещевыми боррелиозами заболело 126269 человек. Ежегодно в течение всего анализируемого периода заболеваемость ИКБ регистрировалась в 67 субъектах, поэтому в дальнейшем именно для

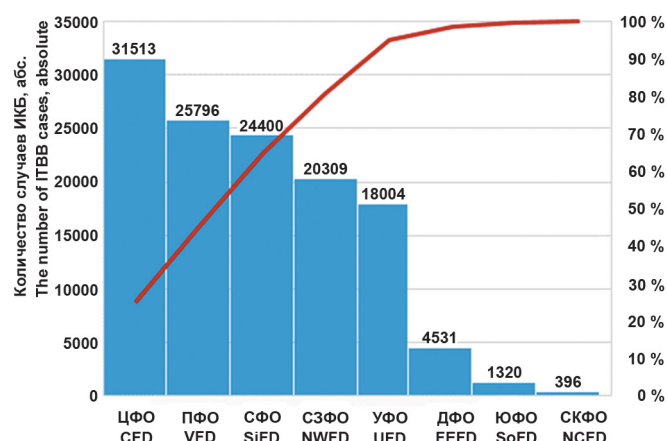


Рис. 1. Ранжирование федеральных округов Российской Федерации по количеству случаев иксодовых клещевых боррелиозов в 2002–2018 гг.

Fig. 1. Ranking of Federal Districts of the Russian Federation by the number of cases of Ixodidae tick-borne borrelioses in 2002–2018

этих территорий определяли тенденции развития эпидемического процесса. В Ростовской области случаи ИКБ начали регистрировать только с 2012 г. (105 случаев за 7 лет), в Саратовской области – с 2011 г. (20 случаев за 8 лет), в Республике Крым и г. Севастополь – с 2015 г. (193 и 39 случаев за четыре года соответственно). В 9 субъектах РФ на протяжении последних 17 лет только в отдельные годы отмечены случаи заболеваний ИКБ: Республика Калмыкия – 1 случай, Республика Адыгея – 27 случаев, Чеченская Республика – 11, Республика Дагестан – 5, Карачаево-Черкесская Республика – 2, Ненецкий автономный округ – 3, Республика Саха (Якутия) – 12, Магаданская область – 4, Камчатский край – 5 случаев.

В целом по России максимальное количество случаев заболевания (около 10 тыс. за год) отмечено в 2011 г., минимальное (5703) – в 2013 г. Интенсивность проявления эпидемического процесса ИКБ,

как и других трансмиссивных природно-очаговых заболеваний, характеризуется цикличностью и территориальной неравномерностью распространения, которые зависят от множества биотических и абиотических факторов. На диаграмме Парето (рис. 1) видно, что 95 % всех случаев ИКБ в России приходится на пять федеральных округов: ЦФО – 25 % от общего числа за 2002–2018 гг.; ПФО – 20,4 %; СФО – 19,3 %; СЗФО – 16,1 %; УФО – 14,3 %. В ДФО, ЮФО и СКФО зарегистрировано 3,6 %, 1,0 % и 0,3 % от общего числа случаев ИКБ в России соответственно.

Несмотря на значительные различия в уровнях заболеваемости ИКБ на различных территориях, характер чередования подъемов и спадов заболеваемости по годам во всех федеральных округах одно-типен (рис. 2).

Среднегодовое количество случаев ИКБ за 2002–2018 гг. в России составил 5,16 ‰ с минимальным уровнем в 2013 г. (3,99 ‰) и максимальным в 2011 г. (6,96 ‰). В целом за анализируемый период наметился тренд на снижение заболеваемости (рис. 3), наиболее выраженный в последнее десятилетие (темп снижения за 2009–2018 гг. – 4,7 %, $R^2=47,3$ %, $p=0,03$). Между федеральными округами и между субъектами, входящими в их состав, существуют заметные отличия по уровням заболеваемости и тенденциям развития эпидемического процесса ИКБ. В среднем, максимальная инцидентность ИКБ характерна для СЗФО и УФО, в которых среднегодовые показатели заболеваемости за 2002–2018 гг. составили 8,7 и 8,6 на 100 тыс. населения соответственно. В СФО этот показатель составил 7,3 ‰, в ПФО – 5,0 ‰, в ЦФО – 4,9 ‰, в ДФО – 4,1 ‰.

В СЗФО и УФО анализируемый показатель в 2009–2018 гг. заметно ниже, чем в 2002–2008 гг. (в СЗФО – 7,98 (9,68) ‰, в УФО – 8,28 (9,17) ‰ соответственно). Темп снижения в течение 2009–2018 гг. в СЗФО составил 8,8 % ($R^2=73,8$ %, $p=0,001$),

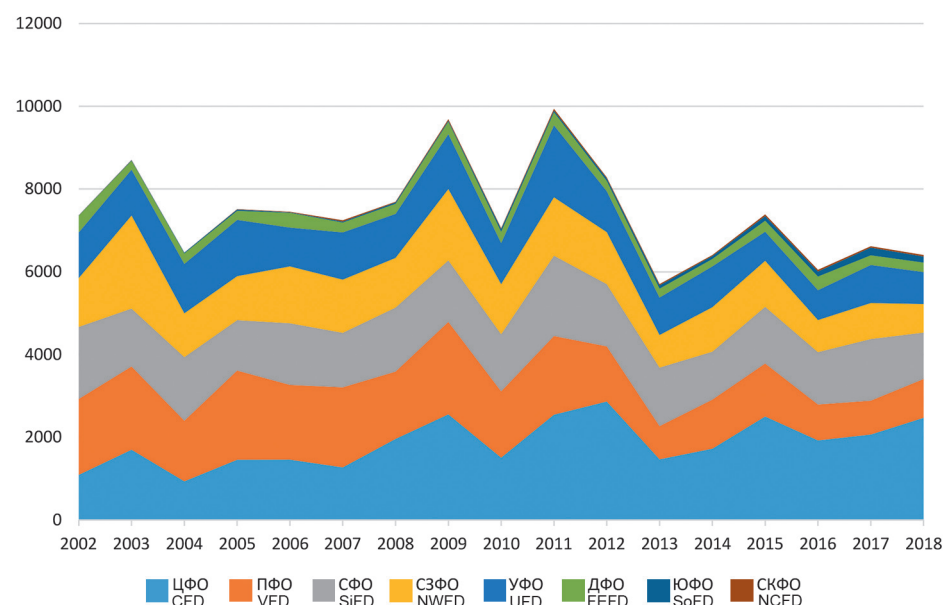


Рис. 2. Кумулятивное количество случаев и общие закономерности чередования подъемов и спадов заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами в федеральных округах Российской Федерации в 2002–2018 гг.

Fig. 2. Cumulative number of cases and common patterns of alternation between ups and downs in the incidence of Ixodidae tick-borne borrelioses in the Federal Districts of the Russian Federation in 2002–2018



Рис. 3. Динамика заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами в Российской Федерации за период 2002–2018 гг. и прогноз на 2019 г.

Fig. 3. Dynamics of Ixodidae tick-borne borrelioses morbidity in the Russian Federation for the period of 2002–2018 and forecast for 2019

в УФО – 7,0 % ($R^2=44,2$ %, $p=0,036$). Аналогичная тенденция отмечена и в ПФО, где среднееголетний показатель заболеваемости за последнее десятилетие (4,34 ‰) снизился по сравнению с периодом 2002–2008 гг. (5,93 ‰), а темп снижения в 2009–2018 гг. составил 10,4 % ($R^2=68,7$ %, $p=0,003$).

В динамике заболеваемости ИКБ в СФО и ДФО не прослеживается достоверной тенденции к снижению или повышению: среднееголетние показатели 2002–2008 гг. и 2009–2018 г. практически одинаковы (в СФО – 7,33 и 7,31 ‰, в ДФО – 4,13 и 4,12 ‰ соответственно), темпы снижения в 2009–2018 г. незначительны (СФО – 2,7 %, ДФО – 1,3 %) при недостаточной точности линейного тренда для описания изменений анализируемых показателей (для СФО: $R^2=25,3$ %, $p=0,138$; для ДФО: $R^2=5,1$ %, $p=0,532$). Уровни заболеваемости ИКБ в ЮФО и СКФО – низкие (среднееголетние показатели 2009–2018 гг. – 0,76 ‰ и 1,1 ‰ соответственно) с достоверной тенденцией к росту в ЮФО (темп прироста равен 29 %, $R^2=79,1$ %, $p=0,001$).

В качестве особенности тенденций развития эпидемического процесса ИКБ в 2009–2018 гг. следует отметить то обстоятельство, что максимальные среднегодовые темпы снижения отмечены для округов (ПФО, СЗФО и УФО), в состав которых входят субъекты со среднееголетними показателями заболеваемости ИКБ, превышающими общероссийский в 2 раза и более. В ПФО – Пермский край, Кировская область, Удмуртская Республика; в СЗФО – Вологодская и Калининградская области; в УФО – Свердловская область. В большинстве субъектов СФО заболеваемость ИКБ превышает общероссийский уровень, особенно в республике Тыва и Хакасия, Красноярском крае, Томской и Новосибирской областях. Среднегодовой темп снижения заболеваемости ИКБ в СФО в 2009–2018 гг. составил -2,7 %, в ЦФО – -0,8 %, в ДФО – -1,3 %. Напряженная ситуация по ИКБ в ЦФО сохраняется в Ярославской и Костромской областях, где среднееголетние показатели заболеваемости в 2–3 раза превышают общероссийский. Ежегодное превышение последнего отмечено для Калужской, Липецкой и Московской областей. В ДФО аналогичная ситуация характерна для Сахалинской области и Приморского

края. В ЮФО (Краснодарский край и Волгоградская область) и СКФО (Ставропольский край) за анализируемый период отмечена тенденция к росту заболеваемости ИКБ со среднегодовым темпом +18,1 и +5,1 % соответственно на фоне относительно низкого уровня.

Для сравнительной оценки степени эпидемической опасности (риска) по ИКБ на различных эндемичных территориях проведено ранжирование субъектов РФ по среднееголетним показателям заболеваемости за период 2002–2018 гг. с выделением эпидемиологических зон низкого, среднего, выше среднего, высокого уровня заболеваемости (рис. 4). В анализ вошли 67 субъектов, в которых заболеваемость ИКБ стабильно регистрируется ежегодно на протяжении не менее 10 лет. Градацию оценочной шкалы уровней заболеваемости проводили с использованием методики определения доверительных интервалов медианы (ГОСТ Р ИСО 16269-7-2004). Низкий уровень заболеваемости характеризуют среднееголетние показатели, ниже 2,9 на 100 тыс. населения, средний уровень – от 2,9 до 6,5 ‰, выше среднего – от 6,6 до 11,5 ‰, высокий – более 11,5 ‰.

География эндемичных по ИКБ территорий России совпадает с границей распространения двух основных переносчиков боррелий – клещей *I. ricinus* и *I. persulcatus*. Клещ *I. ricinus* встречается только в европейской части страны и по эпидемиологической значимости уступает *I. persulcatus*, ареал которого занимает значительную часть европейской и азиатской территории РФ.

В Северо-Западном, Уральском, Сибирском, Приволжском и Центральном федеральных округах все субъекты, за исключением Ненецкого АО, эндемичны по ИКБ и включают ряд административных территорий с высоким уровнем заболеваемости ИКБ. В СЗФО – это Вологодская, Калининградская и Псковская области (27,2, 12,6 и 11,9 ‰ соответственно); в УФО – Свердловская область (15,3 ‰); в СФО – Томская область и Республика Тыва (23,3 и 14,3 ‰ соответственно); в ПФО – Кировская область, Удмуртская Республика и Пермский Край (30,9, 17,2 и 15,4 ‰ соответственно); в ЦФО – Костромская и Ярославская области (20,7 и 19,4 ‰). Уровень заболеваемости ИКБ выше среднего от-

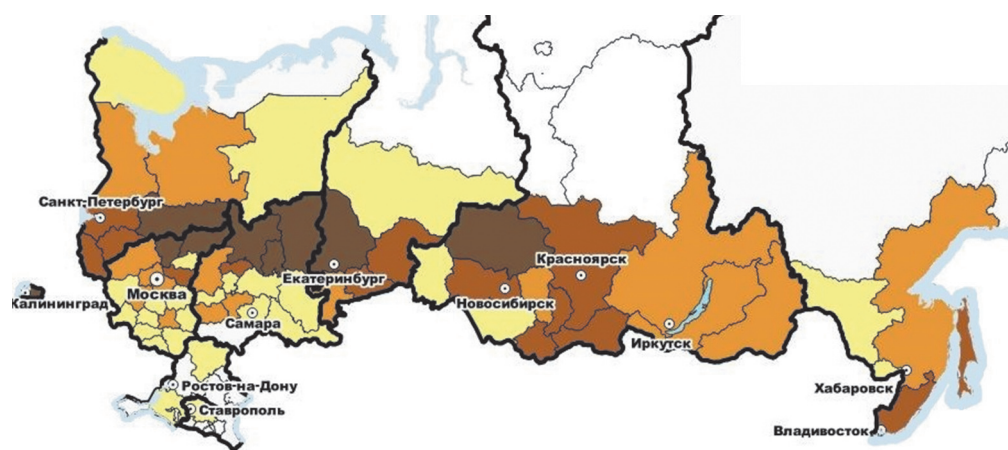


Рис. 4. Ранжирование субъектов Российской Федерации по среднемугодовым показателям заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами за период 2002–2018 гг.

Fig. 4. Ranking of the constituent entities of the Russian Federation by the long-term annual average morbidity rates of Ixodidae tick-borne borreliosis for the period 2002–2018

Заболеваемость иксодовым клещевым боррелиозом на 100 000 человек
Ixodidae tick borreliosis morbidity per one hundred thousand of the population



мечен в субъектах СЗФО – Новгородская область (8,5 ‰), Санкт-Петербург (7,7 ‰), Республика Карелия (7,2 ‰); УФО – Курганская и Тюменская области (7,5 и 6,8 ‰ соответственно); СФО – Красноярский край (11,3 ‰), Республика Хакасия (11,0 ‰), Новосибирская область (9,5 ‰), Республика Алтай (9,4 ‰), Кемеровская область (6,4 ‰). Средний уровень заболеваемости ИКБ характерен для субъектов СЗФО – Ленинградская (6,4 ‰) и Архангельская области (5,0 ‰); в УФО – Челябинская область (5,4 ‰); СФО – Иркутская область (5,9 ‰) и Забайкальский край (3,7 ‰); ПФО – Пензенская (3,7 ‰), Нижегородская (3,4 ‰), Ульяновская области (3,2 ‰); в ЦФО – Москва (5,4 ‰), Липецкая (4,8 ‰), Тверская (4,0 ‰), Московская (3,9 ‰), Белгородская (3,6 ‰), Смоленская (3,4 ‰) области. В остальных субъектах СЗФО, УФО, СФО, ПФО и ЦФО среднегодовые показатели соответствуют низкому уровню заболеваемости ИКБ.

В ДФО только в 5 из 9 субъектов ежегодно регистрируется заболеваемость ИКБ. Уровень выше среднего отмечен в Сахалинской области и Приморском крае (8,6 и 7,7 ‰ соответственно), средний уровень – в Хабаровском крае (4,1 ‰), низкий – в Амурской области и Еврейской АО (0,7 и 1,9 ‰ соответственно). Остальные субъекты ДФО не являются эндемичными по ИКБ.

В ЮФО случаи заболеваний ИКБ в 2002–2018 гг. регистрировали в Краснодарском крае (среднегодовой показатель 1,0 ‰) и Волгоградской области (0,06 ‰). С 2012 г. началась регистрация ИКБ в Ростовской области (анализируемый показатель за период 2012–2018 гг. – 0,35 ‰). В Республике Крым и г. Севастополе заболеваемость ИКБ за 2014–2018 гг. составила в среднем 2,0 и 2,3 ‰ соответственно.

В СКФО заболевания ИКБ на протяжении 2002–2018 гг. ежегодно регистрируют только в Ставропольском крае (0,8 ‰), в остальных субъектах возможны единичные завозные случаи.

Различия в интенсивности эпидемического процесса на различных территориях требуют риск-ориентированного подхода к проведению профилактических и противоэпидемических мероприятий, рациональное планирование которых невозможно без прогнозирования развития эпидемического процесса. Вместе с тем прогнозирование инфекционной заболеваемости – один из самых сложных вопросов, не имеющий универсального решения. Один из методологических подходов к прогнозированию предполагает использование регрессионного анализа с построением линии многолетней тенденции и ее продолжением на предстоящий период.

Предварительными исследованиями установлено, что при использовании регрессионного анализа точность прогноза выше при увеличении временного периода, предшествующего прогнозу. Поэтому для построения линии тренда анализировали динамику заболеваемости по округам и субъектам за семнадцатилетний период (2002–2018 гг.). В таблице представлены результаты применения метода линейной регрессии для расчетов темпов прироста или снижения заболеваемости. Для определения вероятных значений и доверительных интервалов (95 % ДИ) показателей заболеваемости по Российской Федерации в целом и по отдельным федеральным округам использовали функцию «Лист прогноза» в пакете прикладных программ Microsoft Excel 2010.

В отличие от результатов регрессионного анализа динамических рядов за последние 10 лет (2009–2018 гг.) при оценке семнадцатилетней динамики инцидентности ИКБ достоверная тенденция к снижению выявлена только для СЗФО ($T_{\text{сн.2002–2018}}=3,5\%$, $R^2=33,6\%$, $p=0,015$) и ПФО ($T_{\text{сн.2002–2018}}=4,5\%$, $R^2=56,2\%$, $p<0,001$). Это можно объяснить наличием многолетней цикличности активности природных очагов. Достоверная тенденция к росту установлена для ЦФО ($T_{\text{сн.2002–2018}}=3,3\%$, $R^2=31,4\%$, $p=0,019$), ЮФО ($T_{\text{сн.2002–2018}}=16,9\%$, $R^2=79,3\%$, $p<0,001$) и СКФО ($T_{\text{сн.2002–2018}}=18,1\%$, $R^2=77,9\%$, $p<0,001$). Для России в целом, УФО, СФО и ДФО отмечены не-

Тенденции эпидемического процесса иксодовых клещевых боррелиозов в федеральных округах Российской Федерации в 2002–2018 гг. и прогноз на 2019 г.

Epidemic process trends for Ixodidae tick-borne borrelioses in the Federal Districts of the Russian Federation in 2002–2018 and forecast for 2019

Территории / Territories	Среднегоголетние показатели заболеваемости ИКБ в 2002–2018 гг., ‰ (95 % ДИ по Вальду) / Long-term average annual ITBB morbidity rates in 2002–2018, ‰ (95 % Wald CI)	Темп пр./сн. в 2002–2018 гг., % / Increment/decrement rates in 2002–2018, %	Линейная тенденция / Linear trend	Характеристика линии тренда $y=ax+b$ в 2002–2018 гг. / Trend line characteristics $y=ax+b$ in 2002–2018		Прогноз на 2019 г. / Forecast for 2019	
				коэффициент детерминации (R^2), % / determination coefficient (R^2), %	p – уровень для коэф. наклона линии тренда (a) / p – the level of trend line slope coefficient (a)	среднее значение / mean value	95 % ДИ («Лист прогноза» Excel 2010) / 95 % CI (“Prognosis spreadsheet” Excel 2010)
РФ / RF	5,16 (5,14÷5,16)	-1,1	↔	12,0	0,173	4,55	2,88–6,23
СЗФО / NWFD	8,68 (8,56÷8,80)	-3,5	↓	33,6	0,015	4,51	0,61–8,41
УФО / UFD	8,63 (8,51÷8,76)	-2,3	↔	22,3	0,056	6,63	2,66–10,60
СФО / SiFD	7,32 (7,23÷7,41)	-0,6	↔	5,4	0,370	6,96	4,82–9,10
ПФО / VFD	4,99 (4,93÷5,05)	-4,5	↓	56,2	<0,001	2,61	0,23–4,99
ЦФО / CFD	4,87 (4,82÷4,93)	3,32	↑	31,4	0,019	6,29	3,76–8,71
ДФО / FEFD	4,12 (4,00÷4,25)	-0,45	↔	1,2	0,670	3,91	1,84–5,98
ЮФО / SoFD	0,50 (0,47÷0,52)	16,9	↑	79,3	<0,001	1,39	0,77–2,02
СКФО / NCFD	0,18 (0,14÷0,22)	18,1	↑	77,9	<0,001	0,44	0,25–0,63

значительные темпы снижения при недостаточной точности линейного тренда для описания колебаний анализируемых показателей. Иными словами, наиболее вероятно, что уровень заболеваемости на данных территориях в ближайшей перспективе будет варьировать в пределах среднегоголетних значений.

Прогнозируемый показатель заболеваемости ИКБ в 2019 г. для Российской Федерации составит 4,55 (2,88÷6,23) ‰; для СЗФО – 4,51 (0,61÷8,41) ‰; для УФО – 6,63 (2,66÷10,60) ‰; для СФО – 6,96 (4,82÷9,10) ‰; для ПФО – 2,61 (0,23÷4,99) ‰; для ЦФО – 6,29 (3,76÷8,71) ‰; для ДФО – 3,91 (1,84÷5,98) ‰; для ЮФО – 1,39 (0,77÷2,02) ‰; для СКФО – 0,44 (0,25÷0,63) ‰.

Таким образом, результаты анализа обобщенных по федеральным округам показателей свидетельствуют, что в регионах со стабильно высоким уровнем заболеваемости ИКБ имеет место тенденция к снижению этого показателя, в отличие от центральных и южных территорий европейской части России.

Тенденции развития эпидемического процесса ИКБ в субъектах РФ в зависимости от степени эпидемической опасности территорий в 2002–2018 гг. Многолетнюю тенденцию развития эпидемического процесса ИКБ в период 2002–2018 гг. на эндемичных территориях определяли прямолинейным выравниванием динамического ряда показателей заболеваемости (простая линейная регрессия: $y=ax+b$) методом наименьших квадратов. Для количественной оценки тенденции вычисляли темп прироста/снижения (Тпр/сн.).

Для 7 из 11 субъектов РФ с высоким уровнем заболеваемости ИКБ в период 2002–2018 гг. отмечена достоверная тенденция к снижению интенсивности эпидемического процесса со среднегодовым темпом от 4,6 до 10 %: в ЦФО – Костромская и Ярославская

области; в СЗФО – Калининградская и Псковская области; в ПФО – Кировская область и Удмуртская Республика; в СФО – Томская область. Иными словами, на этих территориях в последующие годы вероятно ожидать снижения заболеваемости ИКБ. В Вологодской (СЗФО) и Свердловской (УФО) областях, а также в Пермском крае (ПФО) достоверной тенденции на снижение/повышение заболеваемости ИКБ не выявлено, следовательно, в последующие годы наиболее вероятно ожидать колебания её показателей возле среднегоголетних значений. В Республике Тыва (СФО) возможен рост заболеваемости ИКБ, поскольку за последние 16 лет среднегодовой темп прироста составил 15,7 % ($R^2=67,4$ %, $p<0,001$).

Среди 15 субъектов РФ со среднегоголетним уровнем заболеваемости ИКБ выше среднего отмечен достоверный тренд к снижению анализируемого показателя для шести территорий: в СЗФО – Новгородская область (Тсн.=6,0 %, $R^2=43,6$ %, $p=0,004$), Санкт-Петербург (Тсн.=3,5 %, $R^2=30,2$ %, $p=0,02$); в ПФО – Республика Марий Эл (Тсн.=11,5 %, $R^2=66,4$ %, $p<0,001$); в УФО – Курганская область (Тсн.=8,0 %, $R^2=69,8$ %, $p<0,001$), Тюменская область (Тсн.=6,7 %, $R^2=37,3$ %, $p=0,009$); в СФО – Красноярский край (Тсн.=3,5 %, $R^2=49,8$ %, $p=0,002$). Для Кемеровской области (СФО) выявлен достоверный тренд к росту заболеваемости ИКБ со среднегодовым темпом 6,1 % ($R^2=63,4$ %, $p<0,001$).

Для остальных территорий с уровнем заболеваемости ИКБ выше среднего следует ожидать в ближайшей перспективе незначительных колебаний заболеваемости вокруг среднегоголетних значений, поскольку за период 2002–2018 гг. не выявлено значимых изменений интенсивного эпидемического процесса в сторону уменьшения или увеличения: в ЦФО – Владимирская и Калужская области; в

СЗФО – Республика Карелия; в СФО – Республики Алтай и Хакасия, Новосибирская область; в ДФО – Приморский край и Сахалинская область.

В группе из 15 субъектов со средним уровнем заболеваемости ИКБ, в отличие от групп субъектов с более высокой интенсивностью эпидемического процесса, значительно чаще выявляется тенденция к росту заболеваемости, в том числе, в шести случаях тренд имеет высокий уровень значимости: в ЦФО – Белгородская (Тпр.=10,7 %, $R^2=70,6$ %, $p<0,001$), Липецкая (Тпр.=7,4 %, $R^2=36,5$ %, $p=0,01$), Московская области (Тпр.=4,9 %, $R^2=42,7$ %, $p=0,004$), Москва (Тпр.=8,0 %, $R^2=63,8$ %, $p<0,001$); в ПФО – Пензенская область (Тпр.=4,2 %, $R^2=25,8$ %, $p=0,04$); в СФО – Забайкальский край (Тпр.=12,6 %, $R^2=68,5$ %, $p<0,001$). Для 4 из 15 субъектов РФ со средним уровнем заболеваемости ИКБ выявлен значимый тренд на снижение заболеваемости: в СЗФО – Ленинградская область (Тсн.=5,9 %, $R^2=29,4$ %, $p=0,025$); в ПФО – Ульяновская область (Тсн.=4,5 %, $R^2=45,4$ %, $p=0,003$); в УФО – Челябинская область (Тсн.=8,4 %, $R^2=80,1$ %, $p<0,001$); в СФО – Иркутская область (Тсн.=2,7 %, $R^2=43,7$ %, $p=0,004$). В остальных субъектах со средним уровнем заболеваемости ИКБ не отмечено достоверной тенденции к изменению интенсивности эпидемического процесса: в ЦФО – Смоленская и Тверская области, в СЗФО – Архангельская область, в ПФО – Нижегородская область, в ДФО – Хабаровский край.

Среди 26 субъектов РФ с низким уровнем заболеваемости ИКБ только для 16 выявлен достоверный тренд к изменению интенсивности эпидемического процесса, в том числе, к усилению – у 11: в ЦФО – Брянская, Воронежская, Курская, Рязанская, Тамбовская, Тульская области; в СЗФО – Республика Коми; в ЮФО – Краснодарский край, Волгоградская область; в СКФО – Ставропольский край; в ПФО – Чувашская Республика. В пяти субъектах РФ с низким уровнем заболеваемости ИКБ отмечен значимый тренд к снижению интенсивности эпидемического процесса: в ПФО – Республика Татарстан, Оренбургская и Самарская области, Ханты-Мансийский автономный округ; в ДФО – Еврейская автономная область. Не выявлено выраженной тенденции к изменению интенсивности эпидемического процесса в 10 субъектах РФ с низким уровнем заболеваемости ИКБ: в ЦФО – Ивановская и Орловская области; в СЗФО – Мурманская область; в ПФО – республики Башкортостан и Мордовия; в УФО – Ямало-Ненецкий АО; в СФО – Республика Бурятия, Алтайский край, Омская область; в ДФО – Амурская область.

Таким образом, эпидемическая ситуация по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации продолжает оставаться напряженной. Установлено, что тенденции развития эпидемического процесса ИКБ в период 2002–2018 гг. на территориях разной степени эпидемической опасности имеют отличительные особенности. В половине из

26 субъектов РФ со среднемноголетним уровнем заболеваемости выше 6,5 ‰ выявлен достоверный тренд на снижение интенсивности эпидемического процесса. Исключение составляют Кемеровская область и Республика Тыва, в которых вероятен дальнейший рост заболеваемости ИКБ. В группе субъектов РФ со среднемноголетним уровнем заболеваемости ИКБ от 2,9 до 6,5 ‰ примерно с равной частотой отмечается как тенденция к росту, так и к снижению или отсутствие достоверного тренда изменения интенсивности эпидемического процесса. В группе субъектов со среднемноголетними показателями заболеваемости ИКБ менее 2,9 ‰ вероятность увеличения этого показателя в дальнейшем выше, чем в остальных регионах. Эффективный контроль эпидемической ситуации по ИКБ на территориях высокой и выше средней степени опасности возможен при условии совершенствования и сохранения, а для Республики Тыва и Кемеровской области – увеличения объемов профилактических мероприятий.

Особого внимания в плане усиления профилактических мероприятий и мониторинга активности и структуры природных очагов ИКБ требуют территории средней и низкой степени эпидемической опасности, для которых выявлен тренд к повышению заболеваемости.

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

Список литературы

1. Коренберг Э.И. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами в лесной зоне, и стратегия их профилактики: изменение приоритетов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2013; 5:7–17.
2. Платонов А.Е., Авксентьев Н.А., Авксентьева М.В., Деркач Е.В., Платонова О.В., Титков А.В., Колясникова Н.М. Социально-экономическое бремя пяти природно-очаговых инфекций в Российской Федерации. *Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология*. 2015; 8(1):47–56. DOI: 10.17749/2070-4909.2015.8.1.047-056.
3. Глобальные меры по борьбе с переносчиками инфекций на 2017–2030 гг. (версия 5.4). Справочно-информационный документ для обсуждения на 70-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения. ВОЗ; 2017. 61 с. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/malaria/areas/vector_control/Draft-WHO-GVCR-2017-2030_RU.pdf (дата обращения 04.03.2019).
4. Sykes R.A., Makiello P. An estimate of Lyme borreliosis incidence in Western Europe. *J. Public Health (Oxf)*. 2017; 39(1):74–81. DOI: 10.1093/pubmed/fdw017.
5. Kuehn B.M. CDC estimates 300,000 US cases of Lyme disease annually. *JAMA*. 2013; 310(11):1110. DOI: 10.1001/jama.2013.278331.
6. ECDC comment: European Commission updates communicable disease surveillance list – Lyme neuroborreliosis now under EU/EEA surveillance. [Электронный ресурс]. URL: https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/ecdc-comment-european-commission-updates-communicable-disease-surveillance-list-lyme#_ftn1 (дата обращения 04.03.2019).
7. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.bacterio.net/borreliella.html> (дата обращения 04.03.2019).
8. Adeolu M., Gupta R.S. A phylogenomic and molecular marker based proposal for the division of the genus *Borrelia* into two genera the emended genus *Borrelia* containing only the members of the relapsing fever *Borrelia*, and the genus *Borreliella* gen. nov. containing the members of the Lyme disease *Borrelia* (*Borrelia burgdorferi* sensu lato complex). *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2014; 105(6):1049–72. DOI: 10.1007/s10482-014-0164-x.
9. Stevenson B., Fingerle V., Wormser G.P., Margos G. Public health and patient safety concerns merit retention of Lyme borreliosis-associated spirochetes within the genus *Borrelia*, and rejection

of the genus novum *Borrelia*. *Ticks and Tick-borne Dis.* 2019; 10(1):1–4. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.08.010

10. Wang G. *Borrelia burgdorferi* and Other *Borrelia* Species. In: Yi-Wei Tang, Max Sussman, Dongyou Liu, Ian Poxton, Joseph Schwartzman, editors. *Molecular Medical Microbiology* (Second Edition). Boston: Academic Press; 2015. Vol. 3. P. 1867–909. DOI: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00104-9.

11. Wang G., Liveris D., Mukherjee P., Jungnick S., Margos G., Schwartz I. Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi*. *Curr. Protoc. Microbiol.* 2014; 34(1):12C.5.1–31. DOI: 10.1002/9780471729259.mc12c05s34.

12. Sprong H., Azagi T., Hoonstra D., Nijhof A.M., Knorr S., Baarsma M.E., Hovius J.W. Control of Lyme borreliosis and other Ixodes ricinus-borne diseases. *Parasit. Vectors.* 2018; 11(1):145. DOI: 10.1186/s13071-018-2744-5.

13. Korenberg E.I., Nefedova V.V., Gorelova N.B., Romanenko V.N. The tick *Ixodes pavlovskyi* as host of spirochetes pathogenic for humans and its possible role in the epizootology and epidemiology of borrelioses. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(5):453–8. DOI: 10.1089/vbz.2009.0033.

14. Рудаков Н.В., Рудакова С.А., Ефимова А.Р., Дроздова О.М., Любенко А.Ф., Петрова Ю.А., Якименко В.В., Дедков В.Г. Современные подходы к изучению клещевых трансмиссивных инфекций в Кузбассе на основе молекулярных методов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2017; 16(1):26–8. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-1-26-28.

15. Пеневская Н.А., Рудакова С.А., Рудаков Н.В., Коломенский А.П. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, в северных районах Омской области. *Пермский медицинский журнал.* 2009; 26(5):32–9.

16. Рудаков Н.В., Ястребов В.К., Рудакова С.А. Трансмиссивные клещевые инфекции в Российской Федерации. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии.* 2015; 27:6–9.

17. Платонов А.Е., Koetsveld J., Колясникова Н.М., Сарксян Д.С., Топоркова М.Г., Шипулин Г.А., Hovius J.W. Микробиологическое подтверждение этиологии иксодового клещевого боррелиоза в безретикулярной форме – инфекции, вызываемой *Borrelia miyamotoi*. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2017; 16(1):29–35. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-1-29-35.

18. Носков А.К., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Яценко Е.В., Веригина Е.В., Балахонov С.В. Современные особенности территориального распространения и интенсивности проявления иксодовых клещевых боррелиозов в Российской Федерации. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2016; 4:38–44.

19. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднев Е.А. Эпидемиологический анализ. Методы статистической обработки материала. Новосибирск: Наука-центр; 2011. 156 с.

References

1. Korenberg E.I. Infections transmitted by ticks in the forest area and the strategy of their prevention: change of priorities. *Epidemiologiya i Vaksino profilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2013; 72(5):7–17.

2. Platonov A.E., Avksent'ev N.A., Avksent'eva M.V., Derkach E.V., Platonova O.V., Titkov A.V., Kolyasnikova N.M. Social-economic burden of five natural-focal infections in the Russian Federation. *[Pharmacoeconomics. Modern pharmacoeconomics and pharmacoepidemiology]*. 2015; (1):47–56. DOI: 10.17749/2070-4909.2015.8.1.047-056.

3. Global vector control measures for 2017-2030 (version 5.4). Background paper for discussion at the 70th world health Assembly. WHO; 2017. 61 c. [Internet]. (Cited 04 Mar 2019). Available from: https://www.who.int/malaria/areas/vector_control/Draft-WHO-GVCR-2017-2030_RU.pdf.

4. Sykes R.A., Makiello P. An estimate of Lyme borreliosis incidence in Western Europe. *J. Public Health (Oxf)*. 2017; 39(1):74–81. DOI: 10.1093/pubmed/fdw017.

5. Kuehn B.M. CDC estimates 300,000 US cases of Lyme disease annually. *JAMA.* 2013; 310(11):1110. DOI: 10.1001/jama.2013.278331.

6. ECDC comment: European Commission updates communicable disease surveillance list – Lyme neuroborreliosis now under EU/EEA surveillance. [Internet]. (Cited 04 Mar 2019). Available from: https://www.ecdc.europa.eu/en/news-events/ecdc-comment-european-commission-updates-communicable-disease-surveillance-list-lyme#_ftn1.

7. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature. [Internet]. (Cited 04 Mar 2019). Available from: <http://www.bacterio.net/borrelia.html>.

8. Adeolu M., Gupta R.S. A phylogenomic and molecular marker based proposal for the division of the genus *Borrelia* into two

genera the emended genus *Borrelia* containing only the members of the relapsing fever *Borrelia*, and the genus *Borrelia* gen. nov. containing the members of the Lyme disease *Borrelia* (*Borrelia burgdorferi* sensu lato complex). *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2014; 105(6):1049–72. DOI: 10.1007/s10482-014-0164-x.

9. Stevenson B., Fingerle V., Wormser G.P., Margos G. Public health and patient safety concerns merit retention of Lyme borreliosis-associated spirochetes within the genus *Borrelia*, and rejection of the genus novum *Borrelia*. *Ticks and Tick-borne Dis.* 2019; 10(1):1–4. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.08.010

10. Wang G. *Borrelia burgdorferi* and Other *Borrelia* Species. In: Yi-Wei Tang, Max Sussman, Dongyou Liu, Ian Poxton, Joseph Schwartzman, editors. *Molecular Medical Microbiology* (Second Edition). Boston: Academic Press; 2015. Vol. 3. P. 1867–909. DOI: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00104-9.

11. Wang G., Liveris D., Mukherjee P., Jungnick S., Margos G., Schwartz I. Molecular Typing of *Borrelia burgdorferi*. *Curr. Protoc. Microbiol.* 2014; 34(1):12C.5.1–31. DOI: 10.1002/9780471729259.mc12c05s34.

12. Sprong H., Azagi T., Hoonstra D., Nijhof A.M., Knorr S., Baarsma M.E., Hovius J.W. Control of Lyme borreliosis and other Ixodes ricinus-borne diseases. *Parasit. Vectors.* 2018; 11(1):145. DOI: 10.1186/s13071-018-2744-5.

13. Korenberg E.I., Nefedova V.V., Gorelova N.B., Romanenko V.N. The tick *Ixodes pavlovskyi* as host of spirochetes pathogenic for humans and its possible role in the epizootology and epidemiology of borrelioses. *Vector-Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(5):453–8. DOI: 10.1089/vbz.2009.0033.

14. Rudakov N.V., Rudakova S.A., Efimova A.R., Drozdova O.M., Lyubenko A.F., Petrova Yu.A., Yakimenko V.V., Dedkov V.A. Modern approaches to the study of tick-borne infections in Kuznetsk Basin based on modular Methods. *Epidemiologiya i Vaksino profilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2017; 16(1):26–8. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-1-26-28.

15. Pen'evskaya N.A., Rudakova S.A., Rudakov N.V., Kolomensky A.P. Ixodidae tick-borne infections in the northern areas of the Omsk Region. *[Perm Medical Journal]*. 2009; 26(5):32–9.

16. Rudakov N.V., Yastrebov V. K., Rudakova S. A. Transmissible tick-borne infections in the Russian Federation. *[Far Eastern Journal of Infectious Pathology]*. 2015; 27:6–9.

17. Platonov A.E., Koetsveld J., Kolyasnikova N.M., Sarksyian D.S., Toporkova M.G., Shipulin G.A., Hovius J.W. Microbiological Evidence of Etiology of «Ixodes Tick-Borne Borreliosis without Erythema Migrans» - Infection Caused by *Borrelia miyamotoi*. *[Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2017; 16(1):29–35. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-1-29-35.

18. Noskov A. K., Nikitin A. Ya., Andae E. I., Paksina N. D., Yatsmenko E. V., Verigina E. V., Balakhonov S. V. Modern peculiarities of territorial spread and intensity of Ixodes tick-borne borreliosis in the Russian Federation. *[Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2016; 4:38–44.

19. Savilov E. D., Astaf'ev V. A., Zhdanova S. N., Zarudnev E. A. Epidemiological Analysis. Methods of statistical data processing. Novosibirsk: "Nauka-Tsent"; 2011. 156 p.

Authors:

Rudakova S.A. Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections, 7, Prospect Mira, Omsk, 644080, Russian Federation. E-mail: mail@oniipi.org.

Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Savel'ev D.A., Blokh A.I. Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections; 7, Prospect Mira, Omsk, 644080, Russian Federation; e-mail: mail@oniipi.org. Omsk State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Omsk, Russian Federation.

Paksina 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.

Об авторах:

Рудакова С.А. Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций. Российская Федерация, 644080, Омск, Проспект Мира, 7. E-mail: mail@oniipi.org.

Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В., Савельев Д.А., Блох А.И. Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций; Российская Федерация, 644080, Омск, Проспект Мира, 7; e-mail: mail@oniipi.org. Омский государственный медицинский университет. Российская Федерация, Омск.

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.

Поступила 26.03.19.

Принята к публ. 09.04.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-30-36

УДК 616.98:578.833.29

Т.А. Савицкая¹, В.А. Трифонов^{1,2}, Г.Ш. Исаева^{1,3}, И.Д. Решетникова^{1,4}, Н.Д. Пакскина⁶, И.В. Серова¹,
А.В. Иванова⁵, В.А. Сафронов⁵, Н.В. Попов⁵

ОБЗОР СОВРЕМЕННОЙ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОБСТАНОВКИ ПО ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В МИРЕ И ПРОГНОЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2019 г.

¹ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», Казань, Российская Федерация; ²Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Казань, Российская Федерация; ³ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация; ⁴Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация; ⁵ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ⁶Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Представлен анализ эпидемиологической обстановки по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в мире и на территории Российской Федерации за период 2009–2018 гг. В 2018 г. в Российской Федерации зарегистрировано 5855 случаев ГЛПС (3,99 на 100 тыс. населения). Отмечено снижение заболеваемости по сравнению с 2017 г. на 29,6 %. случаев групповой заболеваемости не зарегистрировано. Установлено, что наиболее высокий уровень заболеваемости, превышающий среднероссийский в 3,9 раза, отмечен в Приволжском федеральном округе, в котором зарегистрировано 77,5 % от всех случаев заболевания в 2018 г. в Российской Федерации. Выполнена дифференциация территории Российской Федерации по уровню заболеваемости ГЛПС. К территориям с высоким уровнем заболеваемости отнесены субъекты Российской Федерации с диапазоном интенсивного показателя от 9,08 до 41,39 на 100 тыс. населения, в том числе территории республик Башкортостан, Марий Эл, Татарстан и Мордовия, Удмуртской и Чувашской республик, Кировской, Нижегородской, Пензенской, Самарской, Ульяновской, Костромской, Ярославской областей и Еврейской автономной области. Обоснован прогноз на сохранение в 2019 г. напряженной эпидемиологической обстановки по ГЛПС в Приволжском федеральном округе.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, заболеваемость, эпидемиологический анализ, эпидемиологическая обстановка, прогноз.

Корреспондирующий автор: Савицкая Татьяна Александровна, e-mail: tatasav777@mail.ru.

Для цитирования: Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Пакскина Н.Д., Серова И.В., Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В. Обзор современной эпидемиологической обстановки по заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в мире и прогноз заболеваемости на территории Российской Федерации в 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:30–36. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-30-36

T.A. Savitskaya¹, V.A. Trifonov^{1,2}, G.Sh. Isaeva^{1,3}, I.D. Reshetnikova^{1,4}, N.D. Pakskina⁶, I.V. Serova¹,
A.V. Ivanova⁵, V.A. Safronov⁵, N.V. Popov⁵

Review of the Current Epidemiological Situation on the Incidence of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the World and Forecast of the Incidence for the Territory of the Russian Federation in 2019

¹Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation; ²Kazan State Medical Academy, Kazan, Russian Federation; ³Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation; ⁴Kazan (Privolzhsky) Federal University, Kazan, Russian Federation; ⁵Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation; ⁶Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation

Abstract. The paper presents analysis of epidemiological situation on hemorrhagic fever with renal syndrome around the world and in the Russian Federation over the period of 2009–2018. 5855 cases of hemorrhagic fever with renal syndrome were registered in Russia in 2018 (3.99 per one hundred thousand of the population). Downward trend is observed as compared to 2017 (by 29.6 %). Cases of cluster infection were not reported. It is established that the highest level of morbidity, exceeding the average level across Russia 3.9 times, was noted in the Volga Federal District, where 77.5% of the total cases occurred. The territory of the Russian Federation was differentiated by the HFRS incidence rates. The areas with high levels of morbidity included the entities of the Russian Federation with intensive index range between 9.08 and 41.39 per one hundred thousand of the population, among them Republics of Bashkortostan, Mari El, Tatarstan, and Mordovia, Udmurt and Chuvashi Republics, Kirov, Nizhny Novgorod, Penza, Samara, Ulyanovsk, Kostroma, Yaroslavl, and Jewish Autonomous Regions. The forecast for preservation of tense epidemiological situation on HFRS incidence in the territory of the Volga Federal District was substantiated.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome, morbidity, epidemiological analysis, epidemiological situation, prognosis.

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

Corresponding author: Tatyana A. Savitskaya, e-mail: tatasav777@mail.ru.

Citation: Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Pakskina N.D., Serova I.V., Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V. Review of the Current Epidemiological Situation on the Incidence of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the World and Forecast of the Incidence for the Territory of the Russian Federation in 2019. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:30–36. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-30-36

Received 11.03.19. Revised 22.03.19. Accepted 31.05.19.

В настоящее время хантавирусные инфекционные болезни являются весьма актуальной проблемой санитарно-эпидемиологического благополучия населения во всем мире, грозящей серьезными осложнениями эпидемиологической ситуации [1, 2, 3, 4]. Данные обстоятельства во многом обусловлены изменчивостью генома хантавирусов, появлением новых типов и генетических вариантов с высокой вирулентностью в разных регионах [5, 6, 7].

В Европейском регионе регистрация заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС) ведется с 1963 г. Случаи заболевания ГЛПС регистрируются ежегодно, в основном в странах Северной и Центральной Европы, на Балканском полуострове и в Скандинавии. На сегодняшний день в Европе циркулируют четыре основных патогенных для человека хантавируса: *Puumala* (основной серотип вируса, 96 %) – в странах Северной и Западной Европы; *Dobrava-Belgrade* – в странах Юго-Восточной Европы; *Hantaan* – в Восточной и Северной Европе; *Seul* – распространен повсеместно. За последнее десятилетие, с 2009 по 2018 год, зарегистрировано 29472 случая заболевания ГЛПС в 29 странах. В среднем в год регистрировалось 29 тыс. случаев заболевания. Основная доля заболевших зарегистрирована в Финляндии (75,9 %) и Германии (12,9 %). Заболеваемость ГЛПС регистрируют в течение всего года; доля заболевших мужчин преобладает над долей заболевших женщин. Случаи заражения ГЛПС фиксируются в возрастных категориях от 1 до 80 лет. Большинство случаев заражения ГЛПС отмечают в возрасте 20–50 лет [8–10].

В Западно-Тихоокеанском регионе болезнь широко распространена в Китае. Эндемична вся территория страны, за исключением о. Тайвань. Каждый год на долю Китая приходится 90 % от всей заболеваемости ГЛПС в мире. В период 1980–1990 гг. в Китае ежегодно регистрировалось до 100 тыс. случаев ГЛПС [11, 12]. В последние десятилетия, благодаря масштабной программе вакцинации населения, уровень заболеваемости резко снизился. С 2000 г. ежегодное число случаев заболевания ГЛПС сократилось более чем в 3 раза – с 37814 в 2000 г. до 11248 в 2007 г. С 2009 по 2018 год ежегодное число случаев заболевания колебалось от 9 до 25 тыс. На территории страны распространены лесные очаги ГЛПС с циркуляцией вируса *Hantaan*, основным резервуаром в которых является восточно-азиатская мышь, и городские очаги ГЛПС с циркуляцией вируса *Seul*, с основным резервуаром – серая крыса. В регионе случаи заболевания ГЛПС также регистрируются в Республике Корея [13].

Регистрация хантавирусной инфекции в Американском регионе ведется с 1993 г. В настоящее время в регионе основной клинической формой хантавирусной инфекции является хантавирусный пульмональный синдром (ХПС), отличающийся в основном поражением легочной ткани и более тяжелым течением заболевания. В регионе циркулирует примерно

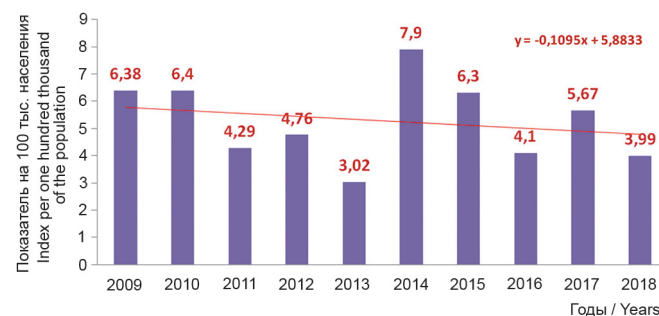
13 серотипов вируса (*New York, Black Creek Canal, Andes, Laguna Negra* и другие) [14, 15]. Основные переносчики – грызуны подсемейства *Sigmodontinae*. Всего за период с 1993 по 2018 год в США зарегистрировано 752 случая заболевания ХПС, из них 248 случаев – с летальным исходом (показатель летальности 36 %). За последнее десятилетие (2009–2018 г.) зарегистрировано 245 случаев заболевания в 36 штатах страны.

В России регистрируются все патогенные для человека серотипы хантавирусов: *Puumala, Seoul, Amur, Hantaan u Dobrava*, а также широко распространены очаги непатогенных для человека хантавирусов: *Tula* – на территории европейской части России, серотип *Topografa* – на северном Таймыре, хантавирус *Khabarovsk* – в природных очагах Дальнего Востока [16–20].

Пространственное распределение очагов и характер циркуляции возбудителя в природных очагах каждого хантавируса обусловлены распространением, биотопической приуроченностью и экологическими особенностями их резервуарного хозяина [21]. Границы природных очагов ГЛПС расширяются, постепенно вовлекая в этот процесс территории, ранее считавшиеся свободными от ГЛПС. В настоящее время обнаружены новые очаги хантавирусной инфекции в Республике Алтай, Новосибирской, Иркутской и Кемеровской областях. В средней и обыкновенных бурозубках (насекомоядные) выявлены два новых серотипа хантавируса – Алтай и Артыбаш [22].

В последнее десятилетие на долю ГЛПС приходится около 90 % заболеваемости природно-очаговыми вирусными инфекционными болезнями в Российской Федерации. По данным Управлений Роспотребнадзора по заболеваемости населения ГЛПС за 2018 г., за период 2009–2018 гг. на территории Российской Федерации зарегистрировано 65805 случаев заболевания ГЛПС. Динамика заболеваемости характеризовалась циклическими подъемами. Линейный тренд показывал тенденцию к снижению (рисунок).

В 2018 г. в Российской Федерации зарегистрировано 5855 случаев ГЛПС (3,99 на 100 тыс. населения). Отмечается снижение заболеваемости по сравнению



Многолетняя динамика заболеваемости ГЛПС в Российской Федерации (2009–2018 гг.). Красная линия – тренд ($y = -0,1095x + 5,8833$)

Long-term dynamics of HFRS incidence in the Russian Federation (2009–2018). Red line is the trend ($y = -0,1095x + 5,8833$)

с прошлым годом на 29,6 %. Случаи групповой заболеваемости не зарегистрированы. Среди заболевших детей в возрасте до 17 лет включительно отмечено 190 случаев (3,2 % от общего числа больных).

Характер распределения заболеваемости ГЛПС по территории Российской Федерации был неоднороден. Наибольший показатель заболеваемости ГЛПС, как и в предыдущие годы, зарегистрирован в Приволжском федеральном округе (ПФО) – 15,3 на 100 тыс. населения, превышающий показатели заболеваемости по Российской Федерации в 3,9 раза. В результате обработки методом квантильного ранжирования показателей заболеваемости ГЛПС по субъектам Российской Федерации в 2018 г. выделено четыре группы территорий, где заболеваемость не зарегистрирована (1), уровень заболеваемости низкий (2), средний (3), высокий (4).

К территориям с высоким уровнем заболеваемости отнесены субъекты Российской Федерации с диапазоном интенсивного показателя от 9,08 до 41,39 на 100 тыс. населения, в том числе территории республик Башкортостан, Марий Эл, Татарстан и Мордовия, Удмуртская и Чувашская республики, Кировская, Нижегородская, Саратовская, Пензенская, Самарская, Ульяновская, Костромская и Ярославская области, а также Еврейская автономная область. Доля случаев на данных территориях составила 75,02 % от всех зарегистрированных случаев заболевания ГЛПС в Российской Федерации. Общая площадь этих территорий составляет 785538 км², т.е. 4,6 % от общей площади.

К территориям со средним уровнем заболеваемости отнесены субъекты, в которых показатель заболеваемости варьировал в диапазоне от 1,55 до 9,07 на 100 тыс. населения. Большая их часть расположена в Центральном федеральном округе (ЦФО) – Брянская, Ивановская, Калужская, Рязанская, Смоленская, Тамбовская, Тверская, Тульская, Курская области. В Москве показатель заболеваемости составил 2,02 на 100 тыс. населения, однако заболевания ГЛПС носили в основном завозной характер. К территориям со средним уровнем заболеваемости ГЛПС также отнесены субъекты Дальневосточного федерального округа (Приморский и Хабаровский края); Приволжского федерального округа (Пермский край и Оренбургская область) и Северо-Западного (республики Карелия и Коми, Вологодская, Новгородская, Псковская области).

К третьему типу территорий с низким уровнем заболеваемости относятся субъекты Российской Федерации, где интенсивный показатель заболеваемости ГЛПС составлял от 0,15 до 1,50 на 100 тыс. населения, в основном входящих в состав Центрального, Уральского и Дальневосточного ФО. Выделены также субъекты Российской Федерации, на которых заболеваемость ГЛПС в 2018 г. не зарегистрирована.

Распределение заболеваемости ГЛПС по федеральным округам Российской Федерации в 2018 г.

(по данным Управлений Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации за 2018 г.).

Приволжский федеральный округ. Среди всех случаев заражения ГЛПС, зарегистрированных в Российской Федерации в 2018 г., на долю ПФО приходилось 77,5 %. В 2018 г. зарегистрирован 4541 случай заражения ГЛПС (15,31 на 100 тыс. населения). По сравнению с 2017 г. произошло снижение уровня заболеваемости населения на 36,4 %. Наиболее значительный спад заболеваемости имел место в Удмуртской Республике (в 3,5 раза), в республиках Башкортостан (21 %) и Марий Эл (15 %). Выявленная тенденция снижения показателей заболеваемости ГЛПС отмечена в Республике Мордовия, Пермском крае, Кировской, Нижегородской и Оренбургской областях. Рост заболеваемости ГЛПС, по сравнению с 2017 г., имел место в Чувашской Республике (28,2 %), Самарской (15,2), Саратовской (14,1), Пензенской (8,7) областях и Республике Татарстан (7,6). В целом в 2018 г. наиболее напряженная эпидемиологическая ситуация сложилась на территории Республик Удмуртия, Башкортостан и Татарстан, в которых в 2018 г. общая доля от всей заболеваемости ГЛПС в ПФО составляла 49,6 %. Все случаи заражения ГЛПС на территории ПФО ассоциированы с серотипом вируса *Puumala*.

В 2018 г. в ПФО преобладали бытовой (40,9 %) и лесной (34,9) типы заражения. Кроме того, зарегистрированы шесть случаев, связанных с пребыванием в загородных оздоровительных учреждениях (Саратовская область – 5 случаев, Республика Чувашия – 1). Случаи, связанные с сельскохозяйственной деятельностью, составили 5,1 %, производственной – 2,1.

Среди заболевших ГЛПС преобладали неработающие граждане – 21,7 %, служащие – 13,2 и пенсионеры – 12,4; количество детей дошкольных учреждений, школьников, студентов ССУЗов и ВУЗов, работников леспромпхозов и сельского хозяйства суммарно составило 18,4 %, прочие категории граждан – 34,3 %. Наибольшее количество заболевших относилось к возрастным группам 30–59 лет (63,8 %), 18–29 лет (18,4 %), 60 лет и старше (14,5 %). Подъемы заболеваемости ГЛПС имели место в январе и апреле 2018 г., а пик заболеваемости зафиксирован в ноябре (14,6 % от всей заболеваемости в ПФО за год). Преобладали заболевания средней степени тяжести – 87,8 %, тяжелые формы составили 7,5 %, а легкие формы – 4,7.

Центральный федеральный округ. В 2018 г. в ЦФО зарегистрирован 951 случай заболевания ГЛПС (2,43 на 100 тыс. населения). По сравнению с 2017 г. отмечен рост заболеваемости на 22,4 %. Случаи заражения ГЛПС отмечены во всех 18 субъектах федерального округа. Наибольшее количество больных зарегистрировано в Москве (249 случаев заболевания). В Костромской области зарегистрировано 100 случаев заболевания (15,39 на 100 тыс. населения), что в 2,2 раза превышает показатели 2017 г. Высокий

уровень заболеваемости отмечался в Ярославской (9,67 на 100 тыс. населения), Тульской (6,99 ‰), Рязанской (6,65 ‰), Калужской (4,75 ‰), и Ивановской (4,58 ‰) областях. Кроме того, рост заболеваемости отмечен в Белгородской, Смоленской, Тамбовской, Тверской и Тульской областях. В природных очагах ГЛПС Центрального федерального округа на большинстве территорий циркулирует хантавирус серотипа *Puumala*, в 4 % случаев заболевание ассоциировано с хантавирусом серотипа *Dobrava*.

В 2018 г. в ЦФО преобладали садово-дачный (48,9 %), бытовой (26,3), лесной (9,9), сельскохозяйственный (8,6) и производственный (6,3) типы заражения. Наибольшее число случаев заражения ГЛПС отмечено среди неработающих граждан (25,2 %), пенсионеров (18,2), служащих (16,3), среди остальных социальных групп населения (школьники, студенты ССУЗов и ВУЗов, изыскатели, геологи, работники сельского хозяйства) общее число случаев заражения составило 40,3 % от общего числа случаев в ЦФО. Наибольшее количество заболевших зарегистрировано в возрастных группах 30–59 лет (65,8 %) и 18–29 лет (13,8 %).

С июня по декабрь 2018 г. в ЦФО наблюдали рост заболеваемости ГЛПС с пиковым значением в ноябре, когда зарегистрирован почти 21 % от общего числа случаев. Преобладали заболевания средней степени тяжести – 88,4 %, тяжелые формы составили 6,2 %, а легкие формы – 5,4 %.

Северо-Западный федеральный округ (СЗФО). На территории СЗФО в 2018 г. зарегистрировано 203 случая заболевания ГЛПС (1,46 на 100 тыс. населения). В целом по округу отмечен рост заболеваемости на 8,3 % за счет Новгородской (3,75 ‰), Вологодской (4,64 ‰) и Псковской (2,64 ‰) областей. В Республике Коми показатели заболеваемости снизились в 2,1 раза по сравнению с 2017 г.

В Ненецком автономном округе и Архангельской области случаев заболевания ГЛПС не зарегистрировано. Все случаи заражения ГЛПС на территории округа ассоциированы с серотипом вируса *Puumala*.

В 2018 г. в СЗФО преобладали садово-дачный (34,4 %) и бытовой (33,3 %) типы заражения. Повышение уровня заболеваемости ГЛПС в СЗФО наблюдалось с апреля по декабрь, в октябре количество заболевших составило 15,5 % от общей заболеваемости за год, а в декабре – 15,9 %.

Среди заболевших ГЛПС преобладало число неработающих граждан (29,8 %), служащих (12,4 %), пенсионеров (10,4 %), общая доля случаев в других социальных группах населения (школьники, студенты ССУЗов и ВУЗов, работники сельского хозяйства, изыскатели) составляла 47,4 %. Наибольшее количество заболевших относилось к возрастным группам 30–59 лет (66,1 %) и 18–29 лет (15,9 %). Преобладали заболевания средней степени тяжести – 85,6 %, тяжелые формы составили 5,9 %, а легкие формы – 8,5 %.

Уральский федеральный округ (УФО). В Уральском федеральном округе в 2018 г. зарегистрировано 46 случаев ГЛПС (0,37 на 100 тыс. населения). По сравнению с 2017 г. произошло снижение показателя заболеваемости в 3 раза. Наибольшее число заболевших зарегистрировано в Челябинской области (18 случаев), Ханты-Мансийском АО (9) и в Свердловской области (7). В Курганской области случаев заражения ГЛПС не зарегистрировано. Все случаи заражения ГЛПС в УФО ассоциированы с серотипом вируса *Puumala*.

В 2018 г. в УФО преобладали бытовой (40,0 %), лесной (31,1), садово-дачный (22,2) типы заражения, сельскохозяйственный отмечен только на территории Тюменской области (2 случая, 6,7 %).

Среди заболевших ГЛПС в УФО преобладали неработающие граждане и пенсионеры (30,4 %), служащие (8,7), изыскатели и геологи (13), работники транспорта (10,8), общая доля случаев заражения ГЛПС среди других социальных групп населения (школьники, студенты ССУЗов и ВУЗов, изыскатели, сезонные рабочие, работники сельского хозяйства) составляла 37,1 %. Наибольшее количество заболевших зарегистрировано в возрастных группах 30–59 лет (65,2 %) и 18–29 лет (23,9 %).

В течение года заболеваемость ГЛПС в УФО имела несколько подъемов, в том числе: в феврале – 8,7 %, в августе – 13,1 %, октябре – 16,6 % от всех случаев заражений на территории УФО. Преобладали заболевания средней степени тяжести – 78,3 %, тяжелые формы составили 13,0 %, а легкие формы – 8,7 %.

Дальневосточный федеральный округ (ДФО). В 2018 г. в Дальневосточном федеральном округе зарегистрировано 96 случаев ГЛПС (1,55 на 100 тыс. населения). По сравнению с 2017 г. уровень заболеваемости возрос на 31,8 %. Случаи заражения ГЛПС зарегистрированы в Приморском (42) и Хабаровском (31) краях, в Еврейской АО (15), в Амурской (7) и Сахалинской (1) областях. Заражения обусловлены хантавирусами серотипов: *Seoul*, *Hantaan* и *Amur*.

В 2018 г. в ДФО преобладали лесной тип заражения – 38,5 %, бытовой – 22,9 %, садово-дачный – 21,9 %, сельскохозяйственный – 10,4 %, производственный – 6,3 %. Случаи, связанные с сельскохозяйственной деятельностью, отмечены в Амурской области (3), Еврейской АО (3), Приморском крае (3), Сахалинской области (1); с производственной деятельностью – в Приморском и Хабаровском краях.

Среди заболевших ГЛПС в ДФО преобладали неработающие граждане – 34,3 %, служащие – 10,4 %, пенсионеры и инвалиды – 7,3 %, общая доля случаев заражения среди других социальных групп населения (школьники, студенты ССУЗов и ВУЗов, работники сельского хозяйства, леспромхозов, сезонные рабочие) составляла 48 %. Наибольшее количество заболевших относилось к возрастным группам 30–59 лет (58,3 %), 18–29 лет (23,9 %), 60 лет и старше (13,5 %).

Доминирование основных носителей хантавирусов среди популяции мелких млекопитающих (%) и инфицированность их хантавирусами (%) по федеральным округам за 2018 г.

Domineering of the main carriers of Hantaviruses among the populations of small mammals (%) and the rate of infection with Hantaviruses (%) by Federal Districts over the year 2018

Вид основных носителей хантавирусов / Species of the main carriers of Hantaviruses	СЗФО / North-Western Federal District (FD)	ЦФО / Central FD	ПФО / Volga FD	УФО / Ural FD	СФО / Siberian FD	ДВФО / Far East FD	ЮФО / Southern FD	СКФО / North-Caucasian FD
<i>Myodes glareolus</i>	44,1/8,2	34/5,8	47,6/9,8	35,4/36,5	-	-	0,3/0	-
<i>Apodemus agrarius agrarius</i>	12,2/2,8	21/2,9	8/9,0	13,5/0	10,5/2,2	-	5,6/22,7	7/0
<i>Apodemus agrarius mantchuricus</i>	-	-	-	-	-	33,4/6,5	-	-
<i>Apodemus peninsulae</i>	-	-	-	-	-	11/14,0	-	-
<i>Apodemus ponticus</i>	-	-	-	-	-	-	32/1,5	46/0
<i>Rattus norvegicus</i>	0,2/0	-	-	-	3,4/0	1,7/0	-	-

В ДФО наибольшее количество случаев заражения отмечено в зимние месяцы: в декабре – 19,7 %, в январе – 12,5 % от общего числа заболевших ГЛПС в 2018 г.

Преобладали заболевания средней степени тяжести – 77,1 %, тяжелые формы составили 21,9 %, а легкие формы – 1,0 %.

Южный федеральный округ (ЮФО). В 2018 г. в ЮФО зарегистрировано 18 случаев ГЛПС (0,11 на 100 тыс. населения). По сравнению с 2017 г., отмечен рост заболеваемости на 35 %. Случаи заражения ГЛПС имели место в Краснодарском крае (9), Волгоградской (7), Ростовской (1) областях, а также в Республике Адыгея (1). В 2018 г. в ЮФО преобладали случаи заражения, обусловленные хантавирусом *Dobrava*, гораздо реже – *Puumala*.

В 2018 г. в ЮФО, за исключением Краснодарского края, преобладал бытовой тип заражения ГЛПС (38,9 %). На территории Краснодарского края случаи заражения были обусловлены садово-дачным (66,7 %) и лесным (33,3 %) типами заражения. Среди заболевших ГЛПС основное количество составили неработающие граждане (33,3 %) и служащие (16,7 %). Наибольшее число заболевших зафиксировано в возрастной группе 30–59 лет (66,7 %).

В течение года заболеваемость имела несколько подъемов: в феврале – 11,1 %, в июне – 16,6 % и октябре–ноябре – по 16,6 % от всех случаев заражений, зарегистрированных в ЮФО в 2018 г. Преобладали заболевания средней степени тяжести – 77,8 %, тяжелые формы составили 16,7 %, а легкие формы – 5,5 %.

Северо-Кавказский федеральный округ (СКФО) и Сибирский федеральный округ (СФО). В 2018 г. случаев заболевания ГЛПС не зарегистрировано.

Эпизоотологическая ситуация по ГЛПС в Российской Федерации. Исследования мелких млекопитающих на зараженность вирусом геморрагической лихорадки с почечным синдромом в 2018 г. проводились Центрами гигиены и эпидемиологии в субъектах всех федеральных округов Российской Федерации. Хантавирусоносители обнаружены на территории всех федеральных округов, что указывает на сохраняющийся риск заражения населения возбудителем ГЛПС (таблица). Среди зараженных

мелких млекопитающих наибольшая доля инфицированных особей приходится на рыжую полевку (в УФО – 36,5 %, в ПФО – 9,8 %, в СЗФО – 8,2 %, в ЦФО – 5,8 %). В ДФО инфицированность восточно-азиатской мыши составила 14,0 %, а восточного подвида полевой мыши – 6,5 %; в ЮФО – западный подвида полевой мыши был инфицирован на 22,7 %.

Выводы. На основании анализа эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по ГЛПС в Российской Федерации в 2018 г., можно прогнозировать сохранение высокого уровня заболеваемости ГЛПС практически на всей территории Приволжского федерального округа в 2019 г. Высокий индекс доминирования и численности рыжей полевки в осенний период 2018 г. зарегистрирован на территориях республик Удмуртия, Башкортостан, Татарстан, в Саратовской области, в частности на территории «зеленой» зоны г. Саратова, что при благоприятных для популяций рыжей полевки условиях многоснежной зимы, может значительно обострить эпизоотологическую и эпидемиологическую ситуацию по ГЛПС в весенне-летний период 2019 года. В Центральном федеральном округе высокий риск заражения сохранится в Ярославской и Костромской областях. На большей территории ЦФО, ДФО (Приморский и Хабаровский край), УФО, ПФО (Пермский край и Оренбургская область) и СЗФО (республики Карелия и Коми, Вологодская, Новгородская, Псковская области) прогнозируется умеренный риск заболеваемости ГЛПС, не превышающий среднепогодные значения. На территориях Южного, Северо-Кавказского и Сибирского федеральных округов прогнозируется относительно благополучная ситуация по заболеваемости ГЛПС, возможны спорадические случаи заболевания. Для снижения рисков заражения ГЛПС на территории Российской Федерации необходимо значительно повысить контроль за состоянием численности основных резервуаров хантавирусов на территории Российской Федерации. Определить территории, контингенты и факторы высокого риска заражения, обеспечить заблаговременное проведение профилактических мероприятий на участках прогностического обострения эпизоотической и эпидемиологической обстановки.

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

Список литературы

1. Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К., Бернштейн А.Д., Коротина Н.А., Окулова Н.М., Мутных Е.С., Иванов А.П., Ишмухаметов А.А., Юничева Ю.В., Пиликова О.М., Морозов В.Г., Транквилевский Д.В., Городин В.Н., Бахтина В.А., Соцкова С.Е. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (история, проблемы и перспективы изучения). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(3):23–34. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-23-34.
2. Онищенко Г.Г., Ежлова Е.Б. Эпидемиологический надзор и профилактика геморрагической лихорадки с почечным синдромом в РФ. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2013; 4:23–32.
3. Vapalahti O., Mustonen J., Lundkvist A., Henttonen H., Pluyssin A., Vaheri A. Hantavirus infection in Europe. *Lancet Infect. Dis.* 2003; 3(10):653–61. DOI: 10.1016/S1473-3099(03)00774-6.
4. Krüger D.H., Schönrich G., Klempa B. Human pathogenic hantaviruses and prevention of infection. *Hum. Vaccin.* 2011; 7(6):685–93. DOI: 10.4161/hv.7.6.15197.
5. 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.
6. Rasmuson J., Andersson C., Norrman E., Haney M., Evander M., Ahlm C. Time to revise the paradigm of hantavirus syndromes? Hantavirus pulmonary syndrome caused by European hantavirus. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 30(5):685–90. DOI: 10.1007/s10096-010-1141-6.
7. Olsson G.E., Leirs H., Henttonen H. Hantaviruses and their hosts in Europe: reservoirs here and there, but not everywhere? *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(6):549–61. DOI: 10.1089/vbz.2009.0138.
8. Reusken C., Neyman P. Factor driving hantavirus emergence in Europe. *Curr. Opin. Virol.* 2013; 3(1):92–9. DOI: 10.1016/j.coviro.2013.01.002.
9. Технический отчет Европейского бюро CDC. Хантавирусная инфекция в Европе. [Электронный ресурс]. URL: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/hantavirus-prevention.pdf> (дата обращения 10.02.2019).
10. Сводный доклад Европейского Союза о заболеваниях общих для человека и животных в 2017 году. [Электронный ресурс]. URL: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-in-zoonotic-and-indicator-bacteria-summary-report-2012.pdf> (дата обращения 15.02.2019).
11. Bi P., Tong S., Donald K., Parton K., Ni J. Climatic, reservoir and the transmission of haemorrhagic fever with renal syndrome in China. *Int. J. Epidemiol.* 2002; 31(1):189–93. DOI: 10.1093/ije/31.1.189.
12. Zhang Y.Z., Zou Y., Fu Z.F., Plyusnin A. Hantavirus infections in humans and animals, China. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(8):1195–203. DOI: 10.3201/eid1608.090470.
13. Lee H.W. Korean hemorrhagic fever. *Prog. Med. Virol.* 1982; 28:96–113. PMID: 6124025.
14. Отчет о заболеваемости хантавирусной инфекцией в Америке. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/hantavirus/> (дата обращения 01.02.2019 г.).
15. MacNeil A., Ksiazek T.G., Rollin P.E. Hantavirus pulmonary syndrome, United States, 1993–2009. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(7):1195–201. DOI: 10.3201/eid1707.101306.
16. Бернштейн А.Д., Апкина Н.С., Ткаченко Е.А. Особенности взаимоотношений хантавирусов с резервуарными хозяевами и характер проявления европейских хантавирусных очагов. *Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова РАМН. Медицинская вирусология*. 2009; 26:153–5.
17. Слонова Р.А., Кушнарева Т.В., Иунихина О.В., Максема И.Г., Компанец Г.Г., Кушнарев Е.Л., Борзов В.П. Эпидемиологическая и эпизоотологическая характеристика очагов с групповой заболеваемостью геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Приморском крае. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2013; 3:10–3.
18. Иванова А.В., Попов Н.В., Куклев Е.В., Адамов А.К., Щербакова С.А. Обзор эпидемиологической обстановки по геморрагической лихорадке с почечным синдромом (ГЛПС) на территории Российской Федерации за 1990–2015 гг. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2017; 2:16–21.
19. Kariwa H., Yoshikawa K., Tanikawa Y., Seto T., Sanada T., Saasa N., Ivanov L.I., Slonova R., Zakharycheva T.A., Nakamura I., Yoshimatsu K., Arikawa J., Yoshii K., Takashima I. Isolation and characterization of hantaviruses in Far East Russia and etiology of hemorrhagic fever with renal syndrome in the region. *Am. J. Trop.*

- Med. Hyg.* 2012; 86(3):545–53. DOI: 10.4269/ajtmh.2012.11-0297.
20. Klempa B., Tkachenko E.A., Dzagurova T.K. Hemorrhagic fever with renal syndrome caused by 2 lineages of Dobrava hantavirus, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(4):617–25. DOI: 10.3201/eid1404.071310.
21. Дзагурова Т.К., Смирнов А.А., Ткаченко Е.А. Этиологические аспекты геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Биопрепараты*. 2007; 3:7–11.
22. Абрамов С.А., Яшина Л.Н., Дупал Т.А., Здановская Н.И., Протопопова Е.В., Поздняков А.А., Кривопапов А.В., Петровский Д.В. Новые данные о распространении хантавирусов в популяциях грызунов на территории Сибири. *Сибирский экологический журнал*. 2011; 18(4):547–53.

References

1. E.A.Tkachenko, T.K.Dzagurova, A.D. Bernshtein, N.A.Korotina, N.M.Okulova, E.S.Mutnikh, A.P. Ivanov, A.A.Ishmukhametov, Yu.V.Yunicheva, O.M.Pilikova, V.G.Morozov, D.V.Trankvilevskiy, S.E.Sotskova Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (History, Problems and Research perspectives). *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2016; 15(3):23–34. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-23-34.
2. Onishchenko G.G., Ezhlova E.B. [Epidemiological surveillance and prophylaxis of hemorrhagic fever with renal syndrome in RF]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology]*. 2013; 4:23–32.
3. Vapalahti O., Mustonen J., Lundkvist A., Henttonen H., Pluyssin A., Vaheri A. Hantavirus infection in Europe. *Lancet Infect. Dis.* 2003; 3(10):653–61. DOI: 10.1016/S1473-3099(03)00774-6.
4. Krüger D.H., Schönrich G., Klempa B. Human pathogenic hantaviruses and prevention of infection. *Hum. Vaccin.* 2011; 7(6):685–93. DOI: 10.4161/hv.7.6.15197.
5. 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.
6. Rasmuson J., Andersson C., Norrman E., Haney M., Evander M., Ahlm C. Time to revise the paradigm of hantavirus syndromes? Hantavirus pulmonary syndrome caused by European hantavirus. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2011; 30(5):685–90. DOI: 10.1007/s10096-010-1141-6.
7. Olsson G.E., Leirs H., Henttonen H. Hantaviruses and their hosts in Europe: reservoirs here and there, but not everywhere? *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(6):549–61. DOI: 10.1089/vbz.2009.0138.
8. Reusken C., Neyman P. Factor driving hantavirus emergence in Europe. *Curr. Opin. Virol.* 2013; 3(1):92–9. DOI: 10.1016/j.coviro.2013.01.002.
9. Technical Report of European CDC. Hantavirus infection in Europe. [Internet]. (Cited 10 Feb 2019). Available from: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/hantavirus-prevention.pdf>.
10. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. [Internet]. (Cited 15 Feb 2019). Available from: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-in-zoonotic-and-indicator-bacteria-summary-report-2012.pdf>.
11. Bi P., Tong S., Donald K., Parton K., Ni J. Climatic, reservoir and the transmission of haemorrhagic fever with renal syndrome in China. *Int. J. Epidemiol.* 2002; 31(1):189–93. DOI: 10.1093/ije/31.1.189.
12. Zhang Y.Z., Zou Y., Fu Z.F., Plyusnin A. Hantavirus infections in humans and animals, China. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(8):1195–203. DOI: 10.3201/eid1608.090470.
13. Lee H.W. Korean hemorrhagic fever. *Prog. Med. Virol.* 1982; 28:96–113. PMID: 6124025.
14. Reported Cases of Hantavirus Disease. Hantavirus Infection in the United States [Internet]. (Cited 01 Feb 2019). Available from: <https://www.cdc.gov/hantavirus/>.
15. MacNeil A., Ksiazek T.G., Rollin P.E. Hantavirus pulmonary syndrome, United States, 1993–2009. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(7):1195–201. DOI: 10.3201/eid1707.101306.
16. Bernshtein A.D., Apekina N.S., Tkachenko E.A. [Peculiarities of interactions between Hantaviruses and host-reservoirs and the character of manifestations of European Hantavirus foci]. *[Works of M.P. Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis, RAMS. Medical Virology]*. 2009; 26:153–5.
17. Slonova R.A., Kushnareva T.V., Iunikhina O.V., Maksema I.G., Kompanets G.G., Kushnarev E.L., Borzov V.P. [Epidemiological and epizootiological characterization of foci with group morbidity of fever with renal syndrome in Primorsky Krai]. *Epidemiology and Infectious Diseases. Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni*. 2013; 3:10–3.
18. Ivanova A.V., Popov N.V., Kouklev E.V., Adamov A.K.,

Shcherbakova S.A. [Review of epidemiological situation on hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in the territory of the Russian Federation in 1990-2015]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology]*. 2017; 2:16–21.

19. Kariwa H., Yoshikawa K., Tanikawa Y., Seto T., Sanada T., Saasa N., Ivanov L.I., Slonova R., Zakharycheva T.A., Nakamura I., Yoshimatsu K., Arikawa J., Yoshii K., Takashima I. Isolation and characterization of hantaviruses in Far East Russia and etiology of hemorrhagic fever with renal syndrome in the region. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2012; 86(3):545–53. DOI: 10.4269/ajtmh.2012.11-0297.

20. Klempa B., Tkachenko E.A., Dzagurova T.K. Hemorrhagic fever with renal syndrome caused by 2 lineages of Dobrava hantavirus, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(4):617–25. DOI: 10.3201/eid1404.071310.

21. Dzagurova T.K., Smirnov A.A., Tkachenko E.A. [Etiological aspects of hemorrhagic fever with renal syndrome]. *Biopreparaty [Biopreparations]*. 2007; 3:7–11.

22. Abramov S.A., Yashina L.N., Dupal T.A., Zdanovskaya N.I., Protopopova E.V., Pozdnyakov A.A., Krivopalov A.V., Petrovsky D.V. [New data on dissemination of Hantaviruses in populations of rodents in the territory of Siberia]. *Sibirsky Ekologichesky Zhurnal [Siberian Ecological Journal]*. 2011; 18(4):547–53.

Authors:

Savitskaya T.A., Serova I.V. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru.

Trifonov V.A. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan State Medical Academy; Kazan, Russian Federation.

Isaeva G.Sh. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan State Medical University; Kazan, Russian Federation.

Reshetnikova I.D. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian

Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan (Privolzhsky) Federal University; Kazan, Russian Federation.

Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

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.

Об авторах:

Савицкая Т.А., Серова И.В. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии. 67, ул. Б. Красная, Казань, 420015, Российская Федерация. E-mail: kniem@mail.ru.

Трифонов В.А. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; 67, ул. Б. Красная, Казань, 420015, Российская Федерация; e-mail: kniem@mail.ru. Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО; Казань, Российская Федерация.

Исаева Г.Ш. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; 67, ул. Б. Красная, Казань, 420015, Российская Федерация; e-mail: kniem@mail.ru. Казанский государственный медицинский университет; Казань, Российская Федерация.

Решетникова И.Д. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; 67, ул. Б. Красная, Казань, 420015, Российская Федерация; e-mail: kniem@mail.ru. Казанский (Приволжский) федеральный университет; Казань, Российская Федерация.

Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

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.

Поступила 11.03.19.

Отправлена на доработку 22.03.19.

Принята к публ. 31.05.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-37-44

УДК 615.371:578.28Н1V

Л.Ф. Стомба, В.Т. Кротков, Д.И. Павельев, С.А. Мельников, В.Н. Лебедев, С.В. Борисевич

АНАЛИЗ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ВИРУСА ВАКЦИНЫ, ШТАММ MVA, В КАЧЕСТВЕ ВЕКТОРА ПРИ РАЗРАБОТКЕ ВАКЦИН ПРОТИВ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ВИРУСАМИ ИММУНОДЕФИЦИТА ЧЕЛОВЕКА И ОБЕЗЬЯН*ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации, Сергиев Посад, Российская Федерация*

В обзоре представлены результаты доклинического применения векторных вакцин против заболеваний, вызванных вирусами иммунодефицита человека и иммунодефицита обезьян. Использование только антиретровирусной терапии является недостаточным для элиминации ВИЧ из организма больного. Это обстоятельство диктует необходимость получения эффективной вакцины, которая позволит сократить количество новых случаев заболевания и уменьшит риск трансмиссии вируса. Существующая практика создания медицинских средств защиты показала эффективность режимов гетерологичного праймирования/бустирования для формирования выраженного иммунного ответа у лабораторных животных. В качестве праймирующих вакцин использовали различные векторные конструкции: ДНК-вакцины, вакцина Кальметта-Герена (BCG), аденовирус шимпанзе, вирус везикулярного стоматита, альфавирусный репликлон. Бустерная вакцина представлена рекомбинантным вирусом вакцины, штамм MVA. Во все векторные вакцины встраивались разнообразные гены иммунодоминантных антигенов возбудителей иммунодефицита человека и иммунодефицита обезьян. На макаках-резусах, кроликах и мышах показано, что применяемые схемы вакцинации были безопасны и формировали иммунный ответ. Поскольку оболочечный белок ВИЧ высоко вариабелен, сильно гликозилирован и подвергается структурным изменениям при рецепторном связывании, он не может служить мишенью для индукции вируснейтрализующих антител. Поэтому в проведенных исследованиях, в основном, изучали клеточный иммунный ответ, который представлен полифункциональными CD8⁺ Т-клетками. Однако ряд исследований последних лет направлен на такую модификацию оболочечного иммуногена ВИЧ, которая будет способствовать индукции вируснейтрализующих антител. Проведенное изучение защитной эффективности индуцированного иммунитета на макаках-резусах, иммунизированных рекомбинантными векторами, экспрессирующими иммунодоминантные антигены ВАО, при последующем заражении их вирулентным штаммом ВАО, выявило, что все обезьяны заболевали. С учетом того, что конструкции с иммунодоминантными антигенами ВАО, при проведении оценки их защитной эффективности на макаках-резусах имитируют СПИД у человека, то, вероятно, что разработанные к настоящему времени вакцины не будут эффективными при формировании коллективного иммунитета против СПИДа. Поэтому в настоящее время приоритетным направлением исследований продолжает оставаться поиск новых сочетаний экспрессируемых иммунодоминантных антигенов в праймирующие и бустерные вакцины.

Ключевые слова: СПИД, вирус иммунодефицита человека, вирус иммунодефицита обезьян, макака-резус, штамм MVA, иммунный ответ, праймирование, бустирование.

Корреспондирующий автор: Борисевич Сергей Владимирович, e-mail: 48cnii@mail.ru.

Для цитирования: Стомба Л.Ф., Кротков В.Т., Павельев Д.И., Мельников С.А., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Анализ и перспективы применения рекомбинантного вируса вакцины, штамм MVA, в качестве вектора при разработке вакцин против заболеваний, вызванных вирусами иммунодефицита человека и обезьян. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 2:37–44. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-37-44

L.F. Stovba, V.T. Krotkov, D.I. Paveli'ev, S.A. Mel'nikov, V.N. Lebedev, S.V. Borisevich

Analysis and Prospects of Using Recombinant Vaccinia Virus MVA Strain as a Vector in the Development of the Vaccines against Human and Simian Immunodeficiency Virus Diseases*«48th Central Research Institute» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad, Russian Federation*

Abstract. The review presents the results of preclinical use of vector vaccines against human immunodeficiency virus (HIV) disease and simian immunodeficiency virus (SIV) disease. Application of antiretroviral therapy exclusively is insufficient for elimination of HIV from patient's body. This dictates the need for an effective vaccine which will reduce the number of new cases of the disease and reduce the risk of virus transmission. Current practice of medicinal product development showed the effectiveness of heterologous prime-boost regimens for the induction of expressed immune response in laboratory animals. Various vector constructs were used as priming vaccines: DNA vaccines, Bacille Calmette-Guerin vaccine, chimpanzee adenovirus, vesicular stomatitis virus, alphavirus repli-clone. Booster vaccine was represented by recombinant MVA strain. In all vector vaccines, different genes of immunodominant antigens of HIV and SIV agents were inserted. On rhesus macaques, murine, rabbit models, it was demonstrated that deployed vaccination schemes were safe and induced immune response. Because membrane HIV protein is highly variable, strongly glycosylated and subjected to structural changes during receptor binding, it cannot be viewed as a target for induction of virus neutralized antibodies. Therefore, we mainly studied the cell immune response that was presented by poly-functional CD8⁺ T-cells. However, some recent researches are aimed at such modification of envelope HIV immunogene that would provide for virus neutralizing antibody induction. The study of protective efficiency of the induced immunity in rhesus

macaques, immunized with recombinant vectors expressing SIV's immunodominant antigens, in case of subsequent inoculation with virulent SIV strain has revealed that all monkeys developed illness. Assuming that the constructions with SIV's immunodominant antigens under protective efficiency testing on rhesus macaques imitate AIDS in humans, it seems that vaccines, developed up-to-date, will not be effective for collective immunity formation against AIDS. Therefore, the search for novel combinations of expressed immunodominant antigens for the inclusion into the composition of priming and booster vaccines remains a priority area at present time.

Key words: AIDS, human immunodeficiency virus, simian immunodeficiency virus, rhesus macaques, MVA strain, immune response, priming, boosting.

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

Corresponding author: Sergey V. Borisevich, e-mail: 48cnii@mail.ru.

Citation: Stovba L.F., Krotkov V.T., Pavel'ev D.I., Mel'nikov S.A., Lebedev V.N., Borisevich S.V. Analysis and Prospects of Using Recombinant Vaccinia Virus MVA Strain as a Vector in the Development of the Vaccines against Human and Simian Immunodeficiency Virus Diseases. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:37–44. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-37-44
Received 19.11.18. Revised 24.01.19. Accepted 08.02.19.

Несмотря на то, что вирус иммунодефицита человека (ВИЧ, human immunodeficiency virus – HIV) впервые идентифицирован еще в 1983 г., вызываемое им заболевание – синдром приобретенного иммунодефицита человека (СПИД) – продолжает оставаться проблемой для здравоохранения многих стран, особенно для стран Субсахарной Африки и Юго-Восточной Азии, где проживает большинство инфицированных [1]. Это обстоятельство диктует необходимость получения эффективной вакцины, которая, одновременно с высокоактивной антиретровирусной терапией, позволит уменьшить число новых случаев заболевания, снизит риск трансмиссии вируса и/или предотвратит заболевание. Однако при создании такой вакцины возникают проблемы, связанные с вирусной гетерогенностью и формированием механизмов ухода вируса от уже сформированных факторов иммунного ответа [1, 2].

В настоящее время одним из основных кандидатов в векторные вакцины против опасных и социально значимых инфекционных заболеваний рассматривается вирус вакцины, штамм MVA (modified vaccinia virus strain Ankara) [3]. Этот штамм, как вектор, обладает рядом преимуществ. Хотя он не реплицируется в клетках млекопитающих, его морфогенез блокируется на поздних стадиях развития вируса, когда экспрессированы все гены под ранними промоторами, в том числе и встроенные чужеродные. Штамм MVA вируса вакцины и его варианты безопасны даже для лиц с ослабленной иммунной системой [4, 5]. Для данного штамма отсутствует проблема влияния предсуществующего иммунитета после отмены обязательного оспопрививания. Поэтому чаще всего для бустирования применяется рекомбинантный вирус вакцины, штамм MVA, экспрессирующий иммунодоминантные антигены ВИЧ или вируса иммунодефицита обезьяны (ВИО). Для праймирования могут применяться различные конструкции или их сочетания [6].

Поскольку в развивающихся странах инфицирование ВИЧ зачастую происходит одновременно с инфицированием туберкулезом, а грудное вскармливание матерями, больными СПИДом, приводит к дополнительному инфицированию ВИЧ и увеличению скорости трансмиссии вируса, то возникает не-

обходимость создания комбинированной вакцины и против ВИЧ, и против возбудителя туберкулеза [7]. В качестве векторной для создания бивалентной вакцины против обоих возбудителей взята вакцина Кальметта-Гирена (BCG), так как она является одной из наиболее часто используемых против туберкулеза вакцин. BCG как вакцинный вектор против СПИДа начал применяться с начала 90-х годов XX в. [7, 8]. Этот вектор имеет ряд преимуществ: его безопасность показана при вакцинации около 2 млрд человек, однако у иммунокомпромированных лиц он может вызывать диссеминированное заболевание. Поэтому, согласно рекомендациям ВОЗ, для иммунизации ВИЧ-инфицированных младенцев предлагается использовать лизинный аутокотроф Пастеровского штамма – AERAS-401 [6, 9]. Он менее вирулентен и более иммуногенен, что показано в опытах на мышах и морских свинках. Штамм AERAS-401 индуцирует клеточный и гуморальный иммунный ответ. BCG обычно применяется для праймирования, а в качестве бустерной вакцины – рекомбинантный штамм MVA [8].

Возможности использования штамма AERAS-401 как вектора показаны при сравнительной оценке его с родительским Пастеровским штаммом. Применение для вакцинации двух рекомбинантов: BCG-Gag на основе Пастеровского штамма и BCGΔpan-Gag на основе штамма AERAS-401, экспрессирующих ген Gag (Gag-группоспецифический антиген), не индуцировало образования Gag-специфических Т-клеток. Gag-специфический иммунный ответ, в основном, представленный CD8⁺ Т-клетками, определялся только после бустирования MVA-Gag, причем с обоими праймирующими штаммами. Эти Gag-специфические Т-клетки продуцировали интерферон-γ (IFN-γ), фактор некроза опухоли-α (TNF-α) и интерлейкин (IL-6), т.е. цитокины, которые необходимы для контроля ВИЧ инфекции [8].

Ранее показано [10], что иммунизация макаков рекомбинантными штаммами BCG и MVA, экспрессирующими Gag антигены, индуцирует выработку эффективного защитного иммунитета против мукозального заражения гибридным вирусом SHIVKS661S.

Помимо гена Gag антигена для встраива-

ния в эти векторы использовался HIVA антиген-иммуноген, состоящий из Gag белка клэйда А и ряда частично перекрывающихся иммунодоминантных CD8⁺ Т-клеточных эпитопов [3, 9, 11]. Применение для иммунизации только BCG·HIVA, сконструированного на основе штамма AERAS-401, индуцировало неопределяемый и слабый Т-клеточный ответ у иммунизированных мышей BALB/c и макак-резусов соответственно. Если же использовать этот вектор в качестве праймирующего и проводить бустирование штаммом MVA·HIVA, то индуцируется сильный Т-клеточный ответ, специфичный для множества ВИЧ-1 эпитопов [9] с формированием клеток иммунологической памяти. Установлено, что использование праймирующей BCG·HIVA и бустерной MVA·HIVA вакцин было безопасным и индуцировало ВИЧ-специфический и специфический микобактериальный Т-клеточный ответ у новорожденных [6] и взрослых [6, 7] мышей BALB/c. Полифункциональные ВИЧ-1 специфические Т-клетки продуцировали IFN- γ , TNF- α и дегрануляционный маркер CD107a [7].

В целом, для дальнейшего клинического применения зарубежными специалистами предложена праймирующая рекомбинантная вакцина BCG·HIVA на основе штамма AERAS-401 и бустерная – MVA·HIVA. Использование подобной схемы иммунизации для макак-резусов, новорожденных и взрослых мышей BALB/c выявило ее безопасность, за исключением легких эритем и воспалительных реакций вокруг участка инъекции при введении вакцины BCG·HIVA [7, 9]. При инъекции вакцины MVA·HIVA побочных реакций не отмечено. После праймирования вакциной BCG·HIVA определялся сильный специфический иммунный ответ на антиген BCG возбудителя туберкулеза. После бустирования штаммом MVA·HIVA наблюдалось образование ВИЧ-специфического Т-клеточного иммунного ответа [3, 5, 7, 9], однако, довольно слабого у новорожденных макак, что объясняется некомпетентностью их иммунной системы [11].

Поскольку в ряде клинических испытаний по оценке режимов иммунизации против туберкулеза применялось праймирование вакциной BCG и бустирование рекомбинантным штаммом MVA, экспрессирующим один из иммунодоминантных антигенов возбудителя туберкулеза 85A – MVA85A, то эти векторы выбраны для одновременной иммунизации против туберкулеза и ВИЧ [3, 6]. При инъекции штаммов MVA·HIVA85A установлено, что у иммунизированных мышей BALB/c индуцировался Т-клеточный ответ и против HIVA, и против 85A антигена возбудителя туберкулеза [3]. При прайм/бустерном режиме, при котором праймирование проводилось рекомбинантным BCG, экспрессирующим HIVA (BCG·HIVA), а бустирование – рекомбинантным штаммом MVA85A, экспрессирующим так же HIVA – MVA·HIVA·85A, где BCG представлен AERAS-401 штаммом, у мышей BALB/c индуциро-

вались ВИЧ-1 специфические CD8⁺ Т-клетки, продуцирующие IFN- γ , TNF- α и CD107a [3, 6].

Для улучшения преодоления изменчивости антигенного состава ВИЧ, которая позволяет ему уходить от факторов индуцированного иммунитета, сконструирован новый иммуноген – HIVconsv, содержащий 14 наиболее функционально консервативных областей ВИЧ-1 протеомы, происходящих из четырех мажорных клэйдов А, В, С, D [1, 2]. Этот иммуноген может презентироваться в иммунной системе различными векторами: плазмидной ДНК, аденовирусом человека и обезьян, вирусом вакцины, штамм MVA, репликонами вируса Леса Семлики и длинными синтетическими пептидами [2, 12]. Исследование ряда вышеуказанных векторов на мышях BALB/c выявило их безопасность и отсутствие системной токсичности.

Показана возможность праймирования рекомбинантным аденовирусом шимпанзе ChAdV63·HIVconsv и бустирования рекомбинантным MVA·HIVconsv для индукции иммунного ответа у мышей BALB/c [2]. Применение аденовируса шимпанзе связано с тем, что к аденовирусу человека у населения с большей долей вероятности может быть выраженный иммунитет.

Специфичность вакцино-индуцированного ответа определяется ВИЧ-1 производными антигенами, а так же путем и способами доставки субъединиц к иммунной системе [12]. В большинстве исследований определяли Т-клеточный иммунный ответ к СПИДу, однако изучение HIVconsv иммуногена, доставляемого разными векторами: плазмидной ДНК, аденовирусом обезьян 63 серотипа, аденовирусом человека 5 серотипа, штаммом MVA, репликонами вируса Леса Семлики и длинными синтетическими перекрывающимися пептидами с адъювантом установило, что только комплекс с синтетическими пептидами вызывал образование и гуморального, и Т-клеточного ответа у макак-резусов [12].

Один из существующих подходов увеличения экспрессии встроенных иммуногенов в геном вируса вакцины, штамм MVA, применяемый для бустирования, базируется на внесении изменений в сам вектор. Вносимые изменения включают делетирование генов, существенных для репликации вектора (udg), и иммуномодуляторных генов. Таким образом получены два генетически модифицированных варианта: MVA Δ 4·HIV, у которого делетированы гены растворимого интерлейкина-1 β (IL-1 β) рецептора, IL-18-связывающего белок, СС-хемокин-связывающего белка, доминантного нативного Toll-IL-1 сигнального адаптера, и MVA Δ 5·HIV, у которого делетированы помимо этих четырех генов еще и ген udg [13]. Оба варианта и родительский штамм MVA содержали встроенные гены Gag и Env (Env – оболочечный белок) ВИЧ-1. При эксперименте на макаках-резусах выявлено, что оба модифицированных варианта индуцировали увеличенные (в 5–6 раз) уровни ВИЧ-1 специфических транзистентных Т-клеточных ответов, а титры Env (gp120) антител, которые не нейтрали-

зовали вирус, оказались в 25 раз больше, чем у родительского штамма [13].

Также предлагается делетировать два гена, кодирующих ингибиторы сигнальных путей интерферона. В полученный делеционный мутант встраивали ген Env антигена ВИЧ-1, как мономерный Grp120, и ген полипротеина, содержащий Gag, Pol и Nef (GPN) из клайда В, и сравнивали с родительским штаммом MVA, экспрессирующим те же антигены. Праймирование осуществлялось ДНК плазмидой, содержащей те же гены. При иммунизации этими конструкциями мышей BALB/c показано, что этот мутант способен улучшать качество и количество ВИЧ-специфических CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеточных ответов и иммунологическую память. Гуморальный иммунный ответ против gp120 был несколько выше у мутантного штамма. CD4⁺ Т-клетки индуцированы против Env, а CD8⁺ – против GPN полипротеина [14].

Среди различных кандидатов в вакцины наиболее многообещающими представляются те, которые содержат высокоиммуногенные формы оболочечного белка в его нативной природной форме, которые будут индуцировать формирование не только клеточного, но и гуморального иммунного ответа [15]. Предшественник Env ВИЧ-1 существует как полипротеин, который расщепляется на рецептор-связывающий домен (gp120) и мембран-связывающий домен (gp41) [15]. Роль gp120 белка показана в эксперименте, когда его добавление в бустерный компонент увеличивало клеточный и протективный ответ антител против gp120 ВИЧ [16]. Поскольку нативный белок gp120 существует в трехмерной форме, то для создания его природной конформационной формы он был сплавлен с 14К олигомерным белком вируса вакцины. Эта химерная трехмерная конструкция реагирует с широким спектром ВИЧ-1 нейтрализующих антител. Плазмидная ДНК, экспрессирующая трехмерную форму gp120 (gp120-14К) ВИЧ-1 клайда В, служила в качестве праймирующего компонента для иммунизации мышей BALB/c. Бустерный компонент представлен рекомбинантным штаммом MVA, экспрессирующим ВИЧ-1 gp120, Gag, Pol и Nef антигены клайда В (MVA-B). Сравнение результатов иммунизации ДНК gp120-14К/MVA-B с иммунизацией ДНК gp120-/MVA-B установило, что праймирующая иммунизация плазмидной ДНК gp120-14К при тех же условиях бустирования индуцирует более выраженный CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеточный иммунный ответ, иммунную память и высокий титр антител против gp120 класса IgG2a и IgG3. Эта праймирующая конструкция предлагается как вакцина против СПИДа, индуцирующая широкий Т-клеточный и В-клеточный иммунный ответы [15].

Трехмерная форма Env белка может быть также получена за счет встройки N-концевого тримеризационного домена в V-1 петлевую область белка gp120 с образованием так называемого сусР-gp120 белка. У кроликов при двукратной иммунизации

этим белком индуцируются титры высокоавидного gp120-специфического IgG в 100 раз выше, чем при двукратной иммунизации gp120 [17]. При праймировании кроликов рекомбинантным штаммом MVA, экспрессирующим трехмерный мембрансвязывающий гликопротеин gp150 ВИЧ-1 клайда В (MVA-HIV), и бустировании белком сусР-gp120 определены высокоавидные Env-специфические антитела в высоких титрах. При праймировании макаков-резусов сначала ДНК-вакциной, экспрессирующей Gag/Pol/Env антигены, и бустировании MVA-HIV и белком сусР-gp120 результаты иммунизации не отличались от таковых для кроликов. Следовательно, белок сусР-gp120 является выраженным ВИЧ-1 иммуногеном, способным при иммунизации лабораторных животных индуцировать высокие титры высокоавидных Env-специфических антител с нейтрализующей активностью для ряда 1А и 1В ВИЧ-1 [17].

Помимо экспериментов по изменению конфигурации самого белка gp120, проводятся исследования с целью получения рекомбинантных вирусных векторов, секретирующих этот белок в трехмерной форме, имитирующей нативный оболочечный белок. Так были получены рекомбинантный аденовирус, у которого 2/3 экспрессируемого оболочечного белка представлены его трехмерной формой, и рекомбинантный штамм MVA, который экспрессирует 1/3 трехмерной формы белка gp120, что показано при оценке секретируемых этими векторами белков при инфицировании ими клеток НЕК293Т. При различных режимах иммунизации кроликов этими векторными конструкциями у кроликов индуцировались связывающиеся с трехмерной формой оболочечного белка вируснейтрализующие антитела против ряда 1 и 2 ВИЧ-1 [18].

Помимо достаточно распространенных, описанных ранее векторов, изучалось применение альфавирусного репликона (на основе вируса Леса Семлики). Для прайм/бустерного режима иммунизации исследовалось праймирование репликоном, который экспрессировал Env, Gag-Pol-Nef антигены ВИЧ-1 клайда С, а бустирование – рекомбинантным штаммом MVA со встроенными теми же генами или рекомбинантной трехмерной формой gp140 оболочечного белка ВИЧ в виде водного гликопиранозил липида А или обоими вместе. Мыши BALB/c, иммунизированные этими конструкциями, индуцировали Т-клеточный и гуморальный иммунные ответы. В целом показано, что этот подход требует очень малого количества альфавирусного вектора (0,2 мкг), по сравнению с плазмидными векторами, для индукции приемлемых уровней иммунитета против ВИЧ [19].

Поскольку ВИЧ-1 обладает широким разнообразием последовательностей, то как одним из подходов иммунизации в разных ареалах предлагается создание вакцин, которые будут содержать Env и Gag-Pol последовательности из вирусных изолятов, выделенных в восточной Африке и Таиланде: из субтипа А (Кения), С (Танзания), D (Уганда) и CRF01-AE

(Таиланд), все под контролем только mH5 промотора [4]. Все эти вакцины у иммунизированных мышей BALB/c индуцировали выраженный Gag и Pol специфический CD8⁺ Т-клеточный и Env специфический CD4⁺ Т-клеточный и гуморальный к Env антигенам иммунные ответы. Также индуцировался клеточный ответ к самому вирусу вакцины, штамм MVA [4].

При праймировании рекомбинантным аденовирусом шимпанзе, экспрессирующим Gag антигены ВИЧ-1 из клэйда В, и бустировании плазмидной ДНК совместно со штаммом MVA, экспрессирующими тот же антиген, у мышей BALB/c индуцировался более сильный и более длительный полифункциональный CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеточный ответ, который был способен уменьшить репродукцию вируса при последующем заражении химерным вирусом иммунодефицита человека, экспрессирующим оболочку экотропного мышинного ретровируса [20].

Данные по результатам иммунизации рекомбинантными вакцинами, содержащими гены различных ВИЧ антигенов, в том числе и их сочетания, представлены в табл. 1. При всех схемах иммунизации наблюдалось индуцирование иммунного ответа, однако его защитную эффективность невозможно было определить, поскольку все примененные лабораторные модельные животные не болеют СПИДом. Поэтому проводились исследования с вирусом иммунодефицита обезьян.

Проведение исследований с вирусом иммунодефицита обезьян (simian immunodeficiency virus – SIV) и вызываемого им заболевания у обезьян обусловлено сходством этого вируса с ВИЧ и симптомами СПИДа у человека, а так же возможностью оценки индуцированного ВІО иммунитета при последующем заражении вирулентным штаммом этого возбудителя. Животные обычно индуцируют клеточный и гуморальный иммунные ответы, которые частично контролируют, но не элиминируют вирус. Гибель наступает через 1–2 года в результате снижения иммунного статуса макроорганизма [21].

Сначала был оценен иммунный ответ, индуцированный только на рекомбинантный штамм MVA, экспрессирующий либо Env, либо Gag-Pol антигены (вместе или каждый по отдельности). Выявлено, что иммунизация не предотвращала от последующего заражения вирулентным штаммом SIVsmE660, но значительно уменьшала виремию. В течение 9 лет наблюдения установлено, что иммунные обезьяны имеют преимущество в периоде выживания по сравнению с контрольными, что коррелировало с уменьшенной виремией, причем лучшие результаты наблюдались у обезьян, у которых иммунизирующий компонент содержал продукт экспрессии Env гена. Гуморальный иммунный ответ к ВИЧ появлялся только после инфицирования штаммом SIVsmE660 [21].

Поскольку иммунный ответ, индуцированный только на рекомбинантный штамм MVA, оказался недостаточным для защиты обезьян от последующе-

го заражения вирулентным ВІО, то этот вектор применен в качестве бустерного компонента. Так, схема праймирования ДНК-вакциной, содержащей последовательности генов Gag, Pr (Pr – протеазный белок), Rt (Rt – обратнотранскриптазный белок) и Env, и бустирования рекомбинантным MVA, содержащим те же гены, сравнивался со схемой иммунизации только рекомбинантным MVA. Установлено, что при режиме праймирования/бустирования отмечалось образование большего количества CD4⁺ Т-клеток, а при иммунизации только рекомбинантным MVA вырабатывались более высокие титры с большей авидностью Env-специфических IgG и IgA антител в ректальных секретах. Количество CD8⁺ Т-клеток было одинаковым при обеих схемах. Несмотря на различное качество иммунных ответов при этих схемах, животные не были защищены от последующего заражения вирулентным SIVsmE660 [22].

Проведенные исследования на макаках-резусах в режиме праймирования ДНК-вакциной, экспрессирующей Gag, Pol, Env, Tat и Rev (Tat и Rev – регуляторные белки) антигены, и бустирования двумя рекомбинантными MVA штаммами, экспрессирующими один Gag, Pol, другой – Env антигены, выявили, что вырабатывались ВІО-специфические CD8⁺ и CD4⁺ клеточные иммунные ответы и антиSIV IgA антитела в ректальных секретах, а предшествующий иммунитет к вирусу вакцины снижал уровни образования ВІО-специфических CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток, но не влиял на гуморальный иммунный ответ. Подобная иммунизация не защищала от последующего заражения вирулентным ВІО [23].

Для усиления индукции иммунного ответа изучалось применение модифицированного штамма MVA. Так, делеционный по гену *udg* мутант и родительский штамм экспрессировали Gag и Tat антигены SIVmac239. У всех иммунизированных макак наблюдалось образование мультифункциональных Т-клеток, в основном CD8⁺, меньшие уровни вирусемии после заражения вирулентным гомологичным вирусом. Сроки выживания не отличались от неиммунных животных. Однако иммунизация этим модифицированным рекомбинантным вектором не защищала животных от последующего заражения [24].

С целью определения влияния экспрессии генов цитокинов в качестве молекулярных адъювантов оценен иммунный ответ при иммунизации макаков-резусов в двух экспериментах. В обоих случаях для праймирования использовалась ДНК-вакцина, содержащая полноразмерный ВІО-геном, а для бустирования – штамм MVA, экспрессирующий Gag, Pol и Env антигены. В первом эксперименте добавлялись плазмиды, экспрессирующие цитокины IL-2 и IL15, в другом – GM-CSF (грануляромкрофагальный колониестимулирующий фактор) и TNF-α (фактор некроза опухоли). В обоих экспериментах отмечался значительный ВІО-специфический мукозальный и системный клеточный иммунитет, в то время как титры ВІО-специфических антител были споради-

Таблица 1/ Table 1

Результаты изучения иммунного ответа, индуцированного прайм/бустерной иммунизацией при применении рекомбинантного вируса вакцины, штамм MVA, экспрессирующего иммунодоминантные антигены ВИЧ
Results of study of the immune response, induced by prime-boost immunization using recombinant vaccinia virus MVA strain expressing immunodominant HIV antigens

Праймирование вектором... / Vector priming	Белки, экспрессируемые генами, встроенными в праймирующий вектор / Proteins, expressed by genes built-in the priming vector	Бустирование вектором... / Vector boosting	Белки, экспрессируемые генами, встроенными в бустирующий вектор / Proteins, expressed by genes built-in the boosting vector	Лабораторная модель... / Laboratory model	Наличие индуцированного иммунного ответа / Presence of induced immune response		Источник литературы / Reference			
					клеточный / cellular	гуморальный / humoral				
BCG	Gag	MVA	Gag	BALB/с мыши / BALB/c mice	+	Не исследовали / Not studied	8			
BCGΔ-pan Gag				Макаки-резусы / Rhesus macaques			10			
BCG							9			
BCG AE RAS-401	HIVA		HIVA	BALB/с мыши и макаки-резусы / BALB/c mice and rhesus macaques			6			
BCG				Взрослые и новорожденные BALB/с мыши / Grown-up and new-born BALB/c mice			7			
				BALB/с мыши / BALB/c mice			11			
				Новорожденные макаки-резусы / New-born rhesus macaques			3, 6			
BCG AERAS-401									2	
BCG							HIVA-85A	BALB/с мыши / BALB/c mice		
ChAdV ₆₃	HIVconsv		HIVconsv							
MVAΔ4	Gag, Env	Не использовали / Did not use	Не использовали / Did not use	Макаки-резусы / Rhesus macaques	+		13			
MVAΔ5										
ДНК-вакцина / DNA-vaccine	Env(gp120), Gag-Pol-Nef	MVA-B	Env, Gag-Pol-Nef	BALB/с мыши / BALB/c mice			14			
	Gp120-14K	MVA	Gp120, Gag-Pol-Nef				15			
MVA	Трехмерный мембрансвязанный Gp150 / Three-dimension membrane-associated Gp150	Белок cycP- Gp120	Не использовали / Did not use	Кролики / Rabbits			Не исследовали / Not studied	+	17	
ДНК-вакцина / DNA-vaccine	Gag-Pol-Env	MVA	Трехмерный мембрансвязанный Gp150 + белок cycP-Gp120 / Three-dimension membrane-associated Gp150 + protein cycP-Gp120	Макаки-резусы / Rhesus macaques						
Альфовирусный репликон / Alphavirus replicon	Env, Gag-Pol-Nef	MVA + Gp140	Env, Gag-Pol-Nef	BALB/с мыши / BALB/c mice	+	19				
MVA из разных ареалов / MVA from different areals	Env, Gag-Pol	Не использовали / Did not use	Не использовали / Did not use	BALB/с мыши / BALB/c mice	+	+	4			
Аденовирус шимпанзе / Chimpanzee adenovirus	Gag	MVA + плазмидная ДНК / MVA + plasmid DNA	Gag			Не исследовали / Not studied	20			

ческими, а титры IgG антител – негативными. После заражения вирулентным SIVmac 251 все животные оказались инфицированными [25].

В экспериментах по оценке схем вакцинации на макаках-резусах в праймирующую ДНК-вакцину, содержащую полноразмерный геном ВИО, дополнительно встроили гены цитокинов IL-2 и IL-15. Эта конструкция продуцировала неинфекционные ВИО-частицы. Бустирование проводили рекомбинантным штаммом MVA, экспрессирующим Gag, Pol, Env антигены, вместе с инактивированными SIVmac259 частицами. Иммунизация этими компонентами приводила к выработке антиВИО IgA антител и CD8⁺ и

CD4⁺ Т-клеточных иммунных ответов, которых, однако, оказалось недостаточно, чтобы предохранить от последующего заражения вирулентным ВИО [26].

Следовательно, дополнительная экспрессия генов молекулярных адъювантов не способствовала индукции такого иммунного ответа, который бы защищал от последующего заражения вирулентным гомологичным вирусом.

Помимо перечисленных ДНК-вакцин в качестве вектора для праймирования может применяться вирус везикулярного стоматита [27]. Его защитную эффективность исследовали на новорожденных макаках-резусах для доказательства возможности

Таблица 2/Table 2

Результаты изучения свойств рекомбинантного вируса вакцины, штамм MVA, экспрессирующего иммунодоминантные антигены вируса иммунодефицита обезьян, при последующем заражении макак-резусов

Results of the study of recombinant MVA strain properties, expressing antigens of simian immunodeficiency virus, upon subsequent infection of macaques rhesus

Праймирование вектором / Vector priming	Белки, экспрессируемые генами, встроенными в праймирующий вектор / Proteins, expressed by genes built-in the priming vector	Бустирование вектором / Vector boosting	Белки, экспрессируемые генами, встроенными в бустировочный вектор / Proteins, expressed by genes built-in the boosting vector	Лабораторная модель / Laboratory model	Наличие индуцированного иммунного ответа / Presence of induced immune response		Результат последующего заражения вирулентным ВИО / Results of subsequent inoculation with virulent SIV	Источник литературы / Reference
					клеточный / cellular	гуморальный / humoral		
MVA	Env, Gag, Pol	Не использовали / Did not use	Не использовали / Did not use	Макаки-резусы / Rhesus macaques	+	+	Заболевание / Disease	21
ДНК-вакцина / DNA-vaccine	Gag, Pr, Rt, Env	MVA	Gag, Pr, Rt, Env					22
	Gag-Pol, Env, Tat, Rev		Gag-Pol, Env					23
MVAΔudg	Gag, Tat	Не использовали / Did not use	Не использовали / Did not use			Не исследовали / Not studied		25
ДНК-вакцина / DNA-vaccine	Полноразмерный геном ВИО + плазмиды с GM-CSF, IL-12, TNF-α / Full-length SIV genome + plasmids with GM-CSF, IL-12, TNF-α	MVA	Gag, Pol, Env	Новорожденные макаки-резусы / New-born rhesus macaques	+	+	Заболевание / Disease	24
	Полноразмерный геном ВИО + плазмиды с IL-2, IL-15 / Full-length SIV genome + plasmids with IL-2, IL-15	MVA + инактивированные частицы ВИО / MVA + inactivated SIV particles						26
Вирус везикулярного стоматита / Vesicular stomatitis virus	Gag, Pol, Env	MVA			+	+	Заболевание / Disease	27

предотвращения трансмиссии ВИЧ от больной СПИДом матери к новорожденному ребенку при грудном вскармливании. Животных праймировали рекомбинантным вирусом везикулярного стоматита, который экспрессировал Gag, Pol, EnvG-1(Env ген встроен в геном вируса везикулярного стоматита вместо G гена). Бустировали через две недели рекомбинантным штаммом MVA, который экспрессировал те же антигены. В результате иммунизации формировался иммунный ответ, представленный IgA антителами, и относительно низкий ВИО-специфический Т-клеточный ответ в лимфоидной и слизистой тканях [27]. Подобные результаты получены и в другом эксперименте при несколько иных режимах иммунизации и использовании праймирующей и бустерной вакцин с экспрессией тех же генов ВИО [27].

Данные по иммунизации макак-резусов различными векторными праймирующими вакцинами и бустировании рекомбинантным штаммом MVA, экспрессирующим также антигены ВИО, представлены в табл. 2.

Таким образом, результаты экспериментов по применению рекомбинантного штамма MVA-вируса вакцины в качестве бустерной вакцины свидетельствуют, что экспрессия генов разнообразных антигенов ВИЧ и ВИО, встроенных в этот вектор, способствует индуцированию клеточного и гуморального ответов. При этом в качестве праймирующей вакцины могут применяться ДНК-вакцины, BCG, аденовирус шимпанзе, вирус везикулярного сто-

матита, вирус вакцины, альфавирусный репликон. Оценка защитной эффективности этого иммунного ответа, проведенная с рекомбинантными вакцинами, экспрессирующими иммунодоминантные антигены ВИО, при иммунизации макак-резусов и последующем их заражении вирулентным штаммом ВИО, выявила его недостаточность для предотвращения заболевания. В идеале вакцина против СПИДа должна индуцировать сбалансированный клеточный и гуморальный иммунный ответ, опосредованный эффективными Т-клетками и протективными антителами [29]. Вакцины против СПИДа должны обеспечивать более полноценный иммунный ответ, чем формируемый в процессе естественной инфекции.

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

References / Список литературы

1. Ondondo B., Brennan C., Nicocia A., Crome S.J., Hanke T. Absence of systemic toxicity changes following intramuscular administration of novel pSG2-HIVconsV DNA, ChAdV63-HIVconsV and MVA-HIVconsV vaccines to BALB/c mice. *Vaccine*. 2013; 31(47):5594–601. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.06.068.
2. Ondondo B., Abdul-Jawad S., Bridgeman A., Hanke T. Characterization of T-cell responses to conserved regions of the HIV proteome in BALB/c mice. *Clin. Vaccine Immunol.* 2014; 21(11):1565–72. DOI: 10.1128/CI.00587-14.
3. Hopkins R., Bridgeman A., Joseph J., Gilbrt S.C., McShane H., Hanke T. Dual neonate vaccine platform against HIV-1 and *M. tuberculosis*. *PLoS ONE*. 2011; 6(5):e20067. DOI: 10.1371/journal.pone.0020067.
4. Earl P.L., Cotter C., Moss B., VanCott T., Currier J., Eller L.A., McCutchan F., Birx D.L., Michael N.L., Marovich M.A., Robb M., Cox J.H. Design and evaluation of multi-gene, multi-clade HIV-1

- MVA vaccines. *Vaccine*. 2009; 27(42):5885–95. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.07.039.
5. Guerra S., González J.M., Climent N., Reuburn H., López-Fernández L.A., Nájera J.L., Gómez C.E., García F., Gatell J.M., Gallart T., Esteban M. Selective induction of host genes by MVA-B, a candidate vaccine against HIV/AIDS. *J. Virol.* 2010; 84(16):8141–52. DOI: 10.1128/jvi.00749-10.
 6. Saubi N., Mbewe-Mvula A., Gea-Mallorqui E., Rosario M., Gatell J.M., Hanke T., Joseph J. Pre-clinical development of BCG-HIVA^{cat}, an antibiotic-free selection strain, for HIV-TB pediatric vaccine vectored by lysine auxotroph of BCG. *PLoS ONE*. 2012; 7(8):e42559. DOI: 10.1371/journal.pone.0042559.
 7. Saubi N., Gea-Mallorqui E., Ferrer P., Hurtado C., Sanchez-Ubeda S., Eto Y., Gatell J.M., Hanke T., Joseph J. Engineering new mycobacterial vaccine design for HIV-TB pediatric vaccine vectored by lysine auxotroph of BCG. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* 2014; 1:14017. DOI: 10.1038/mtm.2014.17.
 8. Chapman R., Shephard E., Stutz H., Douglass N., Sambandamurthy V., Gfrcia I., Ryffel B., Jacobs W., Williamson A.-L. Priming with a recombinant pantothenate auxotroph of *Mycobacterium bovis* BCG and boosting with MVA elicits HIV-1 Gag specific CD8⁺ T-cells. *PLoS ONE*. 2012; 7(3):e32769. DOI: 10.1371/journal.pone.0032769.
 9. Rosario M., Hopkins R., Fulkerson J., Borthwick N., Quigley M.F., Joseph J., Douek H.Y., Greenaway H.Y., Venturi V., Gostick E., Price D.A., Both G.W., Sadoff J.C., Hanke T. Novel recombinant *Mycobacterium bovis* BCG, ovine adenovirus, and modified vaccinia virus Ankara vaccines combine to induce robust human immunodeficiency virus-specific CD4 and CD8 T-cell responses in rhesus macaques. *J. Virol.* 2010; 84(12):5898–908. DOI: 10.1128/JVI.02607-09.
 10. Ami Y., Izumi Y., Matsuo K., Someya K., Kanekiyo., Horibata S., Yoshino N., Sakai K., Shinohara K., Matsumoto S., Yamada T., Yamazaki S., Yamamoto N., Honda M. Priming-boosting vaccination with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin and a nonreplicationvaccinia virus recombinant leads to long-lasting and effective immunity. *J. Virol.* 2005; 79(20):12871–9. DOI: 10.1128/JVI.79.20.12871-12879.2005.
 11. Rosario M., Fulkerson J., Soneji S., Parker J., Im E.-J., Borthwick N., Bridgeman A., Bourne C., Joseph J., Sadoff C.S., Hanke T. Safety and immunogenicity of novel recombinant BCG and modified vaccinia virus Ankara vaccines in neonate rhesus macaques. *J. Virol.* 2010; 84(15):7815–21. DOI: 10.1128/JVI.00726-10.
 12. Borthwick N.J., Rosario M., Schiffner T.E., Ahmed T., Liljestrom P., Stewart-Jones G.T., Drijhout J.W., Melief C.J.M., Hanke T. Humoral responses to HIVconsv induced by heterologous vaccine modalities in rhesus macaques. *Immun. Inflame. Dis.* 2015; 3(2):82–93. DOI: 10.1002/iid3.52.
 13. Garber D.A., O'Mara L.A., Gangadhara S., McQuoid M., Zhang X., Zheng R., Gill K., Verma M., Yu T., Johnson B., Derdeyn C.A., Ibegbu C., Altman J.D., Hunter E., Feinberg M.B. Deletion of specific immune-modulatory genes from modified vaccinia virus Ankara-based HIV vaccines engenders improved immunogenicity in rhesus macaques. *J. Virol.* 2012; 86(23):12605–15. DOI: 10.1128/jvi.00246-12.
 14. García-Arriaza J., Arnáez P., Gómez C., Sorzano C.O.S., Esteban M. Improving adaptive and memory immune responses of an HIV/AIDS vaccine candidate MVA-B by deletion of vaccinia virus genes (C6L and K7R) blocking interferon signaling pathways. *PLoS ONE*. 2013; 8(6):e66894. DOI: 10.1371/journal.pone.0066894.
 15. Vijayan A., García-Arriaza J., Raman S.C., Conesa J.J., Chichón F.G., Santiago C., Sorzano C.O.S., Carrascosa J.L., Esteban M. A chimeric HIV-1 gp120 fused with vaccinia virus 14K (A27) protein as an HIV immunogen. *PLoS ONE*. 2015; 10(7):e0133595. DOI: 10.1371/journal.pone.0133595.
 16. Shen X., Basu R., Sawant S., Beaumont D., Kwa S.-F., LaBranche C., Seaton K.E., Yates N.L., Montefiori D., Ferrari, Wyatt L.S., Moss B., Alam S.M., Haynes B.F., Tomaras G.D., Robinson H.L. HIV-1 gp120 and modified vaccinia virus Ankara MVA gp140 boost immunogens increase immunogenicity of a DNA/MVA HIV vaccine. *J. Virol.* 2017; 91(24):e01077-17. DOI: 10.1128/jvi.01077-17.
 17. Jones A.T., Chamcha V., Kesavardhana S., Shen X., Beaumont D., Das R., Wyatt L.S., LaBranche C.C., Stanfield-Oakley S., Ferrary G., Montefiori D.C., Moss B., Tomaras G.D., Varadarajan R., Amara R.R. A trimeric HIV-1 Envelope gp120 immunogen induces potent and broad anti-v1v2 loop antibodies against HIV-1 in rabbits and rhesus macaques. *J. Virol.* 2018; 92(5):e91796-17. DOI: 10.1128/JVI.01796-17.
 18. Capucci S., Wee E.G., Schiffner T., LaBranche C.C., Borthwick N., Cupo A., Dodd J., Dean H., Sattentau Q., Montefiori D., Klasse P.J., Sanders R.W., Moore J.P., Hanke T. HIV-1 neutralizing antibody induced by simian adenovirus- and poxvirus MCA-vectored BG505 native-like envelope trimers. *PLoS ONE*. 2017; 12(8):e0181886. DOI: 10.1371/journal.pone.0181886.
 19. Knudsen M.L., Ljungberg K., Tatoud R., Weber J., Esteban M., Liljestrom P. Alphavirus replicon DNA expressing HIV antigens is an excellent prime for boosting with recombinant modified vaccinia Ankara (MVA) or with HIV gp140 protein antigen. *PLoS ONE*. 2015; 10(2):e0117042. DOI: 10.1371/journal.pone.0117042.
 20. Roshorn Y., Cottingham M.G., Potash M.-J., Volsky D.J., Hanke T. T cell induced by recombinant chimpanzee adenovirus alone and in prime-boost regimens decrease chimeric EcoHIV/NDK challenge virus load. *Eur. J. Immunol.* 2012; 42(12):3243–55. DOI: 10.1002/eji.201242624.
 21. Ourmanov I., Kuwata T., Goeken R., Goldstein S., Iyengar R., Buckler-White A., Lafont B., Hirsch V.M. Improved survival in rhesus macaques immunized with modified vaccinia virus Ankara recombinants expressing simian immunodeficiency virus envelope correlates with reduction in memory CD4⁺ T-cell loss and higher titers of neutralizing antibody. *J. Virol.* 2009; 83(11):5388–400. DOI: 10.1128/JVI.02598-08.
 22. Lai L.L., Kwa S.-F., Kozlowski P.A., Montefiori D.C., Nolen T., Hudgens M.G., Johnson W.E., Ferrari G., Hirsch V.M., Felber B.K., Pavlakis G.N., Earl P., Moss B., Amara R.A., Robinson H.L. SIVmac239 MVA vaccine with and without a DNA prime, similar prevention of infection by a repeated dose SIVsmE660 challenge despite different immune responses. *Vaccine*. 2012; 30(9):1737–45. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.12.026.
 23. Kannanganat S., Nigam P., Velu V., Earl P.L., Lai L., Chennareddi L., Lawson B., Wilson R.L., Montefiori D.C., Kozlowski P.A., Moss B., Robinson H.L., Amara R.R. Preexisting vaccinia virus immunity decrease SIV-specific cellular immunity but does not diminish humoral immunity and efficacy of a DNA/MVA vaccine. *J. Immunol.* 2010; 185(12):7262–73. DOI: 10.4049/jimmunol.1000751.
 24. Engram J.C., Dunham R., Makedonas G., Vanderfor T.H., Sumpter B., Klatt N.R., Ratcliffe S.J., Garg S., Piardini M., McQuoid M., Altman J.D., Staprans S.I., Bets M.R., Garber D.A., Feinberg M.V., Silvestre G. Vaccine-induced, simian immunodeficiency virus-specific CD8⁺ T-cells reduce virus replication but do not protect from simian immunodeficiency virus disease progression. *J. Immunol.* 2009; 183:706–17. DOI: 10.4049/jimmunol.0803746.
 25. Manrique M., Kozlowski P.A., Cobo-Molinos A., Wang S.-W., Wilson R.L., Montefiori C., Mansfield K.G., Carville A., Aldovini A. Long-term control simian immunodeficiency virus mac251 viremia to undetectable levels in half of infected female rhesus macaques nasally vaccinated with simian immunodeficiency virus DNA/recombinant modified vaccinia virus Ankara. *J. Immunol.* 2011; 186:3581–93. DOI: 10.4049/jimmunol.1002594.
 26. Manrique M., Kozlowski P.A., Cobo-Molinos A., Wang S.-W., Wilson R.L., Martinez-Viedma M.P., Montefiori D.C., Carville A., Aldovini A. Resistance to infection, early and persistent suppression of Simian Immunodeficiency Virus SIV_{mac251} viremia and significant reduction of tissue viral burden after mucosal vaccination in female rhesus macaques. *J. Virol.* 2014; 88(1):212–24. DOI: 10.1128/jvi.02523-13.
 27. Marthas M.L., Van Rompay K.K., Abbott Z., Earl P., Buonocore-Buzzelli L., Moss B., Rose N., Rose J., Kozlowski P.A., Abel K. Partial efficacy of a VSV-SIV/MVA-SIV vaccine regimen against oral SIV challenge in infant macaques. *Vaccine*. 2011; 29(17):3124–37. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.02.051.
 28. Van Rompay K.K.A., Abel K., Earl P., Kozlowski P.A., Easlik J., Moore J., Buonocore-Buzzelli L., Schmidt K.A., Wilson R.L., Sison I., Moss B., Rose N., Rose J., Marthas M.L. Immunogenicity of viral vector prime-boost SIV vaccine regimens in infant rhesus macaques: attenuated vesicular stomatitis virus (VSV) and modified vaccinia Ankara (MVA) recombinant SIV vaccines compared to live-attenuated SIV. *Vaccine*. 2010; 28(6):1481–92. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.11.061.
 29. Berkley S.F., Koff W.C. Scientific and policy challenges to development of an AIDS vaccine. *Lancet*. 2007; 370:94–101. DOI: 10.1016/S0140-6736(07)61054-X.

Authors:

Stovba L.F., Krotkov V.T., Pavel'ev D.I., Mel'nikov S.A., Lebedev V.N., Borisevich S.V. 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation. Sergiev Possad, Russian Federation.

Об авторах:

Стובה Л.Ф., Кротков В.Т., Павельев Д.И., Мельников С.А., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. 48 Центральный научно-исследовательский институт Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, Сергиев Посад. E-mail: 48cnii@mail.ru.

Поступила 19.11.18.

Отправлена на доработку 24.01.19.

Принята к публ. 08.02.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-45-49

УДК 616.993(470)

Н.Ф. Василенко, О.В. Малецкая, Д.А. Прислегина, Е.А. Манин, О.В. Семенко, Л.И. Шапошникова, А.С. Волынкина, Я.В. Лисицкая, Т.В. Таран, Н.Г. Варфоломеева, Е.В. Герасименко, А.Н. Куличенко

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫХ ИНФЕКЦИЙ НА ЮГЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ В 2017 г.

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

Цель. Анализ эпизоотических проявлений природно-очаговых инфекций на территории юга европейской части России в 2017 г. **Материалы и методы.** Использованы донесения, представленные Управлениями Роспотребнадзора, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Южного и Северо-Кавказского федеральных округов, научно-исследовательскими противочумными институтами и противочумными станциями. Обработку полученных данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2010. **Результаты и обсуждение.** Проведено эпизоотологическое обследование территории юга европейской части России по 19 нозологическим формам природно-очаговых инфекций. Всего изучено 70155 проб полевого материала, выявлены маркеры возбудителей 14 нозологических форм. Циркуляция вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки установлена в 11 субъектах; возбудителей туляремии и клещевого боррелиоза – в 8; вируса Западного Нила – в 7; маркеры возбудителей лептоспироза, Ку-лихорадки, гранулоцитарного анаплазмоза и моноцитарного эрлихиоза человека – в 6; возбудителя геморрагической лихорадки с почечным синдромом – в 5; маркеры возбудителя кишечного иерсиниоза – в 3; возбудителей группы клещевых пятнистых лихорадок, клещевого вирусного энцефалита и псевдотуберкулеза – в 2 субъектах. В Ростовской области подтверждена циркуляция вируса Синдбис.

Ключевые слова: эпизоотологический мониторинг, природно-очаговые инфекции, нозологическая форма, маркеры возбудителей, субъекты юга России.

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

Для цитирования: Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Манин Е.А., Семенко О.В., Шапошникова Л.И., Волынкина А.С., Лисицкая Я.В., Таран Т.В., Варфоломеева Н.Г., Герасименко Е.В., Куличенко А.Н. Эпизоотологический мониторинг природно-очаговых инфекций на территории юга европейской части России в 2017 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:45–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-45-49

N.F. Vasilenko, O.V. Maletskaya, D.A. Prislegina, E.A. Manin, O.V. Semenko, L.I. Shaposhnikova, A.S. Volynkina, Ya.V. Lisitskaya, T.V. Taran, N.G. Varfolomeeva, E.V. Gerasimenko, A.N. Kulichenko

Epizootiological Monitoring of Natural Focal Infections in the South of the European Part of the Russian Federation in 2017

Stavropol Research Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Objective – analysis of epizootiological manifestations of natural focal infections in the territory of the south of the European part of the Russian Federation in 2017. **Materials and methods.** Statistical documentation data from the Rospotrebnadzor Administrations, Centers of Hygiene and Epidemiology in the constituent entities of the Russian Federation, and Plague Control Research Institutes and Stations were used. The information was processed using Microsoft Excel 2010 software. **Results and discussion.** Epizootiological survey for 19 nosological forms of natural focal infections in the territory of the south of the European part of the Russian Federation was conducted. The total of 70155 samples of field material was tested; markers of 14 pathogens of natural focal infections were identified. The circulation of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus was revealed in 11 constituent entities, tularemia and Lyme borreliosis pathogens – in 8 entities, West Nile virus – in 7. Markers of leptospirosis, Q fever, human granulocytic anaplasmosis and human monocytic ehrlichiosis pathogens were detected in 6 constituent entities, markers of the agent of hemorrhagic fever with renal syndrome – in 5 entities; markers of intestinal yersiniosis pathogen – in 3 constituent entities of the Russian Federation, pathogens of tick spotted fevers group, tick-borne viral encephalitis and pseudotuberculosis – in 2. The circulation of the virus Sindbis was identified in the Rostov Region.

Key words: epizootiological monitoring, natural focal infections, nosological form, markers of pathogens, constituent entities of the South of Russia.

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

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

Citation: Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Prislegina D.A., Manin E.A., Semenko O.V., Shaposhnikova L.I., Volynkina A.S., Lisitskaya Ya.V., Taran T.V., Varfolomeeva N.G., Gerasimenko E.V., Kulichenko A.N. Epizootiological Monitoring of Natural Focal Infections in the South of the European Part of the Russian Federation in 2017. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:45–49. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-45-49

Received 10.10.18. Revised 05.12.18. Accepted 11.02.19.

В современных условиях быстрого и существенного изменения различных природных процессов, связанных с трансформацией климата и антропо-

генным преобразованием территорий, мониторинг природно-очаговых инфекций (ПОИ) становится особенно актуальным [1–9]. В последние годы от-

мечаются довольно активные миграционные процессы населения и вселение людей без иммунитета в различные зоны природных очагов, регистрируются вспышки не только широко распространенных, но и редких в прошлом инфекционных болезней. Кроме того, отмечаются массовые эпизоотии относительно новых инфекций [10–13]. Для человека, попадающего на территорию с повышенной эпизоотичностью, опасность заражения остается по-прежнему высокой. Поэтому информация об энзоотичных территориях и лоймопотенциале (активности) очагов чрезвычайно важна для проведения своевременных профилактических мероприятий, она должна стать неотъемлемой частью комплексной оценки и формирования здоровой среды жизни региона [14–18].

Территория юга европейской части России (Южный федеральный округ – ЮФО, Северо-Кавказский федеральный округ – СКФО) является эндемичной по широкому спектру природно-очаговых инфекций бактериальной и вирусной природы [19, 20], поэтому в субъектах ЮФО и СКФО проводится ежегодный эпизоотологический мониторинг с целью оценки лоймопотенциала очагов и своевременного проведения профилактических мероприятий.

Цель данной работы – анализ эпизоотических проявлений природно-очаговых инфекций на территории юга европейской части России в 2017 г.

Материалы и методы

Для проведения анализа эпизоотических проявлений ПОИ использованы еженедельные и окончательные донесения, представленные Управлениями Роспотребнадзора, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах ЮФО и СКФО, научно-исследовательскими противочумными институтами и противочумными станциями. Обработку полученных данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2010.

Результаты и обсуждение

В течение последних 20 лет одной из актуальных природно-очаговых инфекций на территории юга европейской части России, включающей два федеральных округа – Южный и Северо-Кавказский, остается (с момента активизации природного очага в 1999 г.) Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ), где в период 1999–2017 гг. эпидемические проявления зарегистрированы в 9 из 15 субъектов [21]. В 2017 г. зарегистрировано 79 больных КГЛ и 4 летальных исхода [22].

Результаты проведенного эпизоотологического мониторинга возбудителя КГЛ на территории всех субъектов СКФО и ЮФО свидетельствует о сохраняющейся высокой активности природного очага этой инфекции. Всего исследовано 8858 проб полевого материала, маркеры вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) выявлены в 11 субъектах юга России (в 2016 г. – в 10). В целом, инфицированность полевого материала по сравнению с предыду-

щим годом возросла незначительно (в 1,2 раза).

Однако в Ставропольском крае вирусофорность иксодовых клещей возросла в 2,8 раза, а инфицированность основного резервуара и переносчика вируса ККГЛ клеща *Hyalomma marginatum* – в 4,6. В Карачаево-Черкесской Республике (КЧР) зараженность клещей составила 67 %, а в 2015–2016 гг. маркеры вируса ККГЛ не выявлялись. В 1,6 раза повысилась инфицированность клещей в Республике Дагестан, в 5,8 – в Республике Ингушетия, в 2,8 – в Астраханской области. В Республике Крым зараженность полевого материала составила 5,5 %, а в 2016 г. положительных проб не получено. Отмечено снижение инфицированности полевого материала в Волгоградской (в 3,6 раза) и Ростовской (в 1,7 раза) областях.

Напряженная эпидемиолого-эпизоотологическая обстановка сохраняется по клещевому боррелиозу (КБ). Количество выявленных случаев заболевания Лайм-боррелиозом, по сравнению с 2016 г., увеличилось в 1,5 раза, всего зарегистрировано 311 больных. Из девяти обследованных субъектов юга России маркеры возбудителя КБ не обнаружены только в КЧР (как и в 2016 г.). Инфицированность полевого материала на юге России составила 25,6 %, а в 2016 г. – 17,8. Отмечено повышение зараженности полевого материала в 1,3 раза в Ставропольском крае, в 1,7 в Ростовской области, в 1,5 раза в Республике Крым. В Ставропольском крае 46,2 % положительных проб выявлено в курортном городе Кисловодске. В Краснодарском крае в 23 (15 %) пулах клещей *Ixodes ricinus*, снятых с людей, выявлена 16S рРНК *Borrelia burgdorferi* s.l. при общей зараженности клещей 43,8 %. Эпизоотологический мониторинг возбудителя КБ показал сохраняющуюся высокую активность его природного очага на юге России.

В 2017 г. на юге европейской части России зарегистрировано 62 случая заболевания туляремией, что в 15,5 раз больше, чем в 2016 г. (4 случая). Количество случаев туляремии возросло преимущественно за счет вспышки этой инфекции в Ставропольском крае, где выявлено 49 случаев, квалифицированных как «вспышка туляремии» и преимущественно связанных с охотой на зайцев и пребыванием заболевших лиц в сельской местности на эндемичной территории (43 случая из 49). На наличие маркеров возбудителя туляремии на юге России исследована 20951 проба полевого материала, собранного на территории 13 субъектов (максимальное количество из всех нозологий). Положительные пробы составили 4 %, что находится на уровне 2016 г. (4,4 %). Самый высокий показатель инфицированности установлен в КЧР (67 %). В Волгоградской области зараженность полевого материала возбудителем туляремии составила 24,7 %, а в Ставропольском крае – 13,3.

Наиболее обширное эпизоотологическое обследование природного очага лептоспироза проведено в Краснодарском крае (в 25 административных районах и городах Сочи, Геленджик и Новороссийск). Исследовано 1983 пробы органов мышевидных грызунов и 35 проб от собак. Маркеры *Leptospira interrogans* выявлены в 23 пробах: 14 проб от мыше-

видных грызунов и 9 проб от собак. Положительные пробы в 2017 г. составили 1,1 %, а в 2016 г. – 16,6 %.

В Ставропольском крае инфицированность мелких млекопитающих лептоспирами, по сравнению с 2016 г., возросла в 2,2 раза и составила 4,9 %. В Республике Калмыкия положительные пробы составили 2,3 % (в 2016 г. маркеры возбудителя лептоспироза не выявлялись). Отмечено снижение инфицированности грызунов в 1,8 раза в Волгоградской области и Республике Крым, в 1,7 раза – в Астраханской области. В Ростовской области, Республике Адыгея и Кабардино-Балкарской Республике (КБР) маркеры возбудителя лептоспироза не выявлены. В остальных субъектах юга России обследование не проводилось. Всего исследовано 6482 пробы полевого материала, положительные пробы составили 1,6 %, а в 2016 г. – 5,2. Количество зарегистрированных случаев заболевания лептоспирозом на юге России в 2017 г., по сравнению с 2016 г., сократилось почти в 1,5 раза и практически вернулось к уровню 2015 г. (2015 г. – 41; 2016 г. – 57; 2017 – 39).

Эпизоотологический мониторинг в природных очагах геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) показал, что наиболее интенсивными эпизоотические проявления ГЛПС были, как и в предыдущие годы, в Краснодарском крае, где в основном регистрируется заболеваемость этой инфекцией (за последние 5 лет – 52 случая, в 2017 г. – 9). Отмечено возрастание зараженности грызунов хантавирусами в Волгоградской области и Республике Адыгея. В целом по югу России инфицированность мышевидных грызунов ниже предыдущего года в 1,7 раза.

На наличие маркеров возбудителя лихорадки Западного Нила (ЛЗН) исследовано 9074 пробы полевого материала, выявлено 29 положительных проб, в том числе по 9 в Ставропольском крае и Ростовской области, 5 – в Республике Калмыкия, 3 – в Волгоградской области, по 1 пробе – в Краснодарском крае, Астраханской области и Республике Дагестан. Инфицированность полевого материала вирусом Западного Нила находится на уровне 2016 г. (0,3 %). Количество больных ЛЗН на юге России в 2017 г. (всего 2), по сравнению с 2016 г., уменьшилось в 16 раз.

Маркеры возбудителя Ку-лихорадки выявлены в шести субъектах из восьми обследованных. Наиболее высокая инфицированность полевого материала установлена в Республике Крым (100 %). В Краснодарском крае и Республике Дагестан отмечено возрастание зараженности иксодовых клещей, а в Ставропольском крае – снижение в 2,2 раза. В последние годы на юге России отмечается ежегодное увеличение количества зарегистрированных случаев заболевания людей Ку-лихорадкой (2016 г. – 95, 2017 г. – 140), что, по нашему мнению, связано не только с активностью природного очага, но и с улучшением лабораторной диагностики.

Эпизоотологическое обследование на наличие маркеров клещевого вирусного энцефалита (КВЭ) проводилось в восьми субъектах юга России. Всего изучено 3394 пробы полевого материала, положительных – 51 (1,5 %), в 2016 г. – 1,8 %. Маркеры ви-

руса клещевого энцефалита в 2017 г. обнаружены в двух субъектах юга России: в Краснодарском крае – 1 проба методом ПЦР, в Республике Дагестан – 50 проб методом ИФА. В 2017 г. на юге России зарегистрировано 3 случая заболевания людей клещевым вирусным энцефалитом: 1 случай в Республике Крым (присасывание клеща в лесу), 2 завозных случая в Краснодарском крае (присасывание клеща в Челябинской области и в Алтайском крае). В 2016 г. случаи заболевания КВЭ не выявлены.

Маркеры возбудителя кишечного иерсиниоза выявлены в трех субъектах юга России из шести обследованных: Краснодарском крае, граничащей с ним Республике Адыгея и в Республике Крым. Всего исследовано 3283 пробы, из них положительных – 39 (1,2 %). По сравнению с 2016 г., отмечено снижение инфицированности мышевидных грызунов *Yersinia enterocolitica* в 3,4 раза. Количество выявленных случаев заболевания кишечным иерсиниозом на юге России в 2017 г., по сравнению с 2016 г., уменьшилось в 1,7 раза, всего зарегистрировано 77 больных.

На наличие маркеров возбудителя псевдотуберкулеза исследовано 1946 проб, получено 8 (0,4 %) положительных результатов, что меньше в 6,8 раза по сравнению с предыдущим годом (2,7 %). Псевдотуберкулез на юге европейской части России регистрируется в основном в Краснодарском и Ставропольском краях на уровне спорадических случаев (в 2017 г. – 5 больных).

Эпизоотологическое обследование на наличие маркеров возбудителей клещевых пятнистых лихорадок (КПЛ) проводилось только в республиках Дагестан и Ингушетия. На территории обеих республик выявлены положительные пробы: в Республике Дагестан – 72,8 %, в Республике Ингушетия – 28,4. В 2016 г. инфицированность клещей составляла 67,3 %, исследования клещей на наличие маркеров возбудителей группы КПЛ проводились в республиках Дагестан и Крым, при этом положительные пробы выявлены только в Республике Дагестан.

Эпизоотологическое обследование на наличие возбудителей гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ) и моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ) проведено в Ставропольском и Краснодарском краях, Ростовской области, в Республиках Адыгея, Дагестан и Крым. Циркуляция возбудителей ГАЧ и МЭЧ установлена на территории всех обследованных субъектов юга России. На наличие маркеров возбудителя ГАЧ всего исследовано 2908 проб полевого материала, из них положительных – 318 (10,9 %), в 2016 г. – 8,1 %. Наиболее высокая инфицированность клещей возбудителем ГАЧ выявлена в Республике Дагестан – 83,4 %. Резко (в 7 раз) возросла зараженность клещей в Республике Крым, при этом максимальное число (43) положительных проб методом ПЦР выявлено в Симферопольском районе, из них 37 клещей сняты с человека.

На наличие маркеров возбудителя МЭЧ всего исследовано 2458 проб полевого материала, из них положительных – 52 (2,1 %), в 2016 г. – 7,3 %. Как и в предыдущем году, преобладающее количество по-

ложительных проб выделено в Ростовской области (48 %). В Республике Крым ДНК возбудителя МЭЧ выявлена в 12 пулах иксодовых клещей, при этом 10 клещей сняты с человека. В 2016 г. положительные пробы здесь не выявлялись. Заболеваемость населения ГАЧ и МЭЧ на юге России в 2017 г. не зарегистрирована.

В Ростовской области при исследовании полевого материала методом ИФА выявлен антиген вируса Синдбис в 4 (0,7 %) пробах: мыши домовой – 3 и жаворонка хохлатого – 1 проба. Инфицированность полевого материала находится на уровне предыдущего года (1 %).

В Краснодарском крае проведено эпизоотологическое обследование на наличие маркеров вирусов денге и Зика, в Ростовской области – вируса Батаи, в КБР – вируса Тягина, в республиках Калмыкия и Адыгея – возбудителя листериоза. Маркеры по данным нозологиям не выявлены.

Таким образом, в 2017 г. в субъектах ЮФО и СКФО проведен эпизоотологический мониторинг по 19 нозологическим формам природно-очаговых инфекций (в 2016 г. – по 18).

Циркуляция вируса ККГЛ установлена в 11 субъектах юга России (в 2016 г. – в 10), возбудителя туляремии – в 8 (как и в предыдущем году), возбудителя КБ – в 8 (в 2016 г. – в 7), вируса ЗН – в 7 (в 2016 г. – в 5). Маркеры возбудителей ГАЧ, МЭЧ, Кулихорадки и лептоспироза выявлены в 6 субъектах (в 2016 г. – в 5, 4, 6 и 5 соответственно). Циркуляция возбудителя ГЛПС установлена в 5 субъектах (как и в 2016 г.). В 3 субъектах обнаружены маркеры возбудителя кишечного иерсиниоза (как и в 2016 г.); в 2 субъектах – возбудителей группы КПЛ, КВЭ и псевдотуберкулеза (в 2016 г. – в 1, 4 и 3 соответственно). В Ростовской области подтверждена циркуляция вируса Синдбис.

Следует отметить, что в 2017 г. значительно увеличился объем исследованного полевого материала. Всего исследовано 70155 проб (в 2016 г. – 45615), что в 1,5 раза больше по сравнению с предыдущим годом.

Наибольшее количество полевого материала исследовано в Краснодарском крае – 12515 проб, что составило 17,8 % от всего количества. Большой объем исследований проведен в Республике Крым – 10787 проб (15,4 %), в Ростовской области – 9670 проб (13,8 %) и в Республике Калмыкия – 9625 проб (13,7 %).

На высоком уровне проведены исследования в Астраханской области (7118 проб), в Ставропольском крае (5293), в Республике Адыгея (4195) и Волгоградской области (4140).

На более низком уровне эпизоотологический мониторинг проводился в Республике Ингушетия (296 проб), в Карачаево-Черкесской (189) и Чеченской республиках (112).

Максимальное количество проб полевого материала исследовано на наличие маркеров возбудителей туляремии – 20951 проба (2016 г. – 11732), ЛЗН – 9074 (2016 г. – 4673), КГЛ – 8858 (2016 г. – 7279) и

лептоспироза – 6482 (2016 г. – 3171).

В 2017 г. на юге европейской части России при эпизоотологическом обследовании территории выявлены маркеры возбудителей 14 нозологических форм ПОИ (в 2016 г. – 15), преобладающее количество положительных проб получено при исследовании материала на туляремию (828), клещевой боррелиоз (794), Крымскую геморрагическую лихорадку (409) и гранулоцитарный анаплазмоз человека (318).

Таким образом, проведенный анализ эпизоотологической обстановки свидетельствует о сохраняющейся активности природных очагов бактериальных и вирусных инфекций, в связи с чем вопросы профилактики природно-очаговых инфекционных болезней и постоянного мониторинга их природных очагов в субъектах ЮФО и СКФО остаются по-прежнему актуальными. Для снижения лоймопотенциала очагов и уровня заболеваемости людей природно-очаговыми инфекциями необходимо совершенствование алгоритма эпизоотологического мониторинга, включающего системы информационного обеспечения на основе ГИС (ArcGIS), эпидемиологической диагностики, разработки и контроля управленческих решений, а также проведение широкомасштабной информационно-разъяснительной работы с населением.

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

Список литературы

1. Алексеев А.Н. Влияние глобального изменения климата на кровососущих эктопаразитов и передаваемых ими возбудителей болезней. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2006; 3:21–5.
2. Платонов А.Е. Влияние погодных условий на эпидемиологию трансмиссивных инфекций (на примере лихорадки Западного Нила в России). *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2006; 2:25–9.
3. Ястребов В.К., Рудаков Н.В., Шпынов С.Н. Трансмиссивные клещевые природно-очаговые инфекции в Российской Федерации: тенденции эпидемического процесса, актуальные вопросы профилактики. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск).* 2012; 111(4):91–3.
4. Ясюкевич В.В., Титкина С.Н., Попов И.О., Давидович Е.А., Ясюкевич Н.В. Климатозависимые заболевания и членистоногие переносчики: возможное влияние наблюдаемого на территории России изменения климата. *Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем.* 2013; 25:314–60.
5. Rizzoli A., Hauffe H.C., Carpi G., Vourch G., Neteler M., Rosà R. Lyme borreliosis in Europe. *Euro Surveill.* 2011; 16(27):pii=19906. DOI: 10.2807/ese.16.27.19906-en.
6. Platonov A.E., Fedorova M.V., Karan L.S., Shopenskaya T.A., Platonova O.V., Zhuravlev V.I. Epidemiology of West Nile infection in Volgograd, Russia, in relation to climate change and mosquito (Diptera: Culicidae) bionomics. *Parasitol. Res.* 2008; 103(1):45–53. DOI: 10.1007/s00436-008-1050-0.
7. Bente D.A., Forrester N.L., Watts D.M., McAuley A.J., Whitehouse C.A., Bray M. Crimean-Congo hemorrhagic fever: history, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Res.* 2013; 100(1):159–89. DOI: 10.1016/j.antiviral.2013.07.006.
8. Mills J.N., Gage K.L., Khan A.S. Potential influence of climate change on vector-borne and zoonotic diseases: a review and proposed research plan. *Environ. Health Perspect.* 2010; 118(11):1507–14. DOI: 10.1289/ehp.0901389.
9. Ostfeld R.S., Brunner J.L. Climate change and Ixodes tick-borne diseases of humans. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Sci.* 2015; 370(1665):1–11. DOI: 10.1098/rstb.2014.0051.
10. Истомин А.В. Региональный мониторинг природно-очаговых инфекций. *Псковский региональный журнал.* 2006; 1:122–35.
11. Злобин В.И., Рудаков Н.В., Малов И.В. Клещевые трансмиссивные инфекции. Новосибирск: Наука; 2015. 224 с.

12. Рудаков Н.В., Ястребов В.К., Рудакова С.А. Трансмиссивные клещевые инфекции в Российской Федерации. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2015; 27:6–9.
13. Messina J.P., Pigott D.M., Golding N., Duda K.A., Brownstein J.S., Weiss D.J., Gibson H., Robinson T.P., Gilbert M., Wint G.R., Nuttall P.A., Gething P.W., Myers M.F., George D.B., Hay S.I. The global distribution of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2015; 109(8):503–13. DOI: 10.1093/trstmh/trv050.
14. 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.
15. Agravat V.J., Agarwal S., Piparva K.G. Crimean-Congo haemorrhagic fever: an overview. *Int. J. Res. Med. Sci.* 2014; 2(2):392–7.
16. Maltezos H.C., Andonova L., Andraghetti R., Bouloy M., Ergonul O., Jongejan F., Kalvatchev N., Nichol S., Niedrig M., Platonov A., Thomson G., Leitmeyer K., Zeller H. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Euro Surveill.* 2010; 15(10):19504.
17. Sakamoto J.M. Progress, challenges, and the role of public engagement to improve tick-borne disease literacy. *Curr. Opin. Insect. Sci.* 2018; 28:81–9. DOI: 10.1016/j.cois.2018.05.011.
18. Sprong H., Azagi T., Hoornstra D., Nijhof A.M., Knorr S., Baarsma M.E., Hovius J.W. Control of Lyme borreliosis and other Ixodes ricinus-borne diseases. *Parasit. Vectors.* 2018; 11(1):145. DOI: 10.1186/s13071-018-2744-5.
19. Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Манин Е.А., Прислегина Д.А., Таран Т.В., Дубянский В.М., Шапошникова Л.И., Волинкина А.С., Лисицкая Я.В., Котенев Е.С., Гризhevский Г.М., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым инфекционным болезням на территории Северо-Кавказского федерального округа в 2015 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 4:15–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-15-19.
20. Дворцова И.В., Москвитина Э.А., Романова Л.В., Пичурина Н.Л., Орехов И.В., Забашта М.В., Савченко А.П. Сочетанные очаги «клещевых» природно-очаговых инфекций и микст-инфицированность на примере Ростовской области. *Пест-менеджмент*. 2015; 3:14–8.
21. Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Манин Е.А., Прислегина Д.А., Волинкина 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.
22. Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Таран Т.В., Прислегина Д.А., Манин Е.А., Семенко О.В., Куличенко А.Н. Анализ заболеваемости природно-очаговыми инфекциями на юге европейской части России в 2017 году. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019; 2:44–50.
23. Alekseev A.N. [The effects of global climatic changes on bloodsucking ectoparasites and pathogens they transmit]. *Vestnik Rossijskoj Akademii Medicinskih Nauk [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2006; 3:21–5.
24. Platonov A.E. [The influence of weather conditions on the epidemiology of vector-borne diseases by the example of West Nile Fever in Russia]. *Vestnik Rossijskoj Akademii Medicinskih Nauk [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2006; 2:25–9.
25. Yastrebov V.K., Rudakov N.V., Shpynov S.N. [Transmissible tick-borne natural focal infections in the Russian Federation: trends of the epidemiological process, topical prophylaxis issues]. *Sibirskii meditsinskii zhurnal (Irkutsk) [Siberian Medical Journal (Irkutsk)]*. 2012; 4:91–3.
26. Yasyukevich V.V., Titkina S.N., Popov I.O., Davidovich E.A., Yasyukevich N.V. [Climate-dependent diseases and arthropod vectors: possible impact of the witnessed in the Russian Federation climate change]. *Problemy Ekologicheskogo Monitoringa i Modelirovaniya Ekosistem [Problems of Ecological Monitoring and Modeling of Ecosystems]*. 2013; 25: 314–360.
27. Rizzoli A., Hauffe H.C., Carpi G., Vourch G., Neteler M., Rosà R. Lyme borreliosis in Europe. *Euro Surveill.* 2011; 16(27):pii=19906. DOI: 10.2807/ese.16.27.19906-en.
28. Platonov A.E., Fedorova M.V., Karan L.S., Shopenskaya T.A., Platonova O.V., Zhuravlev V.I. Epidemiology of West Nile infection in Volgograd, Russia, in relation to climate change and mosquito (Diptera: Culicidae) bionomics. *Parasitol. Res.* 2008; 103(1):45–53. DOI: 10.1007/s00436-008-1050-0.
29. Bente D.A., Forrester N.L., Watts D.M., McAuley A.J., Whitehouse C.A., Bray M. Crimean-Congo hemorrhagic fever: history, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Res.* 2013; 100(1):159–89. DOI: 10.1016/j.antiviral.2013.07.006.
30. Mills J.N., Gage K.L., Khan A.S. Potential influence of climate change on vector-borne and zoonotic diseases: a review and proposed research plan. *Environ. Health Perspect.* 2010; 118(11):1507–14. DOI: 10.1289/ehp.0901389.
31. Ostfeld R.S., Brunner J.L. Climate change and Ixodes tick-borne diseases of humans. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Sci.* 2015; 370(1665):1–11. DOI: 10.1098/rstb.2014.0051.
32. Istomin A.V. [Regional monitoring over natural-focal infections]. *Pskovsky Regionologicheskyy Zhurnal [Pskov Regionology Journal]*. 2006; 1:122–35.
33. Zlobin V.I., Rudakov N.V., Malov I.V. [Tick-borne transmissible infections]. Novosibirsk: Nauka; 2015. 224 p.
34. Rudakov N.V., Yastrebov V.K., Rudakova S.A. [The transmissible tick-borne infections in Russian Federation]. *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii [The Far-Eastern Journal of Infectious Pathology]*. 2015; 27:6–9.
35. Messina J.P., Pigott D.M., Golding N., Duda K.A., Brownstein J.S., Weiss D.J., Gibson H., Robinson T.P., Gilbert M., Wint G.R., Nuttall P.A., Gething P.W., Myers M.F., George D.B., Hay S.I. The global distribution of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2015; 109(8):503–13. DOI: 10.1093/trstmh/trv050.
36. Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Prislegina D.A., Vasilenko N.F., Taran T.V., Semenko O.V., Manin E.A., Dubyansky V.M. [Epidemiological Situation on Natural-Focal Infectious Diseases in the South and North-Caucasian Federal Districts in 2017 (Analytical Review)]. Stavropol; 2018. 112 p.
37. Agravat V.J., Agarwal S., Piparva K.G. Crimean-Congo haemorrhagic fever: an overview. *Int. J. Res. Med. Sci.* 2014; 2(2):392–7.
38. Maltezos H.C., Andonova L., Andraghetti R., Bouloy M., Ergonul O., Jongejan F., Kalvatchev N., Nichol S., Niedrig M., Platonov A., Thomson G., Leitmeyer K., Zeller H. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Euro Surveill.* 2010; 15(10):19504.
39. Sakamoto J.M. Progress, challenges, and the role of public engagement to improve tick-borne disease literacy. *Curr. Opin. Insect. Sci.* 2018; 28:81–9. DOI: 10.1016/j.cois.2018.05.011.
40. Sprong H., Azagi T., Hoornstra D., Nijhof A.M., Knorr S., Baarsma M.E., Hovius J.W. Control of Lyme borreliosis and other Ixodes ricinus-borne diseases. *Parasit. Vectors.* 2018; 11(1):145. DOI: 10.1186/s13071-018-2744-5.
41. Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Manin E.A., Prislegina D.A., Taran T.V., Dubyansky V.M., Shaposhnikova L.I., Volynkina A.S., Lisitskaya Ya.V., Kotenev E.S., Grizhevsky G.M., Kulichenko A.N. [Epidemiological situation on natural-focal infectious diseases in the territory of the North-Caucasian Federal District in 2015]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 4:15–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-15-19.
42. Dvortsova I.V., Moskvitina E.A., Romanova L.V., Pichurina N.L., Orekhov I.V., Zhabashta M.V., Savchenko A.P. [Combined foci of tick-borne natural-focal infections and mixed infection by the example of the Rostov Region]. *Pest-Management*. 2015; 3:14–8.
43. 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 aggravation of epidemiological situation on Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Russian Federation in 2016]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology]*. 2017; 5: 17–23.
44. Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Taran T.V., Prislegina D.A., Manin E.A., Semenko O.V., Kulichenko A.N. [Analysis of the incidence of natural-focal infections in the south of the European part of Russia in 2017]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology]*. 2019; 2:44–50.

Authors:

Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Prislegina D.A., Manin E.A., Semenko O.V., Shaposhnikova L.I., Volynkina A.S., Lisitskaya Ya.V., Taran T.V., Varfolomeeva N.G., Gerasimenko E.V., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Манин Е.А., Семенко О.В., Шапошникова Л.И., Волинкина А.С., Лисицкая Я.В., Таран Т.В., Варфоломеева Н.Г., Герасименко Е.В., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Поступила 10.10.18.

Отправлена на доработку 05.12.18.

Принята к публ. 11.02.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-50-54

УДК 616.98:579.842.23

Л.Г. Дудина^{1,2}, М.А. Малкова^{1,2}, А.В. Чернядьев¹, С.Г. Литвинец¹, А.А. Бывалов^{1,2}**ВЛИЯНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ БАКТЕРИОФАГОВ И ГЕНТАМИЦИНА НА МОРФОЛОГИЮ И ВЕЗИКУЛООБРАЗОВАНИЕ БАКТЕРИЙ *YERSINIA PESTIS* EV**¹Вятский государственный университет, Киров, Российская Федерация; ²Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Российская Федерация

Цель – оценить влияние специфических бактериофагов и гентамицина на морфо-функциональные свойства бактерий вакцинного штамма *Yersinia pestis* EV. **Материалы и методы.** В работе использовали вакцинный штамм *Y. pestis* EV линии НИИЭГ, бактериофаги чумной Покровской и псевдотуберкулезный диагностический. Микробную культуру выращивали на плотной и в жидкой питательных средах при температуре 27 °С в течение 20–24 ч. Совместную инкубацию бактерий и бактериофага или гентамицина проводили при температуре 27 °С в течение 20 мин или 37 °С в течение 2 ч соответственно. Препараты культур исследовали методом просвечивающей электронной микроскопии. **Результаты и обсуждение.** Проведена оценка влияния условий культивирования и различных стрессорных факторов на процесс везикулообразования клетками вакцинного штамма *Y. pestis* EV. Определены характер и выраженность морфофункциональных изменений в клетках *Y. pestis* EV в ответ на воздействие бактериофагами (чумной Покровской и псевдотуберкулезный) или антибиотиком (гентамицин). Установлено, что совместная инкубация в течение 20 мин *Y. pestis* EV с бактериофагом Покровской или гентамицином приводит к увеличению продукции внеклеточных везикул и сопровождается развитием дегенеративных изменений бактериальных клеток.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, бактериофаг, антибиотикорезистентность, электронная микроскопия.

Корреспондирующий автор: Дудина Любовь Геннадьевна, e-mail: necdew@mail.ru.

Для цитирования: Дудина Л.Г., Малкова М.А., Чернядьев А.В., Литвинец С.Г., Бывалов А.А. Влияние специфических бактериофагов и гентамицина на морфологию и везикулообразование бактерий *Yersinia pestis* EV. Проблемы особо опасных инфекций. 2019; 2:50–54. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-50-54

L.G. Dudina^{1,2}, M.A. Malkova^{1,2}, A.V. Chernyad'ev¹, S.G. Litvinets¹, A.A. Byvalov^{1,2}**Effect of Bacteriophages and Gentamycine on Morphology and Vesicle Formation of Bacteria *Yersinia pestis* EV**¹Vyatka State University, Kirov, Russian Federation;²Komi Institute of Physiology at the Scientific Center of the Ural Branch of RAS, Syktывkar, Russian Federation

Abstract. Objective was to assess the effect of specific bacteriophages and gentamycine on the morphological-functional properties of bacteria in the vaccine strain *Yersinia pestis* EV. **Materials and methods.** The vaccine strain *Y. pestis* EV, Pokrovskaya bacteriophage and the pseudotuberculous diagnostic bacteriophage were used for the study. The microbial culture was grown on solid and in liquid growth media at 27 °C for 20–24 h. The co-incubation of bacteria and bacteriophage or gentamycine was carried out at 27 °C for 20 minutes or at 37 °C for 2 hours, respectively. Culture preparations were examined by transmission electron microscopy. **Results and discussion.** The influence of cultivation conditions and various stress factors on the vesicle production by the vaccine strain *Y. pestis* EV cells was evaluated. The nature and intensity of morphological-functional changes in *Y. pestis* EV cells in response to the effect of bacteriophages (plague Pokrovskaya and pseudotuberculous bacteriophages) or an antibiotic (gentamycine) were determined. It was established that co-incubation of *Y. pestis* EV with Pokrovskaya bacteriophage or gentamycine for 20 min leads to the increase in the production of extracellular vesicles and is accompanied by the development of degenerative changes in bacterial cells.

Key words: *Yersinia pestis*, bacteriophage, antibiotic resistance, electron microscopy.

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

Corresponding author: Lubov G. Dudina, e-mail: necdew@mail.ru.

Citation: Dudina L.G., Malkova M.A., Chernyad'ev A.V., Litvinets S.G., Byvalov A.A. Effect of Bacteriophages and Gentamycine on Morphology and Vesicle Formation of Bacteria *Yersinia pestis* EV. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2019; 2:50–54. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-50-54

Received 12.04.18. Revised 23.04.18. Accepted 12.02.19.

Наличие природных очагов чумы во многих регионах мира предопределяет возможность возникновения и эпидемического распространения этой инфекции. Более того, в последние годы наметилась тенденция к росту числа случаев заболевания чумой. Так, за неполные четыре месяца 2017 г. (август–сентябрь) на о. Мадагаскар зарегистрировано 2348 случаев заболевания, включая подтверж-

денные, вероятные и сомнительные, из которых 202 с летальным исходом [1]. Вместе с тем последние десятилетия характеризуются резким ростом антибиотикорезистентности возбудителей многих бактериальных инфекций, в том числе и чумы [2, 3, 4]. Учитывая такие особенности патогенеза чумы, как относительно короткий инкубационный период, стремительное развитие симптомов заболе-

вания, а также высокую смертность и контагиозность возбудителя, вопросы выбора эффективной схемы лечения имеют принципиальное значение для предупреждения смертельного исхода болезни и эпидемического распространения инфекции. В этой связи, применительно к таким особо опасным бактериальным инфекциям как чума, становится особенно актуальным поиск альтернативных антибиотикопрофилактике или дополняющих ее подходов, основанных на применении специфических бактериофагов. С наступлением эры антибиотиков утраченный во второй трети XX в. интерес к фаготерапии сейчас начинает активно восстанавливаться. Это выражается, в частности, в проведении исследований, направленных на изучение эффективности фаготерапии в модельных опытах, фармакокинетики фагов, их цитотоксичности в отношении клеток макроорганизма, на исследование механизмов взаимодействия «бактерия – бактериофаг» [5].

Везикулообразование является достаточно универсальной и многофункциональной физиологической особенностью бактерий, интенсивность которой усиливается в стрессовых для микроба условиях. Продукция везикул признается одним из эффективных механизмов агрессии бактерий в отношении клеток хозяина, но, в то же время, это и способ защиты патогена от действия факторов внешней среды [6, 7]. Недавно установлена способность вирулентных бактерий *Yersinia pestis* образовывать внеклеточные везикулы [8, 9], однако их значимость в жизнедеятельности данного возбудителя практически не исследована. Изучение процесса везикулообразования у *Y. pestis* в разнообразных стрессовых условиях открывает перспективу понимания молекулярных механизмов, участвующих в реализации патогенности возбудителя чумы, и поиска эффективных средств терапии и профилактики этой опасной болезни.

Целью настоящей работы явилась оценка влияния специфических бактериофагов и гентамицина на морфофункциональные свойства бактерий вакцинного штамма *Y. pestis* EV.

Материалы и методы

В работе использованы культуры *Y. pestis* вакцинного штамма EV линии НИИЭГ, бактериофаги чумной Покровской и псевдотуберкулезный диагностический, полученные из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Микробную культуру выращивали на плотной (на основе БТН-агара производства «Биотехновация», Россия) и жидкой (на основе солянокислотного гидролизата казеина производства ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) питательных средах при температуре 27 °С в течение 20–24 ч. Совместную инкубацию бактерий ($\sim 1 \cdot 10^9$ м.к./мл) и бактериофага ($\sim 1 \cdot 10^9$ БОЕ/мл) или гентамицина (20 мкг/мл) (Борисовский завод медицинских препара-

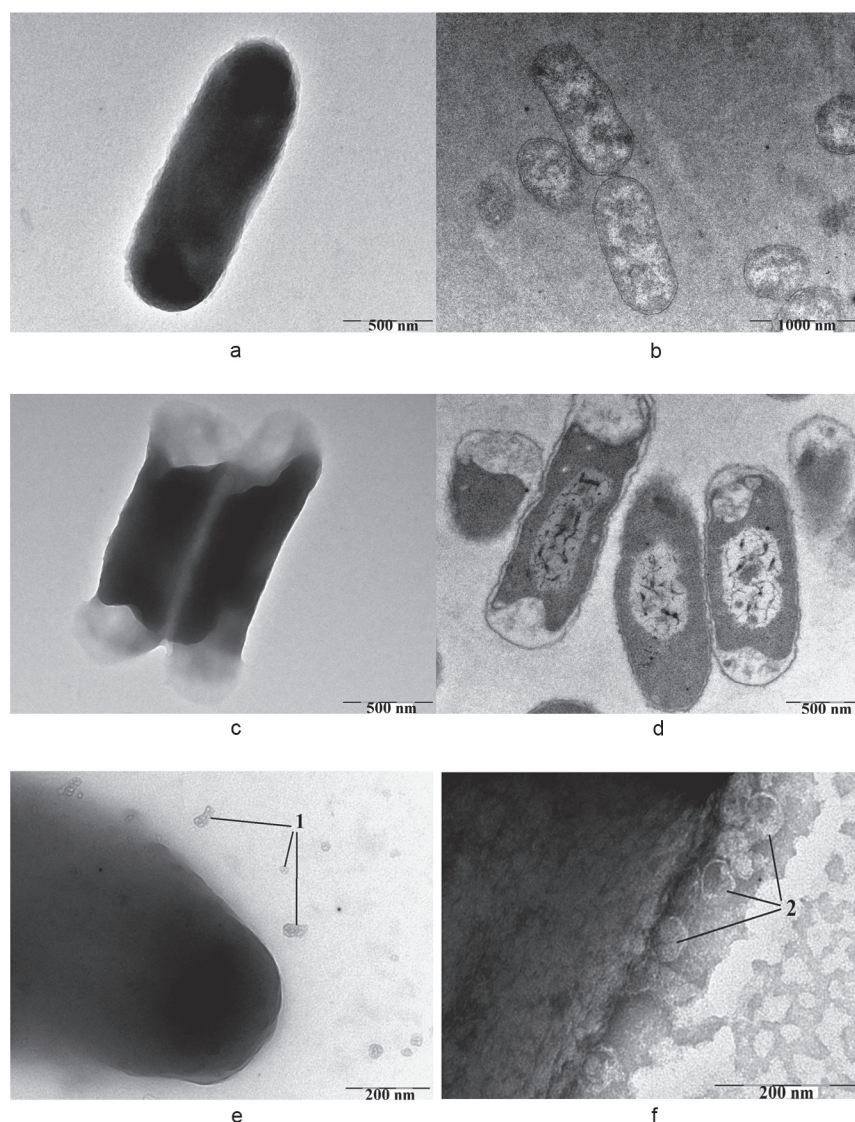
ратов, Беларусь) проводили при температуре 27 °С в течение 20 мин или температуре 37 °С в течение 2 ч соответственно. Эти препараты, а также контрольные препараты (интактные, необработанные бактерии) фиксировали 2,5 % глутаровым альдегидом («Sigma-Aldrich», США) и исследовали методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ) в негативно окрашенном (2 % уранилацетат, «Sigma-Aldrich», США) и неокрашенном виде. Ультратонкие срезы контрастировали в растворе уранилацетата и азотнокислого свинца («Sigma-Aldrich», США) по E.S. Reynolds [10]. Снимки получали на электронном микроскопе JEM-2100 («Jeol», Япония) при ускоряющем напряжении 160 кВ. За клетки, образующие везикулы, принимали такие, на теле которых и/или в непосредственной близости вокруг них выявлялись отдельные везикулы и/или их агрегаты.

Результаты и обсуждение

В ходе предварительных исследований установлено, что клетки вакцинного штамма *Y. pestis* EV при выращивании на плотной и жидкой питательных средах способны экскретировать во внеклеточное пространство везикулы размером 8–120 нм. Однако доля везикулообразующих клеток оказалась низкой – как правило, значительно меньше 10 %.

Результаты электронно-микроскопического исследования препаратов показали, что для контрольной, не обработанной бактериофагом или антибиотиком, поверхностной культуры *Y. pestis* EV характерна морфологическая однородность бактериальных клеток, имеющих типичную цилиндрическую форму с закругленными концами (рисунок, а). У небольшой части популяции на поверхности клеток отмечали тонкий неравномерный слой матрикса, часто фрагментарный. Наличие везикул регистрировали лишь у малой части клеток. Культуры нередко содержали небольшие плотные агрегаты бактерий. На ультратонких срезах видно, что клеточная стенка не имеет выраженной извилистости, протоплазма относительно однородная во всем объеме клетки, нуклеоид не выделен, периплазматическое пространство равномерное, выраженных включений или вакуолизации не отмечено (рисунок, б).

После 20 мин инкубации поверхностной культуры *Y. pestis* EV с бактериофагом Покровской большинство бактерий значительно изменило свои размеры (таблица) и морфологию. Появились клетки с «обрубленными» концами, пустотами на полюсах и выраженной бугристостью поверхности (рисунок, с, d). Слой матрикса на клетках был рыхлым и неоднородным и мало отличался от контроля. Выявлено некоторое повышение, по сравнению с контролем, доли клеток, продуцирующих везикулы (рисунок, е). Свободно лежащие в культуре фаговые частицы обнаруживались крайне редко, однако, в нескольких случаях зафиксированы клетки, достаточно густо покрытые фаговыми частицами (рисунок, f). Очевидно,



Просвечивающая электронная микроскопия клеток штамма *Y. pestis* EV: *a, b* – intactных, *c, d, e, f* – обработанных бактериофагом Покровской; *a, b, c, d* – бактерии выращены на плотной, *e, f* – жидкой питательных средах; *1* – везикулы, *2* – фаговые частицы

Transmission electron microscopy of the cells of *Y. pestis* EV strain: *a, b* – intact ones, *c, d, e, f* – treated with Pokrovskaya bacteriophage; *a, b, c, d* – bacteria were grown on solid medium, *e, f* – on liquid medium; *1* – vesicles, *2* – phage particles

это вторичная генерация фаговых частиц, высвободившихся из разрушенной клетки и адгезировавших на соседней, до этого неинфицированной клетке. Для осуществления полного цикла лизиса очень малой доли клеток оказалось достаточно 20 мин инкубирования бактерий со специфическим фагом. На это указывает и появление мертвых бактерий в виде пустых оболочек. На ультратонких срезах хорошо видны изменения морфологии бактерий – повышенная извилистость клеточной стенки, просветление в области нуклеоида, более плотная протоплазма, часто с гранулами электронно-прозрачных включений. Цитоплазма таких клеток отходит (обычно на полюсах) от клеточной стенки с образованием крупных округлых просветлений (рисунок, d).

Инкубация культуры *Y. pestis* EV с псевдотуберкулезным диагностическим бактериофагом, который, по результатам наших предварительных исследований, эффективно лизирует бактерии чумного микроба, приводила к аналогичным, но менее выраженным изменениям морфологии клеток.

Интakтные клетки (контроль) *Y. pestis* EV глубинной культуры практически не отличались по

морфологической картине от клеток, выращенных на плотной питательной среде. Но отмечено, что глубинные культуры характеризовала несколько большая длина клеток (таблица), содержание делящихся бактерий и меньшая склонность к агрегации. Однако при взаимодействии с бактериофагом Покровской у глубинных культур не выявлено столь резкого изменения морфологии клеток. Большинство клеток в меньшей степени изменили свои характерные форму и размеры, отличие в основном проявилось в более выраженной активизации процесса везикулообразования (таблица) и появлении мертвых бактерий, представленных пустыми оболочками клеток, как в результате выхода вторичных фаговых частиц. Инкубация с псевдотуберкулезным бактериофагом бактерий, выращенных в жидкой питательной среде, не вызвала повышения уровня везикулообразования.

При инкубировании глубинной культуры *Y. pestis* EV в присутствии антибиотика гентамицина, эффективного при лечении чумы, наблюдали уменьшение длины клеток без резко выраженных изменений иных морфологических особенностей бактерий и

Влияние иерсиниозных бактериофагов и гентамицина на размеры клеток *Y. pestis* EV и уровень везикулообразования
Effect of Yersinia bacteriophages and gentamycine on the size of *Y. pestis* EV cells and the level of vesicle production

Питательная среда / Nutrient medium	Оцениваемый параметр / Estimated parameter	Интактные клетки (контроль) / Intact cells (control)	Клетки с фагом Покровской / Cells with Pokrovskaya phage	Клетки с фагом псевдотуберкулезным / Cell with pseudotuberculosis phage	Клетки с гентамицином / Cells with gentamycine
Плотная / Solid	Длина клеток, $X \pm I_{95}$, мкм / Length of cells, $X \pm I_{95}$, μm	1,51 $\pm$ 0,11 (n=128)	1,04 $\pm$ 0,07* (n=187)	1,13 $\pm$ 0,08* (n=88)	Не определяли / Not determined
	Содержание клеток с везикулами, $X \pm m$, % / Content of cells with vesicles, $X \pm m$, %	7,8 $\pm$ 2,2 (n=143)	10,3 $\pm$ 2,2* (n=195)	14,7 $\pm$ 3,6* (n=95)	Не определяли / Not determined
Жидкая / Liquid	Длина клеток, $X \pm I_{95}$, мкм / Length of cells, $X \pm I_{95}$, μm	1,94 $\pm$ 0,15 (n=165)	1,67 $\pm$ 0,10* (n=223)	1,68 $\pm$ 0,10* (n=172)	1,64 $\pm$ 0,18* (n=52)
	Содержание клеток с везикулами, $X \pm m$, % / Content of cells with vesicles, $X \pm m$, %	4,6 $\pm$ 2,5 (n=208)	17,7 $\pm$ 2,5* (n=231)	4,6 $\pm$ 1,8 (n=131)	7,4 $\pm$ 3,6 (n=54)

* Различия со значением соответствующего параметра для интактных клеток достоверно ($p < 0,05$).

* The difference with the value of the corresponding parameter for intact cells is reliable ($p < 0,05$).

степени везикулообразования (таблица).

Известно, что внеклеточные везикулы грамотрицательных бактерий играют важную роль во взаимодействии патогенов с организмом хозяина. Молекулярный профиль внеклеточных везикул, наряду с другими факторами, определяет способность патогена противостоять агрессивной среде макроорганизма [8]. Экспериментально установленное влияние различных внешних воздействий на качественные и количественные характеристики везикулообразования [11, 12] делает возможным направленное получение везикул с определенным составом. В литературе обсуждается возможность влияния на процесс везикулообразования у микроорганизмов воздействием целого ряда стрессорных факторов [13]. Применение стрессоров (бактериофагов, антибиотика) в нашем исследовании позволило оценить их влияние на характер морфофункциональных изменений клеток вакцинного штамма *Y. pestis* EV. Детальное электронно-микроскопическое исследование везикулоподобных образований на поверхности клеток чумного микроба и химический анализ их состава свидетельствуют о достаточно высокой схожести характеристик внеклеточных везикул у бактерий целого ряда таксонов [9, 14]. Электронно-микроскопическая картина везикул, продуцируемых клетками вариантов вирулентного штамма *Y. pestis* CO92, лишенных плазмиды кальцийзависимости [8], очень близка к полученной нами, однако средний размер везикул (~100 нм), определенный авторами цитируемой работы, оказался существенно выше по сравнению с нашей оценкой. Выявленная нами способность клеток вакцинного штамма *Y. pestis* EV, утратившего *pgm*-локус хромосомной ДНК [15], к продукции внеклеточных везикул, согласуется с данными, полученными А.М. Kolodziejek *et al.* [9] при изучении клеток *Y. pestis* KIM6⁻ (*pgm*⁻) и KIM6⁺ (*pgm*⁺). Следовательно, наличие генов локуса пигментсорбции не является существенным в реализации феномена везикулообразования у клеток чумного микроба. Считается, что внеклеточные везикулы принимают участие в образовании бактери-

альных биопленок [16, 17]. Однако применительно к патогенным иерсиниям это положение в полной мере отнести, очевидно, нельзя, поскольку свойство биопленкообразования у *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* связано с носительством клетками *pgm*-области хромосомной ДНК [18], а вышеприведенные данные литературы [9] и результаты наших экспериментов указывают на независимость процесса продукции везикул от наличия *pgm*-локуса. По всей видимости, везикулы *Y. pestis* не являются обязательными компонентами биопленки, и их значимость для возбудителя в условиях *in vitro* и *in vivo* лишь предстоит исследовать.

Мы регистрировали уровень везикулообразования в том числе и у бактерий, выращенных в условиях *in vitro*, способствующих их росту и размножению, без воздействия стрессорных факторов. При этом доля таких «интактных» клеток *Y. pestis* EV, продуцирующих везикулы, по сравнению с жидкой питательной средой оказалась несколько выше при культивировании бактерий на плотной питательной среде. Под действием выбранных стрессорных факторов (бактериофаги, антибиотик) происходило не только усиление везикулообразования, но и нарастание дегенеративных изменений микробных клеток.

Таким образом, совместная инкубация в течение 20 мин клеток *Y. pestis* EV с бактериофагом Покровской или гентамицином приводит к увеличению продукции внеклеточных везикул и сопровождается развитием дегенеративных изменений бактериальных клеток.

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

Список литературы

1. Plague outbreak situation reports 2017. World Health Organization Regional Office for Africa. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.afro.who.int/health-topics/plague/plague-outbreak-situation-reports> (дата обращения 16.12.2017).
2. Cabanel N., Bouchier C., Rajerison M., Carniel E. Plasmid-mediated doxycycline resistance in a *Yersinia pestis* strain isolated from a rat. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2018; 51(2):249–54. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.09.015.

3. Galimand M., Carniel E., Courvalin P. Resistance of *Yersinia pestis* to antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(10):3233–36. DOI: 10.1128/AAC.00306-06.
4. Welch T.J., Fricke W.F., McDermott P.F., White D.G., Rosso M.L., Rasko D.A., Mammel M.K., Eppinger M., Rosovitz M.J., Wagner D., Rahalison L., Leclerc J.E., Hinshaw J.M., Lindler L.E., Cebula T.A., Carniel E., Ravel J. Multiple antimicrobial resistance in plague: an emerging public health risk. *PLoS ONE.* 2007; 2(3):e309. DOI: 10.1371/journal.pone.0000309.
5. Filippov A.A., Sergueev K.V., He Y., Huang X.Z., Gnade B.T., Mueller A.J., Fernandez-Prada C.M., Nikolich M.P. Bacteriophage therapy of experimental bubonic plague in mice. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 954:337–48. DOI: 10.1007/978-1-4614-3561-7_41.
6. Manning A.J., Kuehn M.J. Contribution of bacterial outer membrane vesicles to innate bacterial defense. *BMC Microbiol.* 2011; 11:258. DOI: 10.1186/1471-2180-11-258.
7. Olsen I., Amano A. Outer membrane vesicles - offensive weapons or good Samaritans? *J. Oral Microbiol.* 2015; 7:27468. DOI: 10.3402/jom.v7.27468.
8. Eddy J.L., Gielda L.M., Caulfield A.J., Rangel S.M., Latham W.W. Production of Outer Membrane Vesicles by the Plague Pathogen *Yersinia pestis*. *PLoS ONE.* 2014; 9(9):e107002. DOI: 10.1371/journal.pone.0107002.
9. Kolodziejek A.M., Caplan A.B., Bohach G.A., Paszczynski A.J., Minnich S.A., Hovde C.J. Physiological Levels of Glucose Induce Membrane Vesicle Secretion and Affect the Lipid and Protein Composition of *Yersinia pestis* Cell Surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2013; 79(14):4509–14. DOI: 10.1128/AEM.00675-13.
10. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 1963; 17:208–12. PMID: 13986422. PMCID: PMC2106263.
11. Collins B.S. Gram-negative outer membrane vesicles in vaccine development. *Discov. Med.* 2011; 12(62):7–15. PMID: 21794204.
12. van Niel G., D'Angelo G., Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2018; 19(4):213–28. DOI: 10.1038/nrm.2017.125.
13. Klimentová J., Stulík J. Methods of isolation and purification of outer membrane vesicles from gram-negative bacteria. *Microbiol. Res.* 2015; 170:1–9. DOI: 10.1016/j.micres.2014.09.006.
14. Jan A.T. Outer Membrane Vesicles (OMVs) of Gram-negative Bacteria: A Perspective Update. *Front. Microbiol.* 2017; 8:1053. PMID: 28649237. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01053.
15. Anisimov A.P., Lindler L.E., Pier G.B. Intraspecific Diversity of *Yersinia pestis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17(2):434–64. DOI: 10.1128/CMR.17.2.434-464.2004.
16. Schwechheimer C., Kuehn M.J. Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015; 13(10):605–19. DOI: 10.1038/nrmicro3525.
17. Wang W., Chanda W., Zhong M. The relationship between biofilm and outer membrane vesicles: a novel therapy overview. *FEMS Microbiol. Lett.* 2015; 362(15):fnv117. DOI: 10.1093/femsle/fnv117.
18. Schachterle J.K., Stewart R.M., Schachterle M.B., Calder J.T., Kang H., Prince J.T., Erickson D.L. *Yersinia pseudotuberculosis* BarA-UvrY Two-Component Regulatory System Represses Biofilms via CsrB. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:323. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00323. PMID: 30280093.
- Cebula T.A., Carniel E., Ravel J. Multiple antimicrobial resistance in plague: an emerging public health risk. *PLoS ONE.* 2007; 2(3):e309. DOI: 10.1371/journal.pone.0000309.
5. Filippov A.A., Sergueev K.V., He Y., Huang X.Z., Gnade B.T., Mueller A.J., Fernandez-Prada C.M., Nikolich M.P. Bacteriophage therapy of experimental bubonic plague in mice. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 954:337–48. DOI: 10.1007/978-1-4614-3561-7_41.
6. Manning A.J., Kuehn M.J. Contribution of bacterial outer membrane vesicles to innate bacterial defense. *BMC Microbiol.* 2011; 11:258. DOI: 10.1186/1471-2180-11-258.
7. Olsen I., Amano A. Outer membrane vesicles - offensive weapons or good Samaritans? *J. Oral Microbiol.* 2015; 7:27468. DOI: 10.3402/jom.v7.27468.
8. Eddy J.L., Gielda L.M., Caulfield A.J., Rangel S.M., Latham W.W. Production of Outer Membrane Vesicles by the Plague Pathogen *Yersinia pestis*. *PLoS ONE.* 2014; 9(9):e107002. DOI: 10.1371/journal.pone.0107002.
9. Kolodziejek A.M., Caplan A.B., Bohach G.A., Paszczynski A.J., Minnich S.A., Hovde C.J. Physiological Levels of Glucose Induce Membrane Vesicle Secretion and Affect the Lipid and Protein Composition of *Yersinia pestis* Cell Surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 2013; 79(14):4509–14. DOI: 10.1128/AEM.00675-13.
10. Reynolds E.S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 1963; 17:208–12. PMID: 13986422. PMCID: PMC2106263.
11. Collins B.S. Gram-negative outer membrane vesicles in vaccine development. *Discov. Med.* 2011; 12(62):7–15. PMID: 21794204.
12. van Niel G., D'Angelo G., Raposo G. Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2018; 19(4):213–28. DOI: 10.1038/nrm.2017.125.
13. Klimentová J., Stulík J. Methods of isolation and purification of outer membrane vesicles from gram-negative bacteria. *Microbiol. Res.* 2015; 170:1–9. DOI: 10.1016/j.micres.2014.09.006.
14. Jan A.T. Outer Membrane Vesicles (OMVs) of Gram-negative Bacteria: A Perspective Update. *Front. Microbiol.* 2017; 8:1053. PMID: 28649237. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01053.
15. Anisimov A.P., Lindler L.E., Pier G.B. Intraspecific Diversity of *Yersinia pestis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17(2):434–64. DOI: 10.1128/CMR.17.2.434-464.2004.
16. Schwechheimer C., Kuehn M.J. Outer-membrane vesicles from Gram-negative bacteria: biogenesis and functions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015; 13(10):605–19. DOI: 10.1038/nrmicro3525.
17. Wang W., Chanda W., Zhong M. The relationship between biofilm and outer membrane vesicles: a novel therapy overview. *FEMS Microbiol. Lett.* 2015; 362(15):fnv117. DOI: 10.1093/femsle/fnv117.
18. Schachterle J.K., Stewart R.M., Schachterle M.B., Calder J.T., Kang H., Prince J.T., Erickson D.L. *Yersinia pseudotuberculosis* BarA-UvrY Two-Component Regulatory System Represses Biofilms via CsrB. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2018; 8:323. DOI: 10.3389/fcimb.2018.00323. PMID: 30280093.

References

1. World Health Organization Regional Office for Africa. Plague outbreak situation reports 2017. [Internet]. (Cited 6 Dec 2017). Available from: <http://www.afro.who.int/health-topics/plague/plague-outbreak-situation-reports>.
2. Cabanel N., Bouchier C., Rajerison M., Carniel E. Plasmid-mediated doxycycline resistance in a *Yersinia pestis* strain isolated from a rat. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2018; 51(2):249–54. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.09.015.
3. Galimand M., Carniel E., Courvalin P. Resistance of *Yersinia pestis* to antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(10):3233–36. DOI: 10.1128/AAC.00306-06.
4. Welch T.J., Fricke W.F., McDermott P.F., White D.G., Rosso M.L., Rasko D.A., Mammel M.K., Eppinger M., Rosovitz M.J., Wagner D., Rahalison L., Leclerc J.E., Hinshaw J.M., Lindler L.E.,

Authors:

Dudina L.G., Malkova M.A., Byvalov A.A. Vyatka State University; 36, Moskovskaya St., Kirov, 610000, Russian Federation; e-mail info@vyatsu.ru.
 Komi Institute of Physiology at the Scientific Center of the Ural Branch of RAS; Syktyvkar, Russian Federation.
 Chernyad'ev A.V., Litvinets S.G. Vyatka State University. 36, Moskovskaya St., Kirov, 610000, Russian Federation. E-mail: info@vyatsu.ru.

Об авторах:

Дудина Л.Г., Малкова М.А., Бывалов А.А. Вятский государственный университет, Российская Федерация, 610000, Киров, Московская ул., 36; e-mail info@vyatsu.ru. Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН; Российская Федерация, Сыктывкар.
 Чернядьев А.В., Литвинцев С.Г. Вятский государственный университет. Российская Федерация, 610000, Киров, Московская ул., 36. E-mail: info@vyatsu.ru.

Поступила 12.04.18.

Отправлена на доработку 23.04.18.

Принята к публ. 12.02.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-55-61

УДК 616.98:579.842.23

Г.А. Ерошенко, Н.В. Попов, Ж.В. Альхова, А.Н. Балыкова, Л.М. Куклева, В.В. Кутырев

**ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS*
СРЕДНЕВЕКОВОГО БИОВАРА,
ВЫДЕЛЕННЫХ В ПРИКАСПИЙСКОМ СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ СТЕПНОМ ОЧАГЕ ЧУМЫ
В XX СТОЛЕТИИ**

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

Цель работы. Выполнение сравнительного филогенетического анализа штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге в 1924–1926 гг., 1972 г. и в 1986–1990 гг., для выяснения причин его реактивизации в различные периоды XX в. **Материалы и методы.** В работе использованы 30 штаммов *Y. pestis* из Прикаспийского Северо-Западного степного природного очага и сопредельных очагов чумы. Проведено полногеномное секвенирование восьми штаммов *Y. pestis* из этого очага, а также использованы полногеномные последовательности еще 16 штаммов из сопредельных природных очагов. Полногеномное секвенирование штаммов *Y. pestis* выполняли в Ion PGM system (Life technologies). Поиск SNPs в коровом геноме проводили с использованием программы Wombac 2.0. Для анализа филогенетических связей штаммов строили дендрограмму Maximum Likelihood, модель HKY85. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что в начале XX в. (1924–1926 гг.) на Ергенинской возвышенности в Прикаспийском Северо-Западном степном природном очаге циркулировали штаммы филогенетических ветвей 2.MED4 и 2.MED1 средневекового биовара основного подвида, которые в дальнейшем исчезли с этой территории. Показано, что штаммы, полученные на Ергенинской возвышенности в 1972 г., составили единый подкластер дендрограммы со штаммами из низкорослых и предгорных очагов чумы Кавказа и Закавказья этого же временного периода. Сделан вывод о том, что эпизоотические проявления на Ергенинской возвышенности в 1972 г., после длительного перерыва с 1938 г., вызваны заносом штаммов *Y. pestis* из низкорослых природных очагов чумы Кавказа и Закавказья. Отмечено, что «экспансия» кавказских штаммов носила кратковременный характер, и с 1974 г. (включая и современный период) зараженных чумой животных на Ергенинской возвышенности не регистрировали. Определено, что штаммы *Y. pestis*, выделенные в 1986–1990 гг. в восточной части Прикаспийского Северо-Западного степного очага, не имеют близкого генетического родства со штаммами, циркулировавшими на Ергенинской возвышенности в 1924–1926 гг. и 1972 г. Установлено, что каждый эпизоотический период (1913–1938 гг. и 1972–1973 гг.) в Прикаспийском Северо-Западном степном природном очаге завершался элиминацией циркулирующих штаммов *Y. pestis* и оздоровлением очаговой территории.

Ключевые слова: штаммы *Y. pestis*, Прикаспийский Северо-Западный степной очаг, филогенетический анализ, реактивизация очага.

Корреспондирующий автор: Ерошенко Галина Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Альхова Ж.В., Балыкова А.Н., Куклева Л.М., Кутырев В.В. Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis* средневекового биовара, выделенных в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге чумы в XX столетии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:55–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-55-61

G.A. Eroshenko, N.V. Popov, Zh.V. Al'khova, A.N. Balykova, L.M. Kukleva, V.V. Kutyrev

Phylogenetic Analysis of *Yersinia pestis* Strains of Medieval Biovar, Isolated in Precaspian North-Western Steppe Plague Focus in the XX Century

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

Abstract. Objective of the study – comparative phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* strains, isolated in Precaspian North-Western steppe focus in 1924–1926, 1972, and 1986–1990 to understand the causes of focal reactivation during different time periods of the XX century. **Materials and methods.** The work included 30 strains of *Yersinia pestis* from Precaspian North-Western steppe natural focus and adjacent plague foci. Whole genome sequencing of eight *Y. pestis* strains from the former was carried out. Also whole-genome sequences of 16 strains from neighboring natural foci were used. Whole-genome sequencing of *Y. pestis* strains was conducted in Ion PGM system (Life technologies). SNPs search across the core genome was performed using software package Wombac 2.0. Tree diagram Maximum Likelihood, HKU85 model, was constructed to analyze phylogenetic relations. **Results and discussion.** It is established that in early XX century (1924–1926), strains of phylogenetic branches 2.MED4 and 2.MED1, belonging to medieval biovar, main subspecies, circulated on Ergenin Upland in the Precaspian North-Western steppe natural focus. Later on they became extinct in the territory. It is shown that the strains, isolated on Ergenin Upland in 1972, constituted a common sub-cluster on the dendrogram with the strains from low-mountain and piedmont plague foci of Caucasus and Transcaucasia, dated the same time period. It was inferred that epizootic manifestations on Ergenin upland in 1972, after a long recess since 1938, were caused by importation of *Y. pestis* strains from low-mountain natural plague foci of Caucasus and Transcaucasia. It was noted that expansion of Caucasian strains was of short-term character, and plague infected animals have not been found on Ergenin Upland since 1974 (including modern period). It is established that *Y. pestis* strains isolated in the eastern part of Precaspian North-Western steppe focus between 1986 and 1990, do not have close genetic relation to the strains that circulated on Ergenin Upland in 1924–1926 and 1972. It is determined that each epizootic

period (1913–1938 and 1972–1973) in Precaspian North-Western steppe natural focus culminated in the elimination of the circulating *Y. pestis* strains and rehabilitation of the focal territory.

Key words: *Y. pestis* strains, Precaspian North-Western steppe natural focus, phylogenetic analysis, reactivation of the focus.

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

Corresponding author: Galina A. Eroshenko, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V., Balykova A.N., Kukleva L.M., Kuttyrev V.V. Phylogenetic Analysis of *Yersinia pestis* Strains of Medieval Biovar, Isolated in Precaspian North-Western Steppe Plague Focus in the XX Century. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:55–61. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-55-61

Received 20.05.19. Accepted 22.05.19.

Для природных очагов чумы Российской Федерации и других стран СНГ характерно чередование периодов высокой и низкой эпизоотической активности, вплоть до полного прекращения регистрации эпизоотических проявлений на 10–40 и более лет [1]. Длительное отсутствие находок зараженных животных на территории очагов получило название межэпизоотических периодов. Для объяснения механизмов сохранения чумного микроба на территории очагов и их реактивизации привлекались многочисленные гипотезы отечественных и зарубежных исследователей [2, 3]. Однако выяснить причины активизации природных очагов после длительного отсутствия эпизоотических проявлений так и не удалось. В связи с этим значительный интерес представляет сравнительный анализ штаммов *Y. pestis*, циркулировавших на территории отдельных природных очагов на протяжении XX столетия, в первую очередь, в периоды новых подъемов их эпизоотической активности. Данные полногеномного секвенирования и анализа филогенетического родства этих штаммов позволяют выявить закономерности их распространения на территориях отдельных очагов, а также установить общие механизмы циркуляции штаммов на обширных пространствах различных зон природной очаговости чумы стран СНГ и сопредельных государств.

Прикаспийский Северо-Западный степной природный очаг (ПСЗСПО) находится в юго-восточных районах Восточно-Европейской равнины, занимая в основном Ергенинскую возвышенность, северо-западную часть Прикаспийской низменности, лоцину Даван с примыкающей западной кромкой Черных земель. Административно очаг расположен на территории Республики Калмыкии и прилегающих районов Астраханской, Волгоградской, Ростовской областей. Общая площадь очага составляет 51152 км². Основным носителем – малый суслик, основные переносчики – его специфические паразиты. Находки зараженных чумой грызунов и их паразитов имели место в 1913–1937 гг., 1972–1973 гг., 1986–1990 гг. Эпидемические осложнения неоднократно регистрировали в 1878–1935 гг. В результате выполненных в 1933–1960 гг. истребительных мероприятий ПСЗСПО был оздоровлен [4, 5]. Новая волна эпизоотий отмечена здесь только после длительного перерыва в 1972–1973 гг. [6].

Для штаммов возбудителя чумы характерно генетическое разнообразие, которое связано с их распро-

странением в различных ландшафтно-климатических зонах [7–13]. На территории ПСЗСПО, как и в других очагах Прикаспия, циркулируют штаммы *Y. pestis* средневекового биовара, являющиеся высоко вирулентными и эпидемически значимыми. Местом их возникновения является, по-видимому, регион между Каспийским и Черным морями. Ранее считалось, что штаммы средневекового биовара возникли на берегах Каспийского моря и вызвали вторую пандемию чумы под названием «Черная смерть» 1347–1353 гг., уничтожившую третью часть населения средневековой Европы. Однако данные реконструкции нескольких геномов из захоронений жертв «Черной смерти» на территории Европы показали, что они относятся к античному биовару основного подвида ветви 1.ANT, которая впоследствии дала начало штаммам *Y. pestis* восточного биовара, вызвавшим третью пандемию чумы [14–16]. Штаммы средневекового биовара (филогенетическая ветвь 2.MED) получили распространение, по-видимому, позже – в XVIII–XX столетиях. Наиболее древние из них обнаружены в Центрально-Кавказском высокогорном очаге Российской Федерации и по генетической классификации филогенетических ветвей обозначаются как 2.MED0 [12, 17]. Штаммы 2.MED2 и 2.MED3 обнаружены в очагах Китая [11]. Наибольшее распространение в современный период получили штаммы более молодой ветви 2.MED1, которые занимают обширные пространства России, стран СНГ, а также встречаются в других очагах Евразии (Иран, Китай).

Целью настоящего исследования явилось выполнение сравнительного филогенетического анализа штаммов *Y. pestis*, выделенных в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге в 1924–1926 гг., 1972 г. и в 1986–1990 гг. на смежных территориях Прикаспийской низменности, для выяснения путей формирования в XX столетии в регионах Прикаспия, Предкавказья, Кавказа и Закавказья ареалов разных филогенетических линий *Yersinia pestis* основного подвида средневекового биовара, а также причин активизации природных очагов после длительных периодов отсутствия регистрации зараженных животных.

Материалы и методы

Штаммы *Y. pestis*, условия культивирования, биохимический анализ. В работе использованы

штаммы *Y. pestis*, полученные из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Штаммы культивировали на агаре и в бульоне Хоттингера при 28 °C в течение 24–48 ч. Способность штаммов *Y. pestis* к ферментации сахаров, глицерина и к редукции нитратов определяли в соответствии со стандартными методами лабораторной диагностики [18].

Полногеномное секвенирование, идентификация SNPs, построение дендрограмм. ДНК штаммов *Y. pestis* выделяли с помощью набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, США). Полногеномное секвенирование штаммов *Y. pestis* выполняли в Ion PGM system (Life technologies). Для обработки данных использовали Ion Torrent Suite software package, 3.4.2 и Newbler gsAssembler 2.6. SNPs выявляли путем выравнивания контигов штаммов на геноме CO92, используя программу Wombac 2.0, затем удаляли 28 гомоплазий SNPs. Дендрограмму Maximum Likelihood строили с использованием программы PHYLML-3.1. В программе jMODELTEST 2.1.7 [19] была определена модель нуклеотидных замещений: модель HKY85 (500 бутстрэп-реплик).

Результаты и обсуждение

Всего исследованы свойства 14 штаммов из ПСЗСПО. Для восьми из них проведено полногеномное секвенирование (таблица). Для изучения филогенетических связей этих штаммов проведено секвенирование еще 16 штаммов из сопредельных очагов, включая 1 штамм из Центрально-Кавказского высокогорного, 2 штамма из Терско-Сунженского низкогорного, 1 штамм из Закавказского высокогорного (Зангезуро-Карабахский мезоочаг), 2 штамма из Приараксинского низкогорного, 3 штамма из Закавказского равнинно-предгорного, 5 штаммов из Волго-Уральского песчаного, 2 штамма из Прикаспийского песчаного природных очагов (таблица).

Все 30 исследованных штаммов (из них 24 секвенированных), включая 14 штаммов из ПСЗСПО, обладали типичными для *Y. pestis* культурально-морфологическими свойствами и были единообразны по биохимическим особенностям. Они не ферментировали рамнозу и мелибиозу, что означало их принадлежность к основному подвиду возбудителя чумы. Они ферментировали глицерин, но не редуцировали нитраты, что свидетельствовало об их принадлежности к средневековому биовару основного подвида *Y. pestis*. Штаммы средневекового биовара высоковирулентные и эпидемически значимые.

Филогения штаммов из Прикаспийского Северо-Западного степного очага. Для построения дендрограммы использовано восемь полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* из ПСЗСПО, а также полногеномные последовательности еще 16 штаммов из сопредельных очагов чумы. В филогенетический анализ включены также штаммы других

филогенетических линий из разных очагов мира, последовательности которых взяты из базы данных NCBI GenBank. К ним относятся геномы – Pestoides F (кавказский подвид, 0.PE2), Pestoides A (алтайский подвид, 0.PE4), 620024 (тибетский подвид, 0.PE7), CO92 (основной подвид, восточный биовар, 1.ORI), KIM10 (основной подвид, средневековый биовар 2.MED1), 91 (основной подвид, средневековый биовар, 2.MED2), CMCC125002 (основной подвид, средневековый биовар 2.MED3). На основе найденных 1655 полиморфных нуклеотидов (SNPs) в коровом геноме построена дендрограмма филогенетических связей штаммов из ПСЗСПО (рисунок).

Как следует из дендрограммы, штаммы из этого очага разделились на три отдельных кластера, принадлежащих к разным филогенетическим ветвям средневекового биовара. Три штамма *Y. pestis* 27(33), 36(55) и 70(103), выделенные в 1924, 1925, 1926 гг. от малых сусликов и их блох на Ергенинской возвышенности (Заветнинский район Ростовской области), вошли в отдельную ветвь, отделившуюся от ствола средневекового биовара ранее ветви 2.MED1. Мы обозначили эту вновь выявленную ветвь средневекового биовара как 2.MED4. В этот кластер штаммов, кроме штаммов из ПСЗСПО (рисунок, кластер 14-1), вошли два штамма из Волго-Уральского песчаного очага: *Y. pestis* 4, 1917 г., и 31(38), 1924 г. На дендрограмме (рисунок) штамм 4 предшествует всей филогенетической ветви 2.MED4. В эту ветвь также вошел штамм 146(220), 1931 г., из Закавказского высокогорного очага (Зангезуро-Карабахский мезоочаг), выделенный от человека. В настоящее время здесь циркулируют только штаммы кавказского подвида (0.PE2 по генетической классификации ветвей). Возможно, штаммы 2.MED4 встречались ранее в Зангезуро-Карабахском мезоочаге Закавказского высокогорного очага.

Таким образом, в результате полногеномного секвенирования трех штаммов основного подвида средневекового биовара *Y. pestis*, выделенных на территории Ергенинской возвышенности в 1924–1926 гг., установлено, что все они относились к филогенетической ветви 2.MED4, которая циркулировала в этом и Волго-Уральском песчаном очаге, по крайней мере, в период 1917–1926 гг. Не исключено, что с этими штаммами, представляющими более раннюю ветвь эволюции основного подвида средневекового биовара *Y. pestis*, были связаны вспышки чумы в Прикаспии в конце XVIII – начале XX веков.

Еще один штамм *Y. pestis* 9(10) основного подвида средневекового биовара из ПСЗСПО, 1923 г., вошел в другой кластер ветви 2.MED1 совместно со штаммами 2(2), 1912 г., и 15, 1923 г., из Волго-Уральского песчаного очага (рисунок, кластер 14-2). Это означает, что в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге в начале XX в. встречались и штаммы ветви 2.MED1, которые также вызывали чуму у людей. Это подтверждается тем, что один из изученных методом фрагментного секвенирования штам-

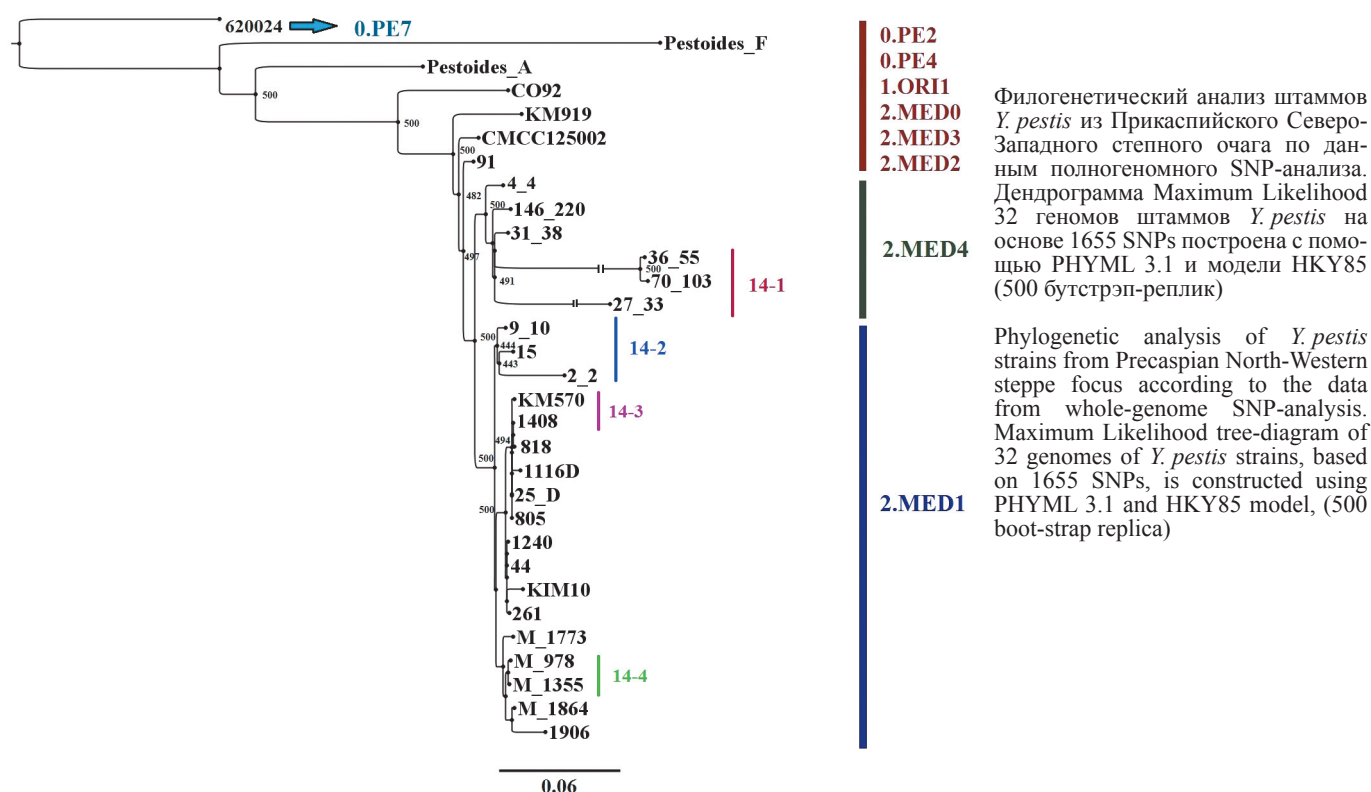
Происхождение и свойства использованных в работе штаммов *Y. pestis* из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб»Origin and properties of *Y. pestis* strains under the study, obtained from the State Collection of Pathogenic Bacteria at the premises of RusRAPI "Microbe"

№ штам- ма / Strain No	Название очага / Name of the focus	Объект выделения / Object of isolation	Место выделения / Place of isolation	Фило- гени- ческая ветвь / Phylo- genetic branch
146 (220)	Закавказский высокогорный (Зангезуро-Карабахский мезоочаг) / Transcaucasia high-mountain (Zangezuro-Karabakh Meso-focus)	Человек (труп), легочная форма, 1931 г. / Human (the body), pneumonic form of plague, 1931	Азербайджанская ССР, Нагорный Карабах / Azerbaïdzhân Soviet Socialistic Republic, Nagorny Karabakh	2.MED4
27 (33)	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Малый суслик, 1924 г. / Little souslik, 1924	Ростовская обл., Заветнинский район / Rostov Region, Zavetninsky District	2.MED4
36 (55)	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Малый суслик, 1925 г. / Little souslik, 1925	Ростовская обл., Заветнинский район / Rostov Region, Zavetninsky District	2.MED4
70 (103)	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Блохи малого суслика, 1926 г. / Fleas of the little souslik, 1926	Ростовская обл., с. Заветное / Rostov Region, Zavetnoe village	2.MED4
9 (10)	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Человек (труп), 1923 г. / Human (the body), 1923	Ростовская обл., Заветнинский район / Rostov Region, Zavetninsky District	2.MED1
1408	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Блохи малого суслика, 1972 г. / Fleas of the little souslik, 1972	Калмыцкая АССР, Приозерный район, совхоз Ергенинский / Kalmyk Autonomous Soviet Socialist Republic (ASSR), Priozerny District, Ergenin State farm	2.MED1
КМ570	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Блохи малого суслика, 1972 г. / Fleas of the little souslik, 1972	Калмыцкая АССР, Приозерный район, совхоз Ергенинский / Kalmyk ASSR, Priozerny District, Ergenin State farm	2.MED1
М-1355	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Блохи <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1986 г. / Fleas <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1986	Калмыцкая АССР, Ики-Бурульский район / Kalmyk ASSR, Iki-Burul'sky District	2.MED1
М-978 (1109 Астр.)	Прикаспийский Северо-Западный степной / Precaspian North-Western steppe focus	Малый суслик, 1990 г. / Little souslik, 1990	Калмыцкая АССР, Юстинский район, Черные Земли / Kalmyk ASSR, Yustinsky District, Chernye Zemli	2.MED1
КМ919	Центрально-Кавказский высокогорный / Central-Caucasian high-mountain focus	Блохи <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1986 г. / Fleas <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1986	Кабардино-Балкарская АССР / Kabardino-Balkaria ASSR	2.MED0
805	Приараксинский низкогорный / Priaraksinsky low-mountain focus	Песчанка Виноградова, 1968 г. / Vinogradov's jird, 1968	Нахичеванская АССР, Ильичевский район / Nakhichevanskaya ASSR, Il'ichevsky District	2.MED1
818	Приараксинский низкогорный / Priaraksinsky low-mountain focus	Блохи <i>Ceratophyllus caspius</i> , 1968 г. / Fleas <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1968	—	2.MED1
25-Д	Терско-Сунженский низкогорный / Tersko-Sunzhensky low-mountain focus	Блохи <i>Ceratophyllus tesquorum</i> , 1970 г. / Fleas <i>Citellophilus tesquorum</i> , 1970	с. Новый Редан / Novy Redan village	2.MED1
1116-Д	Терско-Сунженский низкогорный / Tersko-Sunzhensky low-mountain focus	Малый суслик, 1970 г. / Little souslik, 1970	с. Ачалуки / Achaluki village	2.MED1
44	Закавказский равнинно-предгорный (Бозчельский мезоочаг) / Transcaucasia lowland-piedmont (Bozchel'sky mesofocus)	Блохи <i>Ceratophyllus laevis</i> , 1966 г. / Fleas, <i>Ceratophyllus laevis</i> , 1966	Азербайджанская ССР / Azerbaïdzhân SSR	2.MED1
1240	Закавказский равнинно-предгорный (Мильско-Карабахский мезоочаг) / Transcaucasia lowland-piedmont (Mil'sko-Karabakhsky mesofocus)	Труп краснохвостой песчанки, 1967 г. / Carcass of red tailed gerbil, 1967	Азербайджанская ССР / Azerbaïdzhân SSR	2.MED1
261	Закавказский равнинно-предгорный (Кобыстанский мезоочаг) / Transcaucasia lowland-piedmont (Kobystansky mesofocus)	Краснохвостая песчанка, 1955 г. / Red tailed gerbil, 1955	Азербайджанская ССР / Azerbaïdzhân SSR	2.MED1
4	Волго-Уральский песчаный / Volga-Ural sandy focus	Верблюд, 1917 г. / Camel, 1917	Западный Казахстан, левый берег р. Волги / West Kazakhstan, left bank of the river Volga	2.MED4
31 (38)	Волго-Уральский песчаный / Volga-Ural sandy focus	Желтый суслик, 1924 г. / Yellow souslik, 1924	Уральская губерния, левый берег р. Волги / Ural government, left bank of the river Volga	2.MED4
2 (2)	Волго-Уральский песчаный / Volga-Ural sandy focus	Человек, 1912 г. / Human, 1912	Западный Казахстан / West Kazakhstan,	2.MED1
15	Волго-Уральский песчаный / Volga-Ural sandy focus	Человек (труп), 1923 г. / Human, (the body), 1923	Уральская губерния / Ural government,	2.MED1
М-1773	Волго-Уральский песчаный / Volga-Ural sandy focus	Полуденная песчанка, 2002 г. / Midday gerbil, 2002	Астраханская область, Красноярский район / Astrakhan Region, Krasnoyarsk District	2.MED1
М-1864	Прикаспийский песчаный / Precaspian sandy focus	Полуденная песчанка, 2009 г. / Midday gerbil, 2009	Калмыкия, Лаганский район / Kalmykia, Lagansky District	2.MED1
1906	Прикаспийский песчаный / Precaspian sandy focus	Труп полуденной песчанки, 2014 г. / Carcass of midday gerbil, 2014	Республика Калмыкия, Лаганский район / Kalmykia, Lagansky District	2.MED1

мов, полученных в восточной части Прикаспийского Северо-Западного степного очага – *Y. pestis* 65(98),

1925 г., также относился к ветви 2.MED1.

Для проведения филогенетического анализа



штаммов возбудителя чумы, выделенных на территории Ергенинской возвышенности в 1972 г. после длительного межэпизоотического периода, нами проведено полногеномное секвенирование двух штаммов *Y. pestis* 1408, 1972 г., и KM570, 1972 г. По результатам филогенетического анализа установлено, что эти два штамма относились уже к другой филогенетической ветви в составе 2.MED1. Они вошли в один тесно сгруппированный подкластер (рисунок, кластер 14-3), который включал также два штамма *Y. pestis* 25-Д и 1116-Д, выделенные в 1970 г. в Терско-Сунженском низкогорном очаге (таблица). В этот же кластер вошли два штамма 805 и 818, выделенные в 1968 г. в Приараксинском низкогорном очаге. В другой родственный подкластер вошли штаммы из Закавказского равнинно-предгорного очага, включая штамм 44, выделенный в Бозчельском мезоочаге в 1966 г., штамм 1240, выделенный в Мильско-Карабахском мезоочаге в 1967 г., штамм 261, выделенный в Кобыстанском мезоочаге в 1955 г.

Полученные результаты позволяют заключить, что штаммы *Y. pestis*, полученные на территории Ергенинской возвышенности в 1972 г., составляют единый подкластер со штаммами из низкогорных и предгорных очагов чумы Кавказа и Закавказья. В частности, они составляют единый подкластер со штаммами из Терско-Сунженского низкогорного природного очага, где эпизоотии чумы впервые зарегистрированы в 1970–1971 гг., и Приараксинского низкогорного природного очага, где эпизоотии чумы впервые зарегистрированы в 1967–1971 гг. Штаммы этого подкластера образуют общий кластер со штаммами из Закавказского равнинно-предгорного очага,

высокая эпизоотическая активность которого зарегистрирована в 1955–1959 и 1965–1971 гг.

Тот факт, что штаммы чумного микроба, выделенные в 1972 г. на территории Ергенинской возвышенности, характеризуются высокой степенью генетического родства со штаммами 1970 г. из Терско-Сунженского и штаммами 1968 г. из Приараксинского низкогорного, а также со штаммами 1955, 1966 и 1967 гг. из Закавказского равнинно-предгорного природных очагов, однозначно подтверждает их происхождение и занос из кавказских низкогорных очагов. По-видимому, они были занесены в ПСЗСПО незадолго до выявления в 1972 г. эпизоотии на Ергенинской возвышенности, т.е. в 1970–1971 гг.

Филогенетический анализ еще двух штаммов – М-1355, 1986 г. и М-978, 1990 г., выделенных уже в 1986–1990 гг. в восточной части Прикаспийского Северо-Западного степного очага (на смежной территории с Ергенинской возвышенностью), показал, что они относятся к кластеру современных штаммов ветви 2.MED1. В этот кластер вошли также штаммы 1906 (2014 г.) и М-1864 (2009 г.) из Прикаспийского песчаного очага и штамм М-1773 из Волго-Уральского песчаного очага 2002 г. выделения.

Таким образом, в результате комплексного исследования штаммов *Y. pestis*, выделенных в XX столетии в Прикаспийском Северо-Западном степном очаге, установлено, что все они относятся к средневековому биовару основного подвида. Филогенетический анализ штаммов, выделенных на Ергенинской возвышенности в 20–30-е годы прошлого столетия и в 1972 г., показал, что они относятся к разным филогенетическим линиям средневекового биовара. Три штамма чумного микроба, выделен-

ные на Ергенинской возвышенности в 1924–1926 гг. из 4 секвенированных, относятся к ветви 2.MED4, которая дивергировала от общего ствола эволюции средневекового биовара ранее ветви 2.MED1. Такие же штаммы 2.MED4 циркулировали в этот период в Волго-Уральском песчаном очаге. Один штамм филогенетической линии 2.MED4 также изолирован в 1931 г. в Закавказском равнинно-предгорном очаге (Зангезуро-Карабахский мезоочаг), где в последующие годы циркуляция штаммов средневекового биовара *Y. pestis* более не отмечалась. Результаты секвенирования штаммов, полученных в регионе Северо-Западного Прикаспия в 30-х годах прошлого столетия, также подтверждают циркуляцию здесь штаммов филогенетической ветви 2.MED1 (штаммы, выделенные в 1912 г., 1923 г.).

В период 1939–1971 гг. эпизоотических проявлений на территории Ергенинской возвышенности не зарегистрировано. После длительного перерыва, эпизоотии чумы вновь выявлены здесь только в 1972–1973 гг. Проведенное полногеномное секвенирование двух штаммов *Y. pestis*, выделенных на Ергенинской возвышенности в 1972 г., показало, что они относятся к ветви 2.MED1, но к другому кластеру, удаленному от штаммов, выделенных здесь в 1924–1926 гг. При этом все штаммы, полученные в 1972 г. на Ергенинской возвышенности, вместе со штаммами из Терско-Сунженского и Приараксинского низкогорного очагов, а также штаммами из Закавказского равнинно-предгорного очага, относятся к одному тесно сгруппированному кластеру, что свидетельствует о близком филогенетическом родстве этих штаммов. Это доказывает, что штаммы *Y. pestis*, вызвавшие эпизоотии на Ергенинской возвышенности в 1972–1973 гг., занесены сюда из низкогорных очагов Кавказа. В то же время штаммы чумного микроба, выделенные в 1986–1990 гг. в восточной части ПСЗСПО, имеют другое происхождение и являются близкородственными с группами штаммов, циркулирующих в настоящее время в очагах чумы Северного и Северо-Западного Прикаспия. Следует подчеркнуть, что штаммы *Y. pestis*, выделенные в Прикаспийском Северо-Западном очаге в 1924–1926 гг., 1972 г. и в 1986–1990 гг., не имеют между собой близкого генетического родства. Их смена в этом очаге связана с общими закономерностями циркуляции штаммов *Y. pestis* в зоне Северного и Северо-Западного Прикаспия, которые еще предстоит выяснить в дальнейшем. Полученные результаты позволяют также заключить, что эпизоотии чумы 1913–1938 и 1972–1973 гг. на Ергенинской возвышенности, равно как и в других районах Прикаспийского Северо-Западного степного природного очага, завершались элиминацией циркулирующих штаммов *Y. pestis* и оздоровлением очаговой территории. Последующие эпизоотические проявления в очаге вызваны появлением здесь штаммов чумного микроба, относящихся к другим ветвям филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара.

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. Попов Н.В. Дискретность – основная пространственно-временная особенность проявлений чумы в очагах сусликового типа. Саратов: Изд-во СГУ; 2002. 189 с.
3. Gage K.L., Kosoy M.Y. Natural history of plague: perspective from more than a century of research. *Annu. Rev. Entomol.* 2005; 50:505–28. DOI: 10.1146/annurev.ento.50.071803.130337
4. Бочарников О.Н., Карпузида К.С., Клименко И.З., Тер-Вартанов В.Н., Тинкер И.С., Шишкин А.К., Ширяев Д.Т. Опыт работ по ликвидации энзоотии чумы в очаге Северо-Западного Прикаспия. В кн.: Природная очаговость и эпидемиология особо опасных инфекционных заболеваний. Саратов; 1959. С. 235–46.
5. Калабухов Н.И. Явление длительных перерывов эпизоотической активности природных очагов чумы и его вероятные причины. *Зоологический журнал.* 1969; 48:165–75.
6. Лавровский А.А., Варшавский С.Н., Герасимова Н.Г. и др. Эпизоотии чумы среди малых сусликов в природном очаге Северо-Западного Прикаспия в 1972–1973 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 1974; 3:5–17.
7. Devignat R. Variétés de l'espèce *Pasteurella pestis*. Nouvelle hypothèse. *Bull. World Health Organ.* 1951; 4(2):241–63. PMID: PMC2554099. PMID: 14859080.
8. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guisou A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1999; 96(24):14043–8. DOI: 10.1073/pnas.96.24.14043.
9. Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: Insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PloS ONE.* 2009; 4(6):e6000. DOI: 10.1371/journal.pone.0006000.
10. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.
11. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.
12. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hova J.V., Oglozin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.
13. Demeure C.E., Dussurget O., Fiol G.M., Le Guern A.-S., Savin C., Pizarro-Cerdá J. *Yersinia pestis* and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics. *Genes Immun.* 20(5):357–70. DOI: 10.1038/s41435-019-0065-0.
14. Spyrou M. A., Tukhbatova R. I., Feldman M., Drath J., Kacki S., Beltrán de Heredia J., Arnold S., Sitdikov A.G., Castex D., Wahl J., Gazimzyanov I.R., Nurgaliev D.K., Herbig A., Bos K.I., Krause J. Historical *Y. pestis* genomes reveal the European Black Death as the source of ancient and modern plague pandemics. *Cell Host Microbe.* 2016; 19(6):874–81. DOI: 10.1016/j.chom.2016.05.012.
15. Seifert L., Wiechmann I., Harbeck M., Thomas A., Grupe G., Projahn M., Scholz H.C., Riehm J.M. Genotyping *Yersinia pestis* in historical plague: evidence for long-term persistence of *Y. pestis* in Europe from the 14th to the 17th century. *PloS ONE.* 2016; 11(1):e0145194. DOI: 10.1371/journal.pone.0145194.
16. Bos K.I., Herbig A., Sahl J., Wagglechner N., Fourment M., Forrest S.A., Klunk J., Schuenemann V.J., Poinar D., Kuch M., Golding G.B., Dutour O., Keim P., Wagner D.M., Holmes E.C., Krause J., Poinar H.N. Eighteenth century *Yersinia pestis* genomes reveal the long-term persistence of an historical plague focus. *Elife.* 2016; 5:e12994. DOI: 10.7554/eLife.12994.
17. Жаринова Н.В., Брюханова Г.Д., Еременко Е.И., Брюханов А.Ф., Бейер А.П., Царева Н.С., Зайцев А.А. Свойства штаммов чумного микроба, циркулирующих в Центрально-

Кавказском высокогорном природном очаге чумы. В кн.: Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. Самара; 2004. Т. 2. С. 14.

18. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.

19. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModel-Test 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 2012; 9(8):772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.

References

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

2. Popov N.V. [Discreteness – main spatial-temporal feature of plague manifestations in the foci of souslik type]. Saratov: Saratov State University Publishing House; 2002. 189 p.

3. Gage K.L., Kosoy M.Y. Natural history of plague: perspective from more than a century of research. *Annu. Rev. Entomol.* 2005; 50:505–28. DOI: 10.1146/annurev.ento.50.071803.130337

4. Bocharnikov O.N., Karpuzidi K.S., Klimchenko I.Z., Ter-Vartanov V.N., Tinker I.S., Shishkin A.K., Shiryayev D.T. [Experience in eradication of plague epizooty in the Precaspian North-Western Focus]. In: [Natural Focality and Epidemiology of Particularly Dangerous Infectious Diseases]. Saratov; 1959. P. 235–46.

5. Kalabukhov N.I. [Phenomenon of long-term recesses in epizootic activity of natural plague foci and its possible causes]. *Zoologicheskyy Zhurnal [Zoological Journal]*. 1969; 48: 165–175.

6. Lavrovsky A.A., Varshavsky S.N., Gerasimova N.G., et al. [Plague epizooties among the little souslik in natural Precaspian North-Western Focus in 1972–1973]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 1974; 3:5–17.

7. Devignat R. Variétés de l'espèce *Pasteurella pestis*. Nouvelle hypothèse. *Bull. World Health Organ.* 1951; 4(2):241–63. PMID: PMC2554099. PMID: 14859080.

8. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiyoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999; 96(24):14043–8. DOI: 10.1073/pnas.96.24.14043.

9. Li Y., Cui Y., Hauck Y., Platonov M.E., Dai E., Song Y., Guo Z., Pourcel C., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Yang R., Vergnaud G. Genotyping and phylogenetic analysis of *Yersinia pestis* by MLVA: Insights into the worldwide expansion of Central Asia plague foci. *PLoS ONE*. 2009; 4(6):e6000. DOI: 10.1371/journal.pone.0006000.

10. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.

11. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate

in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.

12. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hova J.V., Oglodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.

13. Demeure C.E., Dussurget O., Fiol G.M., Le Guern A.-S., Savin C., Pizarro-Cerdá J. *Yersinia pestis* and plague: an updated view on evolution, virulence determinants, immune subversion, vaccination, and diagnostics. *Genes Immun.* 20(5):357–70. DOI: 10.1038/s41435-019-0065-0.

14. Spyrou M. A., Tukhbatova, R. I., Feldman, M., Drath, J., Kacki, S., Beltrán de Heredia J., Arnold S., Sittikov A.G., Castex D., Wahl J., Gazimzyanov I.R., Nurgaliev D.K., Herbig A., Bos K.I., Krause J. Historical *Y. pestis* genomes reveal the European Black Death as the source of ancient and modern plague pandemics. *Cell Host Microbe*. 2016; 19(6):874–81. DOI: 10.1016/j.chom.2016.05.012.

15. Seifert L., Wiechmann I., Harbeck M., Thomas A., Grupe G., Projahn M., Scholz H.C., Riehm J.M. Genotyping *Yersinia pestis* in historical plague: evidence for long-term persistence of *Y. pestis* in Europe from the 14th to the 17th century. *PLoS ONE*. 2016; 11(1):e0145194. DOI: 10.1371/journal.pone.0145194.

16. Bos K.I., Herbig A., Sahl J., Waglechner N., Fourment M., Forrest S.A., Klunk J., Schuenemann V.J., Poinar D., Kuch M., Golding G.B., Dutour O., Keim P., Wagner D.M., Holmes E.C., Krause J., Poinar H.N. Eighteenth century *Yersinia pestis* genomes reveal the long-term persistence of an historical plague focus. *Elife*. 2016; 5:e12994. DOI: 10.7554/eLife.12994.

17. Zharinova N.V., Bryukhanova G.D., Eremenko E.I., Bryukhanov A.F., Beyer A.P., Tsareva N.S., Zaitsev A.A. [Properties of plague microbe strains, circulating in Central-Caucasian high-mountain natural plague focus]. In: [Relevant Issues of Epidemiology and Prophylaxis of Infectious Diseases]. Samara; 2004. Vol. 2. P. 14.

18. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases]. M.: "Shiko"; 2013. 560 p.

19. Darriba D., Taboada G.L., Doallo R., Posada D. jModel-Test 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*. 2012; 9(8):772. DOI: 10.1038/nmeth.2109.

Authors:

Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V., Balykova A.N., Kukleva L.M., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Об авторах:

Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Альхова Ж.В., Балькова А.Н., Куклева Л.М., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Поступила 20.05.19.

Принята к публ. 22.05.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-62-68

УДК 616.932:579.25

С.П. Заднова, А.А. Крицкий, Н.А. Плеханов, Н.П. Гусева, Ю.В. Лозовский, Н.И. Смирнова

ВЫЯВЛЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ИЗМЕНЕНИЯ ПРОДУКЦИИ АЦЕТОИНА У ГЕНЕТИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* O1 БИОВАРА ЭЛЬ ТОР

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

Цель работы – установление механизмов изменения биосинтеза ацетоина в реакции Фогес-Проскауэра у генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор. **Материалы и методы.** Использовали девять генетически измененных штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы Эль Тор биовара, завезенных на территорию Российской Федерации и Украины в 1993–2011 гг., и четыре типичных штамма, изолированных в 1970–1972 гг. В качестве отрицательного контроля при изучении продукции ацетоина штаммами *V. cholerae* в реакции Фогес-Проскауэра использовали штамм *V. cholerae* 569B O1 серогруппы классического биовара. Относительную экспрессию генов изучали методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Построение модели белка проводили с использованием автоматизированного сервера SWISS – MODEL. **Результаты и обсуждение.** Показано, что диагностически значимый признак – реакция Фогес-Проскауэра, используемая для дифференциации биоваров *V. cholerae* O1, изменен у всех изученных генетически измененных штаммов возбудителя холеры, выделенных в разные периоды текущей седьмой пандемии (66,7 % штаммов дают слабоположительную реакцию, 33,3 % – отрицательную). Полученные данные указывают на снижение или отсутствие продукции ацетоина у изученных штаммов. Анализ четырех структурных генов *als* оперона, а также исследование экспрессии регуляторных генов *alsR* и *aphA*, контролирующих его биосинтез, выявил, что изменение продукции ацетоина у геновариантов является следствием делеции единичного нуклеотида (Т в позиции 315) в структурном гене *alsD*, кодирующем ацетолактат декарбоксилазу, а также высокого уровня экспрессии негативного регулятора биосинтеза ацетоина – гена *aphA*. Моделирование пространственной структуры белка AlsD геноварианта M1293 и референс-штамма N16961 показало, что белок AlsD геноварианта действительно сильно редуцирован. Однако в отсутствие ацетолактат декарбоксилазы возможно спонтанное декарбоксилирование, что фенотипически проявляется в наличии слабоположительной реакции Фогес-Проскауэра.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae* O1 серогруппы биовара Эль Тор, реакция Фогес-Проскауэра, биосинтез ацетоина, структура генов *als* оперона, экспрессия регуляторных генов.

Корреспондирующий автор: Заднова Светлана Петровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Заднова С.П., Крицкий А.А., Плеханов Н.А., Гусева Н.П., Лозовский Ю.В., Смирнова Н.И. Выявление механизмов изменения продукции ацетоина у генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:62–68. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-62-68

S.P. Zadnova, A.A. Kritsky, N.A. Plekhanov, N.P. Guseva, Yu.V. Lozovsky, N.I. Smirnova

Identification of the Mechanisms of Acetoin Production Change in Genetically Altered *Vibrio cholerae* Strains O1 Biovar El Tor

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe” of the Rosпотrebнадзор, Saratov, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was to determine the mechanisms of acetoin biosynthesis change in genetically altered El Tor *V. cholerae* strains in Voges-Proskauer test. **Materials and methods.** We used nine genetically altered *V. cholerae* O1 strains, biovar El Tor, imported in the territory of the Russian Federation and Ukraine between 1993–2011, and four typical strains isolated in 1970–1972. When assessing acetoin production in *V. cholerae* strains in Voges-Proskauer test, the strain *V. cholerae* 569B O1 serogroup, classical biovar served as negative control of the assay. Relative gene expression was studied using real-time RT-PCR. Protein model construction was performed by means of automated server SWISS – MODEL. **Results and discussion.** It has been demonstrated that diagnostically significant feature – Voges-Proskauer reaction, utilized for *V. cholerae* O1 biovar differentiation, is changed in all investigated genetically altered strains of cholera agent, isolated in different periods of the current seventh pandemic (66.7 % of the strains show weakly positive reaction, 33.3 % – negative one). The data obtained testify to the reduction or absence of acetoin production in the investigated strains. Analysis of four structural genes of *als* operon, as well as expression of regulatory genes *alsR* and *aphA*, responsible for acetoin biosynthesis, has revealed that changes in acetoin production in the genovariants stem from the deletion of a single nucleotide (T in the position 315) in the structural gene *alsD*, encoding acetolactat decarboxylase, and also from high levels of negative acetoin biosynthesis regulator expression – *aphA* gene. Modeling of the spatial (3-D) structure of AlsD protein in the genovariant M1293 and the reference-strain N16961 has shown that AlsD protein of the genovariant is, indeed, considerably reduced. However, spontaneous decarboxylation is possible in the absence of acetolactat decarboxylase, which phenotypically manifests itself in borderline positive Voges-Proskauer test.

Key words: *Vibrio cholerae* O1 serogroup, biovar El Tor; Voges-Proskauer test; acetoin biosynthesis; gene structure of *als* operon; expression of regulatory genes.

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

Corresponding author: Svetlana P. Zadnova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Zadnova S.P., Kritsky A.A., Plekhanov N.A., Guseva N.P., Lozovsky Yu.V., Smirnova N.I. Identification of the Mechanisms of Acetoin Production Change in Genetically Altered *Vibrio cholerae* Strains O1 Biovar El Tor. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2019; 2:62–68. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-62-68

Received 08.04.19. Revised 11.04.19. Accepted 17.04.19.

Эпидемическая ситуация по холере – особо опасной кишечной инфекции, вызываемой токсигенными штаммами *Vibrio cholerae*, остается напряженной. Вспышки и эпидемии данной болезни не прекращаются в ряде стран Азии, Африки, Карибского бассейна. Ежегодно регистрируется в среднем 2,9 млн случаев холеры, из которых почти 95000 заканчиваются летально [1]. Согласно данным ВОЗ, в 2017 г. зарегистрирован 1227391 больной в 34 странах и 5654 умерших [2]. Из эндемичных территорий туристами и путешественниками возбудитель завозится в неэндемичные страны, включая и Российскую Федерацию.

В настоящее время продолжается седьмая пандемия холеры, начавшаяся в 1961 г. и вызванная токсигенными типичными штаммами *V. cholerae* O1 серогруппы биовара Эль Тор. Возбудителями предыдущих шести пандемий предположительно были штаммы *V. cholerae* O1 серогруппы классического биовара. Несмотря на то, что данные штаммы относятся к одной O1 серогруппе, они отличаются друг от друга по составу, структуре и экспрессии ряда генов патогенности, пандемичности и адаптации. Отличия между ними по некоторым микробиологическим и биохимическим свойствам – чувствительности к полимиксину В, диагностическим холерным фагам, способности агглютинировать куриные эритроциты и образовывать ацетонин из глюкозы в реакции Фогес-Проскауэра – используют для дифференциации биоваров [3]. Холерные вибрионы биовара Эль Тор устойчивы к полимиксину В и хорошо растут на средах с добавлением данного антибиотика (50 мкг/мл), агглютинируют куриные эритроциты, дают положительную реакцию Фогес-Проскауэра (образуют ацетонин при выращивании в среде Кларка), лизируются холерным диагностическим фагом эльтор. В соответствии с Методическими указаниями МУ 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры» определение биовара выделенного природного штамма *V. cholerae* O1 серогруппы является обязательным этапом в схеме лабораторного исследования материала на холеру.

В результате эволюционных преобразований возбудителя холеры в 90-х годах прошлого столетия возникли генетически измененные штаммы *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор (геноварианты) с повышенной вирулентностью, содержащие в опероне *ctxAB*, кодирующем биосинтез холерного токсина, ген *ctxB* классических вибрионов. В короткие сроки геноварианты распространились по миру, вытеснив типичные штаммы, вызвавшие начало текущей пандемии. Несмотря на появление новых свойств, значительное количество изученных геновариантов имело диагностически значимые признаки, характерные для вибрионов биовара Эль

Тор. В то же время проведенные исследования по определению биовара более 170 клинических генетически измененных штаммов, изолированных в Матлабе (Бангладеш) в 1991–1994 гг., показали, что среди них были изоляты с отрицательной реакцией Фогес-Проскауэра, характерной для классических холерных вибрионов [4, 5]. Это означало, что у изученных штаммов один из диагностически значимых признаков, используемых для дифференциации биоваров, был изменен. Далее было обнаружено, что у геновариантов, сформировавшихся в более поздний период эволюции возбудителя (Бангладеш, 2001–2005 гг.; Гаити, 2010 г.), реакция Фогес-Проскауэра также изменилась. Она оказалась слабopоложительной, что указывало на снижение способности ферментировать глюкозу до ацетона [6, 7]. Несмотря на важность этих данных для диагностики холеры, генетический механизм изменения продукции ацетона у природных геновариантов до сих пор не установлен.

Цель работы – установление механизмов изменения биосинтеза ацетона в реакции Фогес-Проскауэра у генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор.

Материалы и методы

Штаммы микроорганизмов. В работе использованы как изолированные из внешней среды штаммы, так и *V. cholerae* 569B O1 серогруппы классического биовара и 13 штаммов *V. cholerae* O1 серогруппы биовара Эль Тор, вызвавших вспышки и единичные случаи холеры. Штаммы получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Культивирование штаммов осуществляли в бульоне и на агаре LB.

Производство ацетона. Способность штаммов к производству ацетона определяли в реакции Фогес-Проскауэра. Исследуемые штаммы культивировали в глюкозо-фосфатном бульоне Кларка (0,5 % пептона, 0,5 % глюкозы, 0,5 % K_2HPO_4) в течение 48 ч при температуре 37 °C. Затем к 1 мл выросшей культуры добавляли 0,6 мл 5 % раствора α -нафтола и 0,4 мл 40 % раствора гидроксида калия. Учет реакции проводили через 1 ч инкубации пробирок при температуре 37 °C. В штаммах, не образующих ацетонин, цвет среды не изменился и остался светло-желтым – отрицательная реакция. В штаммах, синтезирующих ацетонин, среда окрашивается в ярко малиновый цвет – положительная реакция. Цвет среды от светло- до темно-розового учитывается как слабopоложительная реакция Фогес-Проскауэра [8].

Выделение ДНК и РНК. Получение нуклеиновых кислот из штаммов *V. cholerae* для фрагментарного секвенирования, а также для постановки ПЦР

проводили согласно МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». Применяли коммерческие наборы AxyPrep Bacterial Genomic DNA Miniprep Kit (Axygen Biosciences, США) и Promega Total RNA Isolation System (Promega, США), работу проводили в соответствии с протоколами производителя.

Качество и количество выделенных нуклеиновых кислот оценивали общепринятым методом с использованием сканирующей спектрофотометрии, измеряя оптическую плотность препаратов на приборе Biowave DNA (Biochrome Ltd, Великобритания) при трех длинах волн – 230 нм, 260 нм, 280 нм [9]. Каждый образец измеряли трехкратно. Концентрацию нуклеиновых кислот определяли при длине волны 260 нм. Очистку от белковых примесей контролировали по значениям соотношения A260/A280 (для чистых нуклеиновых кислот в пределах 1,8–2,2). Оценку чистоты от химических веществ (компонентов рабочих растворов) осуществляли при A260/A230 (>2,0).

Полимеразная цепная реакция. ПЦР проводили в микропробирках объемом 200 мкл на амплификаторе RotorGene Q (Qiagen, Германия). Конечный объем реакционной смеси составлял 25 мкл и включал по 8 пмоль каждого праймера, 4 пмоль зонда, 1,5 ед термостабильной ДНК-полимеразы, 2,5 мкл десятикратного ПЦР-буфера (pH 8,4), 25 ммоль раствора хлорида магния, раствор дезоксинуклеотидтрифосфатов по 2 ммоль каждого, 2,5 мкл исследуемой ДНК (100 нг/мкл), а также деионизованную воду до конечного объема 25 мкл.

Оценка уровня относительной экспрессии генов. Для определения уровня экспрессии генов холерного вибриона использовали ОТ-ПЦР (ПЦР с обратной транскрипцией) в реальном времени, в которой экспрессия гена оценивается по количеству кДНК, полученной в результате обратной транскрипции из молекул РНК исследуемого гена, относительно ПЦР-стандартов с установленной концентрацией. Окончательную оценку уровня экспрессии генов осуществляли методом $2^{-\Delta\Delta C_t}$, который учитывает уровень экспрессии гена «домашнего хозяйства», экспрессия которого является постоянной [10]. В качестве референсного штамма, экспрессия генов которого принималась за единицу, произвольно выбран штамм *V. cholerae* M818 биовара Эль Тор, в качестве гена-нормализатора – ген «домашнего хозяйства» *recA*. Праймеры и зонды на изучаемые гены рассчитывали при помощи интернет сервисов PrimerQuest и GenScript, с учетом требований, предъявляемых к дизайну олигонуклеотидов в системе TaqMan®: *alsR-F* – AACCCAGCTTGCGCCATAGT, *alsR-R* – TCGCGCGATCGTATGCTG, *alsR-P* – (FAM)CGCCACAGTTAAGAACGGCA(BHQ1); *aphA-F* – GATGCAACCGGGTACGATATAA, *aphA-R* – TCTGTTTGCCTTCCTGTG, *aphA-P* – (FAM)ACGATATACCTGCTGATGGCTGGC(BHQ1); *recA-F* – ACGG

GTAACCTCAAGCAATC, *recA-R* – TATCCAAACG AACAGAAGCG, *recA-P* – (FAM)CCACTGGCGGTAACGCACTGA(BHQ1). Для реакции обратной транскрипции использовали набор реактивов «Реверта» (АмплиСенс, Россия).

Секвенирование. Фрагментное секвенирование гена *alsD* с праймерами *alsD-F* CAGTGGTGAAGGCGAGATTT и *alsD-R* GGCCGCTGCTGTTTGGT проводили на приборе ABI Prism® 3500 XL (Applied Biosystems, США). Для биоинформационного анализа нуклеотидных последовательностей использовали пакет программы BioEdit V. 7.0.9.0. (BioEdit, США).

Пространственное моделирование структуры белка α -ацетолактат декарбоксилазы. Для моделирования белка AlsD использовали автоматизированный сервер SWISS – MODEL (swissmodel.expasy.org). Первичную аминокислотную последовательность белка α -ацетолактат декарбоксилазы определяли при помощи программы BioEdit Sequence Alignment Editor V. 7.0.9.0. по нуклеотидной матрице гена *alsD* с использованием нуклеотидной последовательности полного генома. Аминокислотную последовательность белка AlsD геновариантов выравнивали по целевому шаблону белка α -ацетолактат декарбоксилазы типичного штамма *V. cholerae* N16961 биовара Эль Тор при помощи алгоритма ProMod 3 V. 1.1.0. Оценку качества производили с использованием функции QMEAN (Qualitative Model Energy Analysis) [11, 12].

Статистическая обработка. Для статистической обработки экспериментальных данных применяли программы Microsoft Excel (Microsoft, США) и Statistica 6.0 (StatSoft, Россия), вычисляя среднюю арифметическую, стандартную ошибку средней арифметической и доверительный интервал.

Результаты и обсуждение

В работе использовались генетически измененные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор, завезенные на территорию Российской Федерации и Украины с 1993 по 2011 год (табл. 1). Необходимо отметить, что геноварианты изолировали в разные периоды текущей пандемии холеры и отличались по структуре генов патогенности, пандемичности, адаптации, что ранее установили другие исследователи [13, 14, 15, 16, 17].

При постановке реакции Фогес-Проскауэра, используемой для дифференциации биоваров холерных вибрионов O1 серогруппы, выявлено, что данная реакция изменена у всех изученных штаммов (рис. 1). У большинства исследованных геновариантов (6 из 9 штаммов, что составило 66,7 %) она была слабopоложительной, у остальных (33,3 %) – отрицательной. Полученные данные указали на снижение либо отсутствие способности геновариантов образовывать ацетоин из глюкозы. При этом все взятые в качестве контроля типичные штаммы *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор дали положительную реакцию

Таблица 1 / Table 1

Реакция Фогес-Проскауэра и экспрессия регуляторных генов, контролирующих биосинтез ацетона, в штаммах *V. cholerae* биовара Эль Тор

Voges-Proskauer test and expression of regulatory genes, encoding acetoin biosynthesis in *V. cholerae* strains, biovar El Tor

Штамм / Strain	Год, место и источник выделения / Year, site and source of isolation	Результаты реакции Фогес-Проскауэра / Voges-Proskauer test results	Относительная экспрессия генов* / Relative gene expression*	
			<i>alsR</i>	<i>aphA</i>
Геноварианты биовара Эль Top / Genovariants of El Tor biovar				
M1270	1993, Татарстан, человек / Tatarstan, patient	Слабоположительная / Weakly positive	0,85±0,04	1,52±0,07
M1299	1993, Краснодар, человек / Krasnodar, patient	Отрицательная / Negative	1,13±0,05	1,74±0,07
M1266	1994, Пермь, вн. ср. / Perm, ambient environment	Слабоположительная / Weakly positive	1,08±0,05	2,46±0,11
M1293	1994, Дагестан, человек / Dagestan, patient	Отрицательная / Negative	н/и / not studied	н/и / not studied
P17644	1997, Ачинск, человек / Achinsk, patient	Слабоположительная / Weakly positive	2,60±0,12	2,06±0,10
M1345	2001, Казань, человек / Kazan, patient	Слабоположительная / Weakly positive	3,05±0,15	2,31±0,11
147	2010, Ялта, вн.ср. / Yalta, ambient environment	Отрицательная / Negative	1,13±0,05	5,09±0,24
301	2011, Таганрог, вн. ср. / Taganrog, ambient environment	Слабоположительная / Weakly positive	1,93±0,09	2,28±0,11
39	2011, Мариуполь, вн. ср. / Mariupol, ambient environment	Слабоположительная / Weakly positive	2,77±0,13	3,92±0,19
Типичные штаммы биовара Эль Top / Typical strains of El Tor biovar				
M818**	1970, Балаково, человек / Balakovo, patient	Положительная / Positive	1	1
M1062	1970, Астрахань, человек / Astrakhan, patient	Положительная / Positive	1,53±0,06	0,93±0,04
M893	1970, Астрахань, человек / Astrakhan, patient	Положительная / Positive	2,14±0,10	1,32±0,06
M1011	1972, Башкирия, человек / Bashkortostan, patient	Положительная / Positive	1,79±0,07	0,90±0,04

Примечания: н/и – не изучали; *среднее значение относительного уровня экспрессии рассчитано по результатам трех измерений ($p < 0,05$); **экспрессия генов данного штамма взята за 1.

Note: *average value of relative expression level is computed based on the results of three measurements ($p < 0,05$); **gene expression of this strain is assumed as 1.

Фогес-Проскауэра (малиновое окрашивание среды) (табл. 1). У штамма *V. cholerae* 569В классического биовара данная реакция была отрицательная (светло-желтая окраска среды).

Таким образом, установлено, что диагностически значимый признак, реакция Фогес-Проскауэра, изменен у всех изученных генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, завезенных в разные периоды седьмой пандемии.

Для выявления механизмов измененной продукции ацетона у геновариантов проведен анализ структурных генов *als* оперона, а также изучена экспрессия регуляторных генов *alsR* и *aphA*, контролирующих его биосинтез, у типичных штаммов и геновариантов.

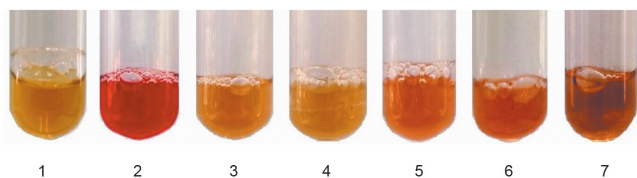


Рис. 1. Образование ацетона штаммами *V. cholerae* в реакции Фогес-Проскауэра:

1 – штамм классического биовара 569В (отрицательный контроль); 2 – типичный штамм *V. cholerae* M818 биовара Эль Тор (положительный контроль); 3–7 – геноварианты *V. cholerae* M1299, 147, M1345, P17644, M1266 биовара Эль Тор

Fig. 1. Acetoin production by *V. cholerae* strains in Voges-Proskauer test:

1 – strain of classical biovar 569B (negative control); 2 – typical *V. cholerae* strain M818, biovar El Tor (positive control); 3–7 – *V. cholerae* genovariants M1299, 147, M1345, P17644, M1266, biovar El Tor

Согласно данным литературы, *als* оперон включает шесть генов – *alsR*, *alsD*, *alsS*, *alsO*, *acgA* и *acgB*. При этом гены *acgA* и *acgB* не участвуют в биосинтезе ацетона, так как кодируют соответственно белки с фосфодиэстеразным (EAL) и дигуанилат циклазным (GGDEF) доменами, которые контролируют содержание сигнальной молекулы – циклического дигуанилата. Остальные четыре гена необходимы для продукции ацетона. При этом *alsR* кодирует транскрипционный регулятор, позитивно контролирующей экспрессию генов *alsD*, *alsS* и *alsO*, ответственных соответственно за продукцию ферментов – ацетолактат декарбоксилазы, ацетолактат синтазы, ацетолактат оксидоредуктазы. Между генами *alsR* и *alsD* расположен сайт связывания с регуляторным белком AphA, положительно контролирующим биосинтез факторов вирулентности, но подавляющим продукцию ацетона [8].

При анализе нуклеотидной последовательности генов *alsR*, *alsD*, *alsS*, *alsO* типичных штаммов установлена их идентичность таковым референс-штамма *V. cholerae* N16961 биовара Эль Тор. Исключение составил штамм M893, у которого в гене *alsS* в позиции 644 от начала гена выявлена несинонимичная замена С на Т. Однако наличие указанной SNP не влияет на образование ацетона данным штаммом.

Исследование структуры *als* оперона генетически измененных штаммов показало, что они содержат интактный ген *alsR*, структура генов *alsO* и *alsS* также была идентична таковым референс-штамма. Однако у всех изученных геновариантов в после-

довательности гена *alsD*, кодирующего ацетолактат декарбоксилазу, выявлено отсутствие тиминового нуклеотида в позиции 315 от начала гена. Наличие делеции подтвердилось при последующем проведении фрагментарного секвенирования гена *alsD* у взятых в анализ штаммов. Необходимо отметить, что указанная делеция в гене *alsD* выявлена нами ранее при анализе шести клинических генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор [18], что указывает на закономерность, присущую всем изученным генетически измененным штаммам. Кроме того, при анализе последовательности гена *alsD* генетически измененного штамма *V. cholerae* ВАА-2163 биовара Эль Тор (Гаити, 2010), нуклеотидная последовательность полного генома которого депонирована в GenBank (2010EI – 1786, код доступа AELN000000000.1) и который, согласно данным литературы, дает слабopоложительную реакцию Фогес-Проскауэра [6, 7], также выявлена данная делеция. Таким образом, снижение (или отсутствие) продукции ацетона у геновариантов коррелирует с изменением структуры гена *alsD*.

Делеция тиминового нуклеотида в позиции 315 в гене *alsD* приводит к сдвигу рамки считывания и образованию преждевременного стоп-кодона. Последующий анализ предполагаемой аминокис-

лотной последовательности белка AlsD у взятого в качестве модельного штамма *V. cholerae* M1293 в сравнении с таковой референс-штамма N16961 биовара Эль Тор действительно выявил различия в количестве аминокислот. Так, у геноварианта было на 145 аминокислотных остатков меньше, чем у референс-штамма. При этом процентное содержание некоторых аминокислот возрастало в результате уменьшения их общего количества (табл. 2).

Далее проведено моделирование пространственной структуры белка AlsD геноварианта M1293 и референс-штамма N16961 (рис. 2). Score (Z) QMEAN моделей белка AlsD составил – 1,13, что указывало на их высокое качество (модели с показателем Z ниже – 4,0 считаются низкокачественными). В результате наглядно показано, что белок AlsD геновариантов действительно сильно редуцирован. Таким образом, выявленные структурные изменения гена *alsD* геновариантов приводят к биосинтезу дефектного фермента ацетолактат декарбоксилазы, не способной участвовать в процессе декарбоксилирования α -ацетолактата в ацетон.

Однако в отсутствии ацетолактат декарбоксилазы возможно спонтанное (неферментативное) декарбоксилирование, что фенотипически проявляется в наличии слабopоложительной реакции Фогес-

Таблица 2 / Table 2

Сравнительный анализ аминокислотного состава белка AlsD референс-штамма *V. cholerae* N16961 биовара Эль Тор и геноварианта M1293 с использованием программы BioEdit Sequence Alignment Editor

Comparative analysis of amino-acid composition of AlsD protein in *V. cholerae* reference-strain N16961, biovar El Tor and genovariant M1293, using BioEdit software tools, Sequence Alignment Editor

Аминокислота / Amino acid	Референс-штамм N16961 / Reference-strain N16961		Геновариант M1293 / Genovariant M1293	
	количество аминокислот / number of amino acids	содержание, в % / content, %	количество аминокислот / number of amino acids	содержание, в % / content, %
Аланин / Alanine	19	7,28	13	11,21
Цистеин / Cysteine	3	1,15	3	2,59
Аспарагиновая кислота / Asparagine acid	11	4,21	4	3,45
Глутаминовая кислота / Glutamine acid	16	6,13	8	6,90
Фенилаланин / Phenylalanine	17	6,51	8	6,90
Глицин / Glycine	19	7,28	9	7,76
Гистидин / Histidine	10	3,83	5	4,31
Изолейцин / Isoleucine	20	7,66	7	6,03
Лизин / Lysine	4	1,53	1	0,86
Лейцин / Leucine	19	7,28	13	11,21
Метионин / Methionine	4	1,53	2	1,72
Аспарагин / Asparagine	7	2,68	2	1,72
Пролин / Proline	15	5,75	6	5,17
Глутамин / Glutamine	26	9,96	11	9,48
Аргинин / Arginine	17	6,51	3	2,59
Серин / Serine	13	4,98	9	7,76
Треонин / Threonine	18	6,90	6	5,17
Валин / Valine	16	6,13	3	2,59
Триптофан / Tryptophan	0	0,00	0	0,00
Тирозин / Tyrosine	7	2,68	3	2,59
Всего аминокислот / Total number of amino acids	261	100,00	116	100,00

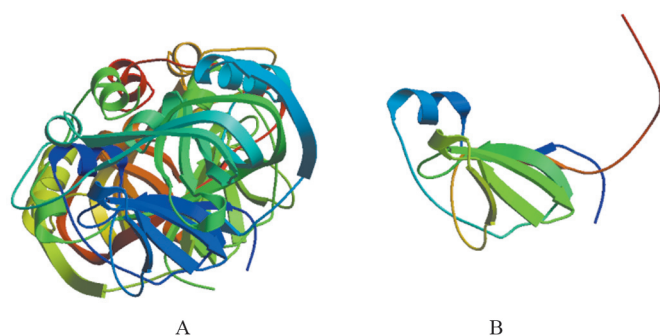


Рис. 2. Моделирование пространственной структуры белка AlsD у референс-штамма *V. cholerae* N16961 биовара Эль Тор (А) и генетически измененного штамма M1293 (В) с использованием алгоритма ProMod 3 V. 1.1.0

Fig. 2. Modeling of spatial (3-D) structure of AlsD protein in *V. cholerae* reference-strain N16961, biovar El Tor (A) and genetically altered strain M1293 (B), using ProMod V.1.1.0. algorithm

Проскауэра [8]. Возможно, у анализируемых нами генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор также происходит процесс спонтанного декарбоксилирования. При этом у каждого штамма данный процесс, возможно, происходит с неодинаковой интенсивностью и образуется разное количество ацетона, поэтому мы наблюдаем слабоположительную реакцию Фогес-Проскауэра с разной окраской среды (от светлорозового до темнорозового).

Учитывая важную роль в образовании ацетона регуляторных белков AlsR и AphA [8], далее изучена экспрессия генов *aphA* и *alsR* методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. В качестве референс-штамма, экспрессия генов которого взята за единицу, произвольно выбран типичный штамм *V. cholerae* M818. В результате установлено, что у геновариантов уровень экспрессии *alsR* сопоставим с экспрессией данного гена в типичных штаммах (табл. 1). В то же время уровень экспрессии *aphA* превышает этот показатель типичных штаммов в среднем в 2,5 раза.

Увеличенная продукция белка AphA, являющегося одним из центральных регуляторов экспрессии генов вирулентности, у генетически измененных штаммов вполне объяснима. Как известно, указанные штаммы отличаются повышенной продукцией данных факторов вирулентности [4, 13, 19, 20]. Возможно, повышение уровня экспрессии гена *aphA*, являющегося негативным регулятором биосинтеза ацетона, также может обуславливать понижение или отсутствие его продукции у генетически измененных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор.

Таким образом, диагностически значимый признак – реакция Фогес-Проскауэра, используемая для дифференциации биоваров *V. cholerae* O1, изменен у всех изученных генетически измененных штаммов возбудителя холеры, завезенных в разные периоды седьмой пандемии холеры (1993–2011 гг.). Показано, что, в отличие от типичных изолятов, у 66,7 % исследованных геновариантов реакция Фогес-Проскауэра является слабоположительной, у 33,3 % – отрицательной, что указывает на снижение либо отсутствие

их способности образовывать ацетон из глюкозы. Измененная способность к образованию ацетона у геновариантов возбудителя холеры Эль Тор, возможно, является следствием делеции единичного нуклеотида (Т в позиции 315) в структурном гене *alsD*, кодирующем ацетоллактат декарбоксилазу, а также высокого уровня экспрессии гена *aphA*, негативного регулятора биосинтеза ацетона. Однако мы не исключаем у геновариантов возможного присутствия еще не известных механизмов, также оказывающих влияние на биосинтез ацетона данными штаммами.

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

Список литературы

1. Ali M., Nelson A. R., Lopez A.L., Sack D. A. Updated global burden of cholera in endemic countries. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(6):e0003832. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003832
2. World Health Organization. Cholera, 2017. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 2018; 93(38):489–500.
3. Kaper J.B., Morris J., Levin M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–89.
4. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., Kamruzzaman M., Siddique A.K., Sack D.A. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40(9):3296–99. DOI: 10.1128/JCM.40.9.3296-3299.2002.
5. Safa A., Bhuiyan N.A., Nusrin S., Ansaruzzaman M., Alam M., Hamabata T., Takeda Y., Sack D.A., Nair G.B. Genetic characteristics of Matlab variants of *Vibrio cholerae* O1 that are hybrids between classical and El Tor biotypes. *J. Med. Microbiol.* 2006; 55(11):1563–69. DOI: 10.1099/jmm.0.46689-0.
6. Son M.S., Megli C.J., Kovacicova G., Qadri F., Taylor R.K. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49(11):3739–49. DOI: 10.1128/JCM.01286-11.
7. Brumfield K.D., Carignan B.M., Son M.S. Genotypic and phenotypic assays to distinguish *Vibrio cholerae* biotype. In: Sikora A., editor. *Vibrio cholerae. Methods in Molecular Biology.* Humana Press, New York, NY; 2018. Vol. 1839. P. 11–28. DOI: 10.1007/978-1-4939-8685-9_2.
8. Kovacicova G., Lin W., Skorupski K. Dual regulation of genes involved in acetoin biosynthesis and motility/biofilm formation by the virulence activator AphA and the acetate-responsive LysR-type regulator AlsR in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2005; 57: 420–433. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2005.04700.x.
9. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. М.: Мир; 1984. 480 с.
10. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods.* 2001; 25:402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.
11. Benkert P., Biasini M., Schwede T. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics.* 2011; 27:343–50. DOI: 10.1093/bioinformatics/btq662.
12. Bertoni M., Kiefer F., Biasini M., Bordoli L., Schwede T. Modeling protein quaternary structure of homo- and hetero-oligomers beyond binary interactions by homology. *Sci. Rep.* 2017; 7:10480. DOI: 10.1038/s41598-017-09654-8.
13. Смирнова Н.И., Горяев А.А., Заднова С.П., Краснов Я.М., Лозовский Ю.В., Кутырев В.В. Генетическая характеристика клинических штаммов *Vibrio cholerae*, завезенных на территорию Российской Федерации в современный период. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2011; 3:3–10.
14. Савельев В.Н., Савельева И.В., Бабенко Б.В., Куличенко А.Н. Эволюция возбудителя и клинико-эпидемиологические особенности современной холеры Эль Тор. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2012; 5:31–5.
15. Плеханов Н.А., Заднова С.П. Структурно-функциональный анализ генов, кодирующих биосинтез маннозосвязывательных гемагглютинирующих пилей адгезии у различных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2016; 4:75–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-75-78.
16. Монахова Е.В., Писанов Р.В., Титова С.В. Особенности структуры генома возбудителей холеры, циркулирующих на территориях России и сопредельных стран. В кн.: Покровский

В.И., редактор. Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика». Тамбов: ООО фирма «Юлис», 2017. Т. 1. С. 325–7.

17. Kuleshov K.V., Kostikova A., Pisarenko S.V., Kovalev D.A., Tikhonov S.N., Savelieva I.V., Saveliev V.N., Vasilieva O.V., Zinich L.S., Pidchenko N.N., Kulichenko A.N., Shipulin G.A. Comparative genomic analysis of two isolates of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor isolated during outbreak in Mariupol in 2011. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 44:471–8. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.07.039.

18. Заднова С.П., Челдышова Н.Б., Крицкий А.А., Адамов А.К., Девдариани З.Л., Кутырев В.В. Сравнительный анализ метаболизма глюкозы в штаммах *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2017; 35(2):64–9. DOI: 10.18821/0208-0613-2017-35-2-64-69.

19. Ghosh-Banerjee J., Senoh M., Takahashi T. Cholera toxin production by the El Tor variant of *Vibrio cholerae* O1 compared to prototype El Tor and classical biotypes. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(11):4283–6. DOI: 10.1128/JCM.00799-10.

20. Ghosh P., Sinha R., Samanta P., Saha D.R., Koley H., Dutta S., Okamoto K., Ghosh A., Ramamurthy T., Mukhopadhyay A.K. Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 strains manifest higher virulence in animal models. *Front. Microbiol.* 2019; 10:111. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00111.

References

1. Ali M., Nelson A. R., Lopez A.L., Sack D. A. Updated global burden of cholera in endemic countries. *PLoS. Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(6):e0003832. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003832

2. World Health Organization. Cholera, 2017. *Wkly. Epidemiol. Rec.* 2018; 93(38):489–500.

3. Kaper J.B., Morris J., Levin M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–89.

4. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., Kamruzzaman M., Siddique A.K., Sack D.A. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype El Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40(9):3296–99. DOI: 10.1128/JCM.40.9.3296-3299.2002.

5. Safa A., Bhuiyan N.A., Nusrin S., Ansaruzzaman M., Alam M., Hamabata T., Takeda Y., Sack D.A., Nair G.B. Genetic characteristics of Matlab variants of *Vibrio cholerae* O1 that are hybrids between classical and El Tor biotypes. *J. Med. Microbiol.* 2006; 55(11):1563–69. DOI: 10.1099/jmm.0.46689-0.

6. Son M.S., Megli C.J., Kovacicova G., Qadri F., Taylor R.K. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49(11):3739–49. DOI: 10.1128/JCM.01286-11.

7. Brumfield K.D., Carignan B.M., Son M.S. Genotypic and phenotypic assays to distinguish *Vibrio cholerae* biotype. In: Sikora A., editor. *Vibrio cholerae*. Methods in Molecular Biology. Humana Press, New York, NY; 2018. Vol. 1839. P. 11–28. DOI: 10.1007/978-1-4939-8685-9_2.

8. Kovacicova G., Lin W., Skorupski K. Dual regulation of genes involved in acetoin biosynthesis and motility/biofilm formation by the virulence activator AphA and the acetate-responsive LysR-type regulator AlsR in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2005; 57: 420–433. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2005.04700.x.

9. Maniatis T., Fritsch E., Sambrook J. Molecular cloning. M.: “Mir”; 1984. 480 p.

10. Livak K.J., Schmittgen T.D. Analysis of relative gene expression data using realtime quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*. 2001; 25:402–8. DOI: 10.1006/meth.2001.1262.

11. Benkert P., Biasini M., Schwede T. Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bio-*

informatics. 2011; 27:343–50. DOI: 10.1093/bioinformatics/btq662.

12. Bertoni M., Kiefer F., Biasini M., Bordoli L., Schwede T. Modeling protein quaternary structure of homo- and hetero-oligomers beyond binary interactions by homology. *Sci. Rep.* 2017; 7:10480. DOI: 10.1038/s41598-017-09654-8.

13. Smirnova N.I., Goryaev A.A., Zadnova S.P., Krasnov Ya.M., Lozovsky Yu.V., Kutyrev V.V. Genetic characteristics of clinical *Vibrio cholerae* strains, imported in the territory of the Russian Federation in the modern period. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology]*. 2011; 3:3–10.

14. Savel'ev V.N., Savel'eva I.V., Babenyshev B.V., Kulichenko A.N. Evolution of the agent and clinical-epidemiological peculiarities of modern-day cholera El Tor. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2012; 5:31–5.

15. Plekhanov N.A., Zadnova S.P. Structural-Functional Analysis of the Genes, Encoding Biosynthesis of Mannose-Sensitive Hemagglutinating Pili of Adhesion in Different *Vibrio cholerae* El Tor Strains. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 4:75–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-75-78.

16. Monakhova E.V., Pisanov R.V., Titova S.V. [Peculiarities of genome structure in cholera agents, circulating in the territories of Russia and other neighboring countries]. In: Pokrovsky V.I., editor. [Proceedings of the IX All-Russian Scientific-and-Practical Conference with International Participation “Molecular Diagnostics”]. Tambov: «Ulyss» Ltd.; 2017. Vol. 1. P. 325–7.

17. Kuleshov K.V., Kostikova A., Pisarenko S.V., Kovalev D.A., Tikhonov S.N., Savelieva I.V., Saveliev V.N., Vasilieva O.V., Zinich L.S., Pidchenko N.N., Kulichenko A.N., Shipulin G.A. Comparative genomic analysis of two isolates of *Vibrio cholerae* O1 Ogawa El Tor isolated during outbreak in Mariupol in 2011. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 44:471–8. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.07.039.

18. Zadnova S.P., Cheldyshova N.B., Kritsky A.A., Adamov A.K., Devdariani Z.L., Kutyrev V.V. Comparative analysis of glucose metabolism in *Vibrio cholerae* strains, biovar El Tor. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya, Virusologiya [Molecular genetics, Microbiology, and Virology]*. 2017; 35(2):64–9. DOI: 10.18821/0208-0613-2017-35-2-64-69.

19. Ghosh-Banerjee J., Senoh M., Takahashi T. Cholera toxin production by the El Tor variant of *Vibrio cholerae* O1 compared to prototype El Tor and classical biotypes. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48(11):4283–6. DOI: 10.1128/JCM.00799-10.

20. Ghosh P., Sinha R., Samanta P., Saha D.R., Koley H., Dutta S., Okamoto K., Ghosh A., Ramamurthy T., Mukhopadhyay A.K. Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 strains manifest higher virulence in animal models. *Front. Microbiol.* 2019; 10:111. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00111.

Authors:

Zadnova S.P., Kritsky A.A., Plekhanov N.A., Guseva N.P., Lozovsky Yu.V., Smirnova N.I. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Об авторах:

Заднова С.П., Крицкий А.А., Плеханов Н.А., Гусева Н.П., Лозовский Ю.В., Смирнова Н.И. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Поступила 08.04.19.

Отправлена на доработку 11.04.19.

Принята к публ. 17.04.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-69-73

УДК 616.98:578.833.29(470)

Л.С. Зинич, И.С. Коваленко, Н.Н. Пидченко, С.Н. Тихонов

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ХАНТАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В КРЫМУ

ФГКУЗ «Противочумная станция Республики Крым», Симферополь, Российская Федерация

Цель данной работы – определение эпидемиологической значимости хантавирусов, циркулирующих на территории Крыма, на основе ретроспективных сведений и с учетом полученных результатов за период мониторинга с 2015 по 2018 год. **Материалы и методы.** Исследование мелких млекопитающих и сывороток крови доноров проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа. **Результаты и обсуждение.** Проводимые в 1985–1989 гг. изучения геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) позволили предположить, что циркулирующие среди полевых рода *Microtus* хантавирусы не имеют этиологической значимости в структуре заболеваемости ГЛПС. Проведенные в 2008 г. исследования выявили циркуляцию хантавирусов серотипа *Tula* среди *Microtus arvalis* (*obscurus*). Исследования природной очаговости хантавирусной инфекции в Крыму в течение 2015–2018 гг. показали циркуляцию хантавирусов среди мелких млекопитающих (*Microtus socialis*, *Mus musculus*, *Sylviaemus witherbyi*, *Crocidura suaveolens*), которые не являются основными резервуарами патогенных хантавирусов. Также выявлены серопозитивные к хантавирусам доноры – 0,4 %. Местные случаи заражения ГЛПС за весь период наблюдения не зарегистрированы. Для подтверждения положительных находок и определения эпидемиологической значимости циркулирующих возбудителей, пробы с положительными находками на хантавирусы отправлены в 2017 г. в Референс-центр по ГЛПС. Результаты исследований Референс-центра не подтвердили наличие антител к патогенным для человека хантавирусам в сыворотках крови доноров; в биологическом материале от мышевидных грызунов антиген патогенных для человека серотипов хантавируса не выявлен. Таким образом, в природных очагах Крыма в 2015–2018 гг. зарегистрирована циркуляция хантавирусов, которые не относятся к патогенным для человека серотипам хантавируса *Puumala*, *Hantaan*, *Dobrava*. Обнаружение серопозитивных доноров, свидетельствует о контакте населения республики с непатогенными для человека хантавирусами.

Ключевые слова: хантавирусная инфекция, эпидемиологическая значимость, природные очаги.

Корреспондирующий автор: Зинич Лилия Сергеевна, e-mail: krimpchs@mail.ru.

Для цитирования: Зинич Л.С., Коваленко И.С., Пидченко Н.Н., Тихонов С.Н. Эпидемиологическая значимость хантавирусной инфекции в Крыму. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:69–73. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-69-73

L.S. Zinich, I.S. Kovalenko, N.N. Pidchenko, S.N. Tikhonov

Epidemiological Significance of Hantavirus Infection in Crimea

Plague Control Station in the Republic of Crimea, Simferopol, Russian Federation

Abstract. Objective of this work was to determine epidemiological significance of Hantaviruses, circulating in Crimea, on the basis of retrospective data and taking into account the results obtained over the monitoring period of 2015–2018. **Materials and methods.** The study of small mammals and blood sera of donors was carried using enzyme-linked immunosorbent assay. **Results and discussion.** Held in 1985–1989 studies of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) suggested that Hantaviruses, circulating among the voles of the genus *Microtus* in the territory of Crimea, do not have etiological significance in the structure of HFRS incidence. A 2008 study found the circulation of Hantaviruses of the *Tula* serotype among *Microtus arvalis* (*obscurus*). Studies on the natural focalities of Hantavirus infection in Crimea during 2015–2018 showed circulation of Hantaviruses among small mammals: *Microtus socialis*, *Mus musculus*, *Sylviaemus witherbyi*, *Crocidura suaveolens*, which are not the main reservoirs of pathogenic Hantaviruses. Also, seropositive to hantavirus donors were detected – 0.4 %. Local cases of HFRS infection for the entire observation period were not registered. To confirm the positive findings and determine the epidemiological significance of circulating pathogens, samples with positive for Hantaviruses findings were sent to the reference center for HFRS in 2017. The results of the investigation did not confirm the presence of antibodies to human pathogenic Hantaviruses in the blood sera of donors; in the biological material from mouse-like rodents, the antigen of pathogenic for humans serotypes of Hantavirus was not detected. Thus, in the natural foci of Crimea in 2015–2018, the circulation of Hantaviruses which do not belong to pathogenic for humans serotypes of Hantavirus *Puumala*, *Hantaan*, *Dobrava* was registered. Detection of seropositive donors testifies to natural immunization of the population through circulation of Hantaviruses that are non-pathogenic for humans or Hantaviruses of other serotypes.

Key words: Hantavirus infection, epidemiological significance, natural foci.

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

Corresponding author: Liliya S. Zinich, e-mail: krimpchs@mail.ru.

Citation: Zinich L.S., Kovalenko I.S., Pidchenko N.N., Tikhonov S.N. Epidemiological Significance of Hantavirus Infection in Crimea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2019; 2:69–73. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-69-73

Received 20.12.18. Revised 18.01.19. Accepted 14.02.19.

Изучение геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) началось в России более 70 лет назад. Возбудители этой болезни – хантавирусы *Puumala*, *Hantaan*, *Seul* и *Dobrava*. К ним относятся, кроме патогенных для человека, также вирусы с неустановленными к настоящему времени эпидемиологическими характеристиками. На территории Российской Федерации (РФ) среди мелких млекопитающих (ММ) циркулируют, по крайней мере, восемь серотипов хантавирусов [1].

В европейской части РФ выявлена циркуляция трех патогенных для человека серотипов хантавирусов: *Puumala*, *Hantaan*, *Dobrava* (*Dobrava/Belgrad-Dobrava/Kurkino* и *Dobrava/Sochi*). Кроме того, широко распространен непатогенный для человека хантавирус *Tula*. Хантавирусы эволюционно ассоциированы с определенными видами мелких млекопитающих, которые являются его основным (резервуарным) хозяином, способным поддерживать природные очаги. Так, в лесной и лесостепной зонах европейской части России циркулирует хантавирус *Puumala*, резервуаром которого в природе является рыжая полевка *Myodes glareolus* – типичный лесной грызун, ареалом обитания которого являются широколиственные и смешанные леса с большой долей липы. Это регион Среднего Поволжья и Приуралья, на которые приходится около 80 % всех случаев заражения ГЛПС в России. Для хантавируса *Dobrava/Kurkino* резервуарным хозяином является западный подвид полевой мыши – *Apodemus agrarius agrarius*. Ареал обитания – лесостепная зона Центрального региона РФ (Центральное Черноземье, Тульская и Рязанская области). Очаги геноварианта *Dobrava/Sochi* выявлены в основном в Южном регионе (Причерноморье) и ассоциированы с кавказской лесной мышью *Apodemus ponticus* [2, 3].

Наряду с патогенными для человека, также известна широкая циркуляция непатогенных хантавирусов. Основным хозяином непатогенного для человека хантавируса *Tula* – обыкновенная полевка *Microtus arvalis (obscurus)*, которая широко распространена в Центральном регионе. Инфицированные особи этих грызунов часто встречаются на очаговой территории хантавирусов, однако они не могут служить источником заражения ГЛПС для людей [4, 5].

В Крыму детальное изучение ГЛПС проводилось Крымской противочумной станцией при поддержке Института полиомиелита и вирусных энцефалитов Российской академии наук в 1985–1989 гг. Именно тогда от обыкновенных полевок *Microtus arvalis (obscurus)* впервые выделены хантавирусные штаммы. Проведенная серологическая идентификация с помощью дифференцирующих поликлональных сывороток и моноклональных антител к серотипам *Puumala*, *Hantaan*, *Seul* не показала сходство ни с одним из патогенных серотипов, т.е. на том этапе изучения эпидемиологическую значимость циркулирующих хантавирусов не определили окончательно, но было сформулировано пред-

положение, что циркулирующие в Крыму среди полевок рода *Microtus* хантавирусные штаммы не имеют этиологической значимости в структуре заболеваемости ГЛПС [6].

Целью данной работы является определение эпидемиологической значимости хантавирусов, циркулирующих на территории Крыма, на основе ретроспективных сведений и с учетом полученных результатов за период мониторинга с 2015 по 2018 год.

Материалы и методы

Сбор мелких млекопитающих (ММ) проводился на территории Крымского полуострова в период с 2015 по 2018 год во всех административных муниципалитетах. Мелких млекопитающих отлавливали с помощью давилок Геро методом накопления ловушко/суток в разных ландшафтных зонах Крыма согласно МУ 3.1.1029-01. За весь период обследования территории накоплено 12523 ловушко/сут, отловлено и исследовано 1547 экземпляров ММ. Для выявления антигена вируса геморрагической лихорадки с почечным синдромом (штаммы *Puumala*, *Dobrava*, *Hantaan*), отобраны легкие ММ. Все образцы (суспензия) исследованы методом твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА).

Все стадии исследования соответствовали законодательству РФ, международным этическим нормам и нормативным документам учреждения.

Также для проведения работы отобрали сыворотки крови здорового населения (доноры) из 15 административных территорий Республики Крым. Всего на протяжении 2015 г. взяты пробы у 1508 человек. В течение 2015–2016 гг. все сыворотки исследовались методом ТИФА для выявления специфических иммуноглобулинов класса G к хантавирусам, исследования материала от больных с подозрением на ГЛПС проводилось методом ТИФА с целью выявления иммуноглобулинов классов M и G к хантавирусам (штаммов *Hantaan* и *Puumala*) в сыворотке (плазме) крови.

Для постановки ТИФА использовали спектрофотометр (ридер) PR 2100, промыватель (вошер) RW 40, термошейкер (сухой инкубатор) AIR-4 (Франция), тест-системы «ВектоХанта-IgG», «ВектоХанта-IgM» (Россия), тест-системы «Белар-ГЛПС-АГ» (Республика Беларусь).

Результаты и обсуждение

В 2011 г. природная очаговость инфекции, вызываемой хантавирусами, установлена на 11 муниципальных территориях Крымского полуострова (информационное письмо ЦСЭС от 09.11.2011 г. № 04.4.-03.03/226-2432): Бахчисарайский, Белогорский, Джанкойский, Краснопереконский, Ленинский, Нижнегорский, Первомайский, Симферопольский районы, Алуштинский и Судакский городские округа, Севастополь.

Результаты скрининга здорового населения на наличие IgG к хантавирусам в Крыму в 2015–2016 гг.
Screening of intact population for the presence of IgG to Hantaviruses in the territory of Crimea in 2015–2016

Территория / Area	Кол-во проб (абс.) / Number of samples (Absol.)	Из них положительных (абс. / %) / Positive samples (Absol. / %)
Алуштинский г/о / Alushta urban district	90	0/0
Бахчисарайский р-н / Bakhchisarai district	354	1/0,3
Белогорский р-н / Belogorsky district	56	0/0
Джанкойский р-н / Dzhankoi district	95	0/0
Керченский г/о / Kerch urban district	111	0/0
Кировский р-н / Kirovsky district	64	1/1,5
Красногвардейский р-н / Krasnogvardeisky district	75	1/1,3
Ленинский р-н / Leninsky district	73	0/0
Нижегородский р-н / Nizhnegorsky district	83	1/1,2
Первомайский р-н / Pervomaisky district	74	0/0
Симферопольский р-н / Simferopol district	105	0/0
Советский р-н / Sovetsky district	62	1/1,6
Судакский г/о / Sudak urban district	78	1/1,3
Феодосийский г/о / Feodosiya urban district	77	0/0
Ялтинский г/о / Yalta urban district	111	0/0
Итого / Total:	1508	6/0,4

По ретроспективным данным, природные очаги с циркуляцией хантавирусов расположены как в степной, так и в горно-предгорной части Крымского полуострова. Основными носителями вирусов являются полевки рода *Microtus* [6]. Мелкие млекопитающие, у которых ранее доказана циркуляция патогенных серотипов хантавирусов, на территории Крымского полуострова не встречаются [7, 8].

Вирусологическими исследованиями материала из Крыма на ГЛПС, проведенными в 2008 г. на базе ГНЦ ВБ «Вектор», получено генетическое доказательство циркуляции хантавируса серотипа *Tula* на территории Крыма, который является непатогенным для человека [9].

Системный мониторинг природных очагов ГЛПС в Крыму начался с 2015 г. При проведении мониторинга циркуляции хантавирусов в объектах окружающей среды полуострова в течение 2015–2018 гг. эпизоотологическими обследованиями охватили все ландшафтные зоны и административные районы Крыма. За указанный период положительные на хантавирусы находки (метод ТИФА, 2016 г.) выявлены у 15 экземпляров ММ, относящихся к четырем видам: *Sylvaemus witherbyi*, *Crocidura suaveolens*, *Microtus socialis*, *Mus musculus* (инфицированность ММ – 3,28 %), которые не являются основными резервуарами патогенных хантавирусов для Евразии. Мелкие млекопитающие отловлены на четырех административных территориях: Ленинском (пос. Марьевка – 8, пгт Ленино – 3), Кировском (пос. Кировское – 2), Советском (пос. Лебединка – 1) районах и Алуштинском городском округе (1).

Несмотря на наличие природных очагов и выявленной циркуляции хантавирусов на территории Крымского полуострова, в официальной статисти-

ке за период статистического наблюдения с 1985 по 2018 год местные случаи заболевания людей ГЛПС не зарегистрированы [10].

В 2017 г. в Крыму зарегистрирован один завозной случай заболевания ГЛПС у туриста, прибывшего в Ялту из Рязани. Диагноз лабораторно подтвержден лабораторией Противочумной станции Республики Крым. С использованием метода ИФА в сыворотке крови больного выявлены антитела IgM в титре 1:800 и IgG в титре 1:3200, а также выявлен хантавирусный антиген.

Для определения иммунной прослойки в 2015–2016 гг. проведен скрининг здорового населения на наличие IgG к хантавирусам. Осуществлен отбор материала из 15 административных территорий. Всего из обследованных 1508 человек антитела (IgG) к хантавирусам имели 0,4 %. Иммунные к хантавирусам лица выявлены в шести регионах: Бахчисарайском, Кировском, Красногвардейском, Нижегородском, Советском районах, Судакском городском округе (г/о) (таблица). Исследования сывороток крови от жителей Севастополя не проводились.

Заболеваемость ГЛПС у местных жителей не регистрировалась, следовательно, обнаружение антител у практически здоровых людей может свидетельствовать о наличии контакта населения республики с хантавирусами [11].

Для подтверждения положительных находок и определения эпидемиологической значимости циркулирующих возбудителей в Крыму, все полученные за три года пробы с положительными находками на хантавирусы – суспензия легких мышевидных грызунов, сыворотки доноров, сыворотки крови больного (завоз из Рязани) – в 2017 г. отправлены в Референс-центр по ГЛПС (Институт полиомиелита

и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАН¹), где с целью поиска антигена хантавируса исследованы методом прямого ИФА. Сыворотки крови людей для определения наличия IgM и IgG к хантавирусу – возбудителю ГЛПС (серотипы *Puumala*, *Hantaan*, *Dobrava*), исследованы с помощью непрямого метода флуоресцирующих антител (АТ МФА), который остается стандартом при сравнении специфичности и чувствительности вновь создаваемых диагностических препаратов для серодиагностики ГЛПС [2]. Результаты исследований Референс-центра по ГЛПС подтвердили наличие антител к патогенному для человека хантавирусу серотипа *Puumala* только в двух сыворотках крови больного, заражение которого произошло в Рязани. Сыворотки крови доноров не получили подтверждения наличия антител к патогенным для человека серотипам хантавируса *Puumala*, *Hantaan*, *Dobrava*. В биологическом материале от мышевидных грызунов антиген патогенных для человека серотипов хантавируса не выявлен.

Таким образом, в природных очагах Крыма в 2015–2018 гг. зарегистрирована циркуляция хантавирусов, не относящихся к патогенным для человека серотипам *Puumala*, *Hantaan*, *Dobrava*. Обнаружение серопозитивных доноров свидетельствует о наличии контактов населения с непатогенными для человека хантавирусами серотипа *Tula* либо другого серотипа.

Выводы

1. Хантавирусы в Крыму обнаружены у четырех видов мелких млекопитающих: *Microtus socialis*, *Mus musculus*, *Sylvaeus witherbyi*, *Crocidura suaveolens*.
2. Результаты исследования полевого материала за период с 2015 по 2018 год свидетельствуют о том, что циркулирующие в Крыму хантавирусы не относятся к патогенным для человека серотипам *Puumala*, *Hantaan*, *Dobrava*.
3. Обнаружение серопозитивных доноров свидетельствует о наличии контактов населения с непатогенными для человека хантавирусами серотипа *Tula*, либо другого серотипа.
4. Эпидемиологическое значение штаммов хантавирусов, циркулирующих на территории Крымского полуострова требует продолжения изучения.

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

Список литературы

1. Ткаченко Е.А., Ишмухамедов А.А. История изучения этиологии геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Медицинский совет*. 2017; 4:86–92. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-4-86-92.
2. Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К., Бернштейн А.Д., Каротина Н.А., Окулова И.М., Мутных Е.С., Иванов А.П., Ишмухамедов А.А., Юничева Ю.В., Пиликова О.М., Морозов

В.Г., Транквиловский Д.В., Городин В.Н., Бахтина В.А., Соцкова С.Е. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (история, проблемы, перспективы изучения). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 3(88):23–34. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-23-34.

3. Klempa B., Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Yunicheva Y.V., Morozov V.G., Okulova N.M., Slyusareva G.P., Smirnov A., Kruger D.H. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Caused by 2 Lineages of Dobrava Hantavirus, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(4):617–25. DOI: 10.3201/eid1404.071310.

4. Дзагурова Т.К. Серологическое обследование больных геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Европейской части СССР. *Вопросы вирусологии*. 1983; 28(6):676–80.

5. Малкин Г.А., Дзагурова Т.К., Морозов И.А., Ткаченко Е.А. Морфологическая характеристика хантавирусов в культуре клеток VERO E6. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 2:536.

6. Маркешин С.Я., Алексеев А.Ф., Ткаченко Е.А., Чирный В.И., Захарова Т.В. Особенности природной очаговости геморрагической лихорадки с почечным синдромом в различных ландшафтах Крыма. *Вопросы вирусологии*. 1989; 34(4):485–7.

7. Дулицкий А.И. Млекопитающие. История, состояние, охрана, перспективы. Симферополь: СОНАТ; 2001. 208 с.

8. Коваленко И.С., Зинич Л.С., Якунин С.Н., Полуэктова О.А., Раменская О.Ю., Афонина А.Н., Тихонов С.Н. Результаты эпизоотологического мониторинга мелких млекопитающих в Крыму за период 2015–2017 гг. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 2:57–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-57-61.

9. Яшина Л.И., Зайковская А.В., Протопова Е.В., Бабкин И.В., Малышев Б.С., Товпинец Н.Н., Евстафьев И.Л. Хантавирус Тула на территории Крыма. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2015; 33(4):38–41.

10. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Республике Крым и городе федерального значения Севастополе в 2017 году». [Электронный ресурс]. URL: <http://82.gospotrebnadzor.ru/s/82/files/documents/Gosdoklad/147145.pdf> (дата обращения 20.07.2018).

11. Тихонов С.Н., Зинич Л.С., Афонина А.Н., Полуэктова О.А., Коваленко И.С., Якунин С.Н., Ситникова А.Л., Оксененко Н.Н. Результаты сероэпидемиологического мониторинга природно-очаговых инфекций в Крыму. *Научное обозрение. Фундаментальные и прикладные исследования*. 2018; 2. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.scientificreview.ru/article/view?id=22> (дата обращения 07.09.2018).

References

1. Tkachenko E.A., Ishmukhamedov A.A. [History of the study of hemorrhagic fever etiology with renal syndrome]. *Meditsinsky Sovet*. 2017; 4:86–92. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-4-86-92.

2. Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Bernshtein A.D., Korotina N.A., Okulova N.M., Mutnikh E.S., Ivanov A.P., Ishmukhamedov A.A., Yunicheva Yu.V., Pilikova O.M., Morozov V.G., Trankvilevskiy D.V., Sotskova S.E. [Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome (History, Problems and research perspectives)]. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and vaccinal prevention]*. 2016; 3(88):23–34. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-23-34.

3. Klempa B., Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Yunicheva Y.V., Morozov V.G., Okulova N.M., Slyusareva G.P., Smirnov A., Kruger D.H. Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome Caused by 2 Lineages of Dobrava Hantavirus, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(4):617–25. DOI: 10.3201/eid1404.071310.

4. Dzagurova T.K. [Serological screening of patients with hemorrhagic fever with renal syndrome, living in the European part of USSR]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 1983; 28(6):676–80.

5. Malkin G.A., Dzagurova T.K., Morozov I.A., Tkachenko E.A. [Morphological characteristic of Hantaviruses in the cell culture VERO E6]. *[Modern Problems of Science and Education]*. 2015; 2:536.

6. Markeshin S.Ya., Alekseev A.F., Tkachenko E.A., Chirny V.I., Zakharova T.V. [Peculiarities of natural focality of hemorrhagic fever with renal syndrome in different landscapes of Crimea]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 1989; 34(4):485–7.

7. Dulitskiy A.I. [Mammals. History, state of the issue, protection, prospects]. Simferopol: “SONAT”; 2001. 208 p.

8. Kovalenko I.S., Zinich L.S., Yakunin S.N., Poluektova O.A., Ramenskaya O.Yu., Afonina A.N., Tikhonov S.N. [Results of epizootiological monitoring of small mammals habitat in Crimea over the period of 2015–2017]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 2:57–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-57-61.

9. Yashina L.N., Zaykovskaya A.V., Protopopova E.V., Malyshev B.S., Babkin I.V., Tovpinets N.N., Evstafiev I.L. [Tula

¹В соответствии с приказом № 1112 от 01.12.2017 г. в качестве Референс-центра по ГЛПС определен ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора.

hantavirus in Crimea]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya* [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]. 2015. 33(4):38–41.

10. [State report “On the state of sanitary-epidemiological welfare of the population in the Republic of Crimea and the city of federal significance, Sevastopol in 2017”. [Internet]. (Cited 20 Jul 2018). Available from: <http://82.rosпотреbnadzor.ru/s/82/files/documents/Gosdoklad/147145.pdf>.

11. Tikhonov S.N., Zinich L.S., Afonina A.N., Poluektova O.A., Kovalenko I.S., Yakunin S.N., Sitnikova A.L., Oksenenko N.N. [Results of seroepidemiological monitoring of natural-focal infections in Crimea]. *Nauchnoe Obozrenie. Fundamentalnye Prikladnye Issledovaniya*. [Scientific Overview. Fundamental and Applied Research]. [Internet]. (Cited 07 Sept 2018). Available from: <http://www.scientificreview.ru/ru/article/view?id=22>.

Authors:

Zinich L.S., Kovalenko I.S., Pidchenko N.N., Tikhonov S.N.
Plague Control Station in the Republic of Crimea. 42, Promyshlennaya St., Simferopol, 295023, Russian Federation E-mail: krimpchs@mail.ru.

Об авторах:

Зинич Л.С., Коваленко И.С., Пидченко Н.Н., Тихонов С.Н. Противочумная станция Республики Крым. Российская Федерация, 295023, Симферополь, ул. Промышленная, д. 42. E-mail: krimpchs@mail.ru.

Поступила 20.12.18.

Отправлена на доработку 18.01.19.

Принята к публ. 14.02.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-74-78

УДК 616.98:578.833.28(470.46)

А.А. Ковалевская¹, О.Л. Василькова¹, Б.Л. Агапов¹, Е.В. Куклев², В.А. Сафронов², С.А. Щербакова²,
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 ЛИХОРАДКЕ ЗАПАДНОГО НИЛА

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 лихорадке Западного Нила в Астраханской области. **Материалы и методы.** В работе использованы материалы ФКУЗ «Астраханская противочумная станция», Управления Роспотребнадзора по Астраханской области, Областной инфекционной клинической больницы им. А.М. Ничоги. Основным методом исследования явился эпидемиологический анализ заболеваемости населения области лихорадкой Западного Нила в течение 2000–2016 гг., проанализировано 145 историй болезни. **Результаты и обсуждение.** В результате ретроспективного анализа определены и охарактеризованы основные категории эпидемиологического риска заболевания лихорадкой Западного Нила в Астраханской области в 2000–2016 гг. Установлено, что чаще болеют мужчины (95 из 145 – 65,5 %) в возрасте 19–70 лет (82,1 %). Среди женщин заболевания ЛЗН наиболее часто встречаются в этом же возрасте (75,8 %), среди детей – в возрастной группе до 6 лет (9,0 %). Анализ территории по риску заражения показал, что он высокий в одном районе, средний в одном районе, низкий в четырех районах и очень низкий в шести. При анализе условий заражения (факторов риска) ЛЗН населения области выяснено, что в подавляющем большинстве случаев (107 – 73,8 %) факторы риска не установлены. Из тех, которые удалось определить, следует выделить укус комара в доме, подвале, на рыбалке (16,3 %), а также укус, снятие с себя и раздавливание клеща незащищенными руками (6,9 %). Период наиболее высокого риска – с мая по октябрь с максимумом заболеваемости в августе (55,1 %).

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила, территория, время, контингенты и факторы эпидемиологического риска.

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

Для цитирования: Ковалевская А.А., Василькова О.Л., Агапов Б.Л., Куклев Е.В., Сафронов В.А., 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 лихорадке Западного Нила. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:74–78. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-74-78

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

Risk-Oriented Characteristics of the Current Epidemiological Situation on West Nile 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. Nichoga Regional Infectious Clinical Hospital, Astrakhan, Russian Federation

Abstract. Objective – risk-oriented assessment of the current epidemiological situation on West Nile fever in the Astrakhan Region. **Materials and methods.** Utilized were the data collected by the Astrakhan Plague Control Station, Rospotrebnadzor Administration in the Astrakhan Region, and A.M. Nichoga Regional Infectious Clinical Hospital. The key method of study was epidemiological analysis of West Nile fever incidence among the population of the Region during the period of 2000–2016. 145 case records were investigated. **Results and discussion.** Retrospective analysis provided for identification and featuring of the main categories of epidemiological risk of infection with West Nile fever in the Astrakhan Region in 2000–2016. It was established that men of 19 to 70 age range (82.1 %) are infected more often (95 out of 145 – 65 %). WNF infections in women occur among the same age group (75.8 %), and also among children aged below 6 years old (9.0 %). Analysis of the risk territories showed that the level of risk is high in one district, medium – in one district, low – in four districts, and very low – in six. When investigating the conditions of infection (risk factors) with WNF, it was determined that in the majority of cases (107 – 73.8 %) the risk factors were not specified. Out of those that were identified, one should pinpoint the bite of mosquito inside the households, basements, while fishing (16.3 %), as well as the bite, removal or squashing of a tick with unprotected hands (6.9 %). The period of the highest risk is from May to October with the maximum values of incidence in August (55.1 %).

Key words: West Nile fever, territory, time frame, contingents, and factors of epidemiological risk.

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., Shcherbakova S.A., Nikeshina N.N., Noskova L.N., Arshba T.E., Rudenko G.G., Shishlonov A.M. Risk-Oriented Characteristics of the Current Epidemiological Situation on West Nile Fever in the Astrakhan Region. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:74–78. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-74-78

Received 06.09.18. Revised 19.10.18. Accepted 08.11.18.

Вирус Западного Нила (семейство *Flaviviridae*) впервые выделен в 1937 г. в Омого, (федеральный район Западный Нил, Уганда) [1] из крови больного человека.

По данным вирусологических и серологических исследований, вирус Западного Нила (ВЗН) широко распространен на территории Восточной, Центральной и Южной Африки, Азии (включая Индию, Малайзию, Таиланд, Филиппины), а также в Европе – на юге Франции, Португалии и Чехословакии [2]. Штаммы вируса Западного Нила выделены в США [3, 4], в Азербайджане, Узбекистане, Туркменистане [1, 5] и на юге России (в Астраханской области) [6–10].

Основными переносчиками вируса являются комары [3, 9]. Кроме них, эффективными переносчиками и резервуарами вируса Западного Нила являются клещи [8, 11], теплокровными хозяевами – грызуны, крупный и мелкий рогатый скот, лошади и верблюды [3, 5, 10].

В Российской Федерации первые три штамма ВЗН выделены в Астраханской области в 1963 г. из преимаго клещей *Hyalomma plumbeum* (современное название *H. marginatum*), снятых с грачей. В последующие годы в Астраханской области штаммы ВЗН изолировали из преимаго *H. marginatum*, крови больных людей, мозга вороны, больших бакланов, сороки и голубя, каравайки, проб крови зайца-русака, комаров разных видов (*Mansonia richiardii*, *Aedes vexans* и *An. messae*) [6, 12].

Первые 11 верифицированных случаев заболевания лихорадкой Западного Нила (ЛЗН) в Российской Федерации зарегистрированы в Астраханской области в 1967 г. в результате серологического и вирусологического обследования больных острыми лихорадочными заболеваниями неясной этиологии [2, 3]. В 1990–1996 гг. в Астраханской области выявлено 10 лабораторно подтвержденных случаев ЛЗН, в 1997 г. – 8, в 1998 г. – 9. В 1999 г. на юге европейской части России наблюдалась крупная эпидемическая вспышка этой инфекции (560 случаев): впервые в Волгоградской области (380 больных) [13, 14, 16], Краснодарском крае (85), а также в Астраханской области (95) [6, 15, 17].

Цель работы – риск-ориентированная оценка современной эпидемиологической обстановки по лихорадке Западного Нила 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). Всего изучено 145 историй болезни больных ЛЗН жителей Астраханской обла-

сти в течение последних 17 лет (2000–2016 гг.).

Основным методом исследования явился эпидемиологический анализ. Статистическая обработка данных выполнена с использованием общепринятых методов [18] в программе «Statistica» 6.0.

Результаты и обсуждение

Согласно данным Управления Роспотребнадзора по Астраханской области, заболеваемость ЛЗН в течение последних 17 лет (2000–2016 гг.) распределена неравномерно (рис. 1).

Приведенные данные свидетельствуют о том, что наблюдаются выраженные колебания уровня заболеваемости в течение всего анализируемого периода. Вероятно, колебания уровня заболеваемости ЛЗН связаны с изменением интенсивности способа передачи инфекции и, в частности, с численностью комаров.

Показатель заболеваемости ЛЗН на 100 тыс. населения в Астраханской области колебался от 7,3 в 2005 г. до 0,1 в 2007 и 2016 гг., составляя в среднем $(2,7 \pm 1,2)$. Вычисление тенденции динамики заболеваемости этой инфекцией в Астраханской области проводилось методом линейной регрессии в программе «Statistica». Уравнение линейной аппроксимации указывает на незначительное снижение уровня заболеваемости (практически ее отсутствие), т.к. величина стандартизованного регрессионного коэффициента равнялась 0,09 при его колебаниях от -1 до +1. Модель полиномиальной аппроксимации 6-го порядка свидетельствует о выраженном всплесочном характере изменения заболеваемости ЛЗН с величиной достоверности ниже средней $R^2 < 0,4$. Исходя из полученных моделей, в ближайшие годы можно ожидать очередную вспышку заболеваемости.

Нами проведено изучение 145 историй болезни за последние 12 лет (период наблюдения –

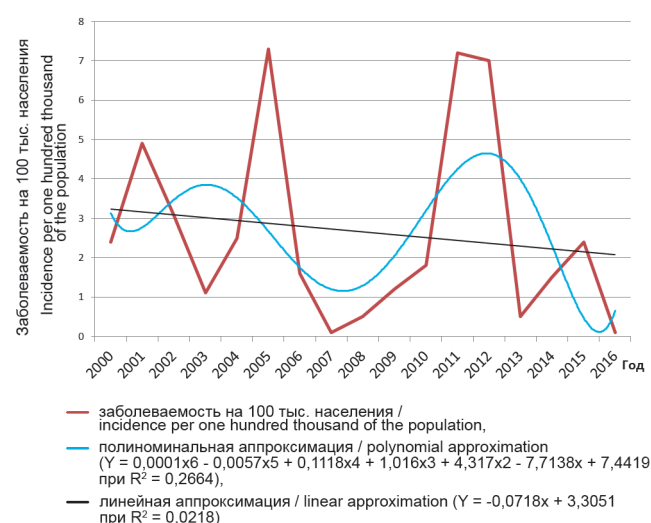


Рис. 1. Динамика и уровень заболеваемости ЛЗН в Астраханской области в 2000–2016 гг.

Fig. 1. Dynamics and level of WNF incidence in the Astrakhan Region in 2000–2016

Таблица 1 / Table 1

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

Division of WNF patients by gender and age in the Astrakhan Region in 2000–2016

Возраст / Age	Мужчины / Men		Женщины / Women		Общее кол-во больных / Total number of patients	
	абс. число / absolute number	%	абс. число / absolute number	%	абс. число / absolute number	%
До 6 лет / Under 6 years	6	6,3	7	14,0	13	9,0
6–11	3	3,1	1	2,0	4	2,8
12–18	3	3,2	4	8,0	7	4,8
19–30	28	29,4	6	12,0	34	23,4
31–50	28	29,5	12	24,0	40	27,6
51–70	22	23,2	16	32,0	36	24,8
Более 70 / More than 70	5	5,3	4	8,0	9	6,2
Итого / Total:	95	100	50	100	145	100

Таблица 2 / Table 2

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

Risk contingents as regards the infection with WNF in the Astrakhan Region in 2000–2016

Контингенты риска / Contingents of risk	Абс. число / Absolute number	%
Сельскохозяйственные рабочие, фермеры и члены их семей / Agricultural laborers, farmers, and members of their families	6	4,1
Рабочие промышленных предприятий / Industrial facility workers	17	11,7
Учащиеся / Students	13	9,0
Дети до 18 лет / Children under the age of 18	17	11,7
Служащие / Employees	22	15,1
Лесники, пчеловоды, рыбаки / Forest guards, bee keepers, fishermen	3	2,0
Ветеринары / Veterinarians	-	-
Мед. работники / Medical workers	4	2,8
Пенсионеры / Retired persons	29	20,0
Не работающие / Not employed people	34	23,4
Итого / Total:	145	100

2005–2016 гг.) жителей Астраханской области, которым был поставлен диагноз «Лихорадка Западного Нила».

Распределение больных ЛЗН по полу и возрасту показано в табл. 1.

Представленные данные свидетельствуют о том, что чаще болеют мужчины (95 из 145 – 65,5 %) в возрасте 19–70 лет (82,1 %). Среди женщин заболевания ЛЗН встречаются наиболее часто в этой же возрастной категории (75,8 %), а среди детей – в группе до 6 лет (9,0 %).

Анализ распределения больных ЛЗН по территории риска (месту заражения), проведенный с использованием интенсивных показателей заболеваемости (на 100 тыс. населения), определил наличие четырех зон риска заражения ЛЗН (при n – объем выборки = 12; r – число классов = 4; k – величина классов = 10):

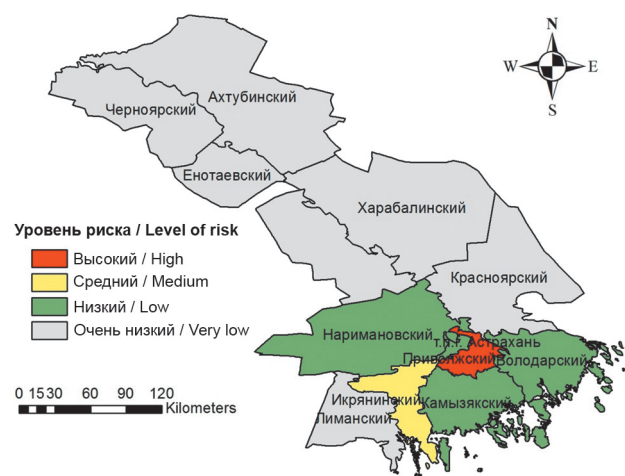


Рис. 2. Территория риска заражения по лихорадке Западного Нила в Астраханской области

Fig. 2. Risk territory as regards the infection with West Nile fever in the Astrakhan Region

риск высокий – более 30,0 на 100 тыс. населения; средний – 20,1–30,09, низкий – 10,1–20,0 и очень низкий – менее 10 на 100 тыс. населения. Результаты дифференциации территории Астраханской области по риску заражения ЛЗН в современных условиях представлены на рис. 2.

Установлено, что риск заражения высокий в одном районе, средний – в одном районе, низкий в четырех районах и очень низкий в шести.

Следует отметить четыре случая заболевания людей ЛЗН среди лиц, приехавших в Астрахань из других регионов нашей страны. Три случая отмечены в 2012 г. (из Волгоградской области, Краснодар и Гудермеса) и 1 случай – в 2016 г. из с. Муснах Рутуловского района Республики Дагестан.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что в основном заболеваемость населения Астраханской области ЛЗН концентрируется в дельтовых районах, а «зоной выноса» является Волго-Ахтубинская пойма.

Анализ контингентов риска (табл. 2) свидетельствует о том, что в последние десятилетия чаще ЛЗН болеют неработающие лица (23,4 %), пенсионеры (20,0), служащие (15,1) и рабочие промышленных предприятий (11,7).

При эпидемиологическом анализе условий заражения (факторов риска) ЛЗН населения области выяснено, что в подавляющем большинстве случаев (107 – 73,8 %) факторы риска не установлены (в виду неточного сбора эпидемиологического анамнеза, либо больные сами отрицали какие-либо формы контакта).

Среди клинических форм болезни наиболее часто встречалась среднетяжелая форма (125 – 86,9 %), как с осложнениями, так и без них. Тяжелая форма ЛЗН (20 – 13,7 %) в половине случаев связана с осложнениями.

ЛЗН в Астраханской области имеет летне-

осеннюю сезонность с пиком в июле (30 – 20,7 %), августе (80 – 55,2 %) и сентябре (25 – 17,2 %). Первые случаи регистрируют в конце мая (2 – 1,5 %), последнее – в октябре (3 – 2,0 %).

Таким образом, в современных условиях в Астраханской области отмечается незначительное снижение уровня заболеваемости ЛЗН, но в ближайшие годы можно ожидать очередную вспышку инфекции. Ретроспективный эпидемиологический анализ заболеваемости в 2000–2016 гг. с использованием современных методов позволил определить и охарактеризовать основные категории эпидемиологического риска заболевания лихорадкой Западного Нила в Астраханской области. Установлен половозрастной и социальный состав заболевших. Анализ территории по риску заражения показал, что он высокий в одном районе, средний в одном районе, низкий в четырех районах и очень низкий в шести. При анализе условий заражения (факторов риска) ЛЗН населения области выяснено, что в подавляющем большинстве случаев (107 – 73,8 %) факторы риска не установлены. Из установленных следует выделить укус комара в доме, подвале, на рыбалке, а также укус, снятие с себя и раздавливание клеща незащищенными руками. Период наиболее высокого риска – с мая по октябрь с максимумом заболеваемости в августе (55,1 %). Представленные данные свидетельствуют об очередном снижении активности автономных природных очагов ЛЗН в Астраханской области и различной степени выраженности наиболее значимых критериев их потенциальной эпидемиологической опасности, что необходимо учитывать при корректировке комплексных планов по борьбе с этой болезнью.

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

Список литературы

1. Smithburn K.C., Hughes T.P., Burke A.W., Paul J.H. Neurotropic virus isolated from the blood of native of Uganda. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 1940; 20(4):471–492. DOI: 10.4269/ajtmh.1940.s1-20.471.
2. Мошкин А.В., Лебедев А.Д. Арбовирусы мира и их географическое распространение. Часть II. Антигенные группировки, голотипы и синтипы арбовирусов, распространение их по зоогеографическим подразделениям суши, государствам и странам мира. *Итоги науки и техники. ВИНИТИ. Серия Медицинская география.* 1974; 6:9–304.
3. Львов Д.К. Лихорадка Западного Нила. *Вопросы вирусологии.* 2000. 45(2):4–11.
4. Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S., Montgomery S.P., O'Leary D.R., Campbell G.L. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(8):1167–73. DOI: 10.3201/eid1108.050289a.
5. Непесова Н.М., Чумаков М.П. Экология и географическое распространение арбовирусов. М.: 1985. 125 с.
6. Андросова С.В., Рогаткин А.К. Изучение экологии арбовирусов и распространение природно-очаговых болезней на территории Астраханской области. Астрахань; 1996. 32 с.
7. Бутенко А.М., Ковтунов А.И., Джаркенов А.Ф., Злобина Л.В., Гришанова А.П., Азарян А.Р., Ларичев В.Ф., Шишкина Е.О., Львов Д.К. Эпидемиологическая характеристика лихорадки Западного Нила в Астраханской области. *Вопросы вирусологии.* 2001; 46(4):34–5.
8. Козлова А.А., Бутенко А.М., Ларичев В.Ф., Азарян А.Р., Гришанова А.П., Иващенко Е.И., Шендо Г.Л., Дзагурова Т.К., Пиликова О.М., Василенко Н.Ф. Изучение ареала вируса

Западного Нила на территории Европейской части России; результаты сероэпидемиологических исследований. Сообщение 1: Астраханская область, Краснодарский край, Ставропольский край, Саратовская область. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2016; 21(5):244–252. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-5-244-252.

9. Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я. Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М.: ВНИИТИБП; 1989. 335 с.

10. Barmin A.N., Kolchin E.A., Shuvaev N.S., Buzyakova I.V. The analysis of hazards on the territory Astrakhan region. *European Geographical Studies.* 2014; 3(3):84–97. DOI: 10.13187/egs.2014.3.84.

11. Харченко Г.А., Кимирилова О.Г., Журавлев В.И., Кимирилов А.А. Эпидемиологическая характеристика арбовирусных инфекций в Астраханской области. *Лечение и профилактика.* 2014; 4:78–82.

12. Углева С.В., А.В. Буркин, С.В. Шабалина. Современная эпидемиолого-эпидемиологическая оценка трансмиссивных лихорадок, доминирующих на территории Астраханской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2011; 4:5–11.

13. Жуков А.Н., Филиппов А.Г., Краснова Е.Н. Эпидемия лихорадки Западного Нила в Волгоградской области. *Здоровье населения и среда обитания.* 2000; 11:9–10.

14. Львов Д.К., Писарев В.Б., Петров В.А., Григорьева Н.В. Лихорадка Западного Нила: по материалам вспышек в Волгоградской области в 1999–2002 гг. Волгоград: Издатель; 2004. 104 с.

15. Курятникова Г.Ю., Галимзянов Х.М., Аршба Т.Е., Красков А.В. Лихорадка Западного Нила в Астраханской области. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2014; 4:40–3.

16. Lvov D.K., Butenko A.M., Gromashevsky V.L., Kovtunov A.I., Prilipov A.G., Kinney R., Aristova V.A., Dzharkenov A.F., Samokhvalov E.I., Savage H.M., Shchelkanov M.Y., Galkina I.V., Deryabin P.G., Gubler D.J., Kulikova L.N., Alkhovsky S.K., Moskvina T.M., Zlobina L.V., Sadykova G.K., Shatalov A.G., Lvov D.N., Usachev V.E., Voronina A.G. West Nile and other zoonotic viruses as examples of emerging-reemerging situations in Russia. *Arch. Virol. Suppl.* 2004; (18):85–96. DOI: 10.1007/978-3-7091-0572-6_7.

17. Бармин А.Н., Колчин Е.А., Шуваев Н.С., Дмитриева М.В. Анализ проявления природно-очаговых заболеваний на территории Астраханской области. *Естественные науки.* 2012; 3(40):44–51.

18. Плохинский Н.А. Биометрия. М.: Изд-во МГУ; 1970. 367 с.

References

1. Smithburn K.C., Hughes T.P., Burke A.W., Paul J.H. Neurotropic virus isolated from the blood of native of Uganda. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 1940; 20(4):471–492. DOI: 10.4269/ajtmh.1940.s1-20.471.
2. Moshkin A.V., Lebedev A.D. [The world of Arboviruses and their geographical distribution. Part II. Antigen groups, holotypes, and syntypes of Arboviruses, their dissemination in zoogeographical areas of land, states, and countries around the world]. *Itogi Nauki i Tekhniki. All-Union Institute of Scientific and Technical Information. Medical Geography Series.* 1974; 6:9–304.
3. Lvov D.K. [West Nile fever]. *Voprosy Virusologii.* 2000. 45(2):4–11.
4. Hayes E.B., Komar N., Nasci R.S., Montgomery S.P., O'Leary D.R., Campbell G.L. Epidemiology and transmission dynamics of West Nile virus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(8):1167–73. DOI: 10.3201/eid1108.050289a.
5. Nepesova N.M., Chumakov M.P. [Ecology and Geographical Dissemination of Arboviruses]. М.: 1985. 125 p.
6. Androsova S.V., Rogatkin A.K. [Studies of ecology of Arboviruses and dissemination of natural-focal diseases in the territory of the Astrakhan Region]. Астрахань; 1996. 32 p.
7. Butenko A.M., Kovtunov A.I., Dzharkenov A.F., Zlobina L.V., Grishanova L.P., Azaryan A.R., Larichev V.F., Shishkina E.O., Lvov D.K. [Epidemiological characteristics of West Nile fever in the Astrakhan Region]. *Voprosy Virusologii.* 2001; 46(4):34–5.
8. Kozlova A.A., Butenko A.M., Larichev V.F., Azaryan A.R., Grishanova A.P., Ivashchenko E.I., Shendo G.L., Dzagurova T.K., Piliikova O.M., Vasilenko N.F. [Study of West Nile fever areal in the territory of the European part of Russia; results of serological-epidemiological investigations. Communication 1: Astrakhan Region, Krasnodar Territory, Stavropol Territory, Saratov Region]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni.* 2016; 21(5):244–52. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-5-244-252.
9. Lvov D.K., Klimentko S.M., Gaidamovich S.Ya. [Arboviruses and Arboviral Infections]. М.: All-Russian Research and Technology Institute of Biological Industry; 1989. 335 p.
10. Barmin A.N., Kolchin E.A., Shuvaev N.S., Buzyakova

I.V. The analysis of hazards on the territory Astrakhan region. *European Geographical Studies*. 2014; 3(3):84–97. DOI: 10.13187/egs.2014.3.84.

11. Kharchenko G.A., Kimirilova O.G., Zhuravlev V.I., Kimirilov A.A. [Epidemiological characteristics of Arboviral infections in the Astrakhan Region]. *Lechenie i Profilaktika*. 2014; 4:78–82.

12. Ugleva S.V., Burkin A.V., Shabalina S.V. [Modern epidemiological-entomological assessment of vector-borne fevers predominant in the territory of the Astrakhan Region]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika*. 2011; 4:5–11.

13. Zhukov A.N., Filippov A.G., Krasnova E.N. [Epidemiology of West Nile fever in the Volgograd Region]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2000; 11:9–10.

14. Lvov D.K., Pisarev V.B., Petrov V.A., Grigor'eva N.V. [West Nile fever: according to the data on the outbreaks in the Volgograd Region in 1999–2002]. Volgograd: "Publisher"; 2004. 104 p.

15. Kuryatnikova G.Yu., Galimzyanov Kh.M., Arshba T.E., Kraskov A.V. [West Nile fever in the Astrakhan Region]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie*. 2014; 4:40–3.

16. Lvov D.K., Butenko A.M., Gromashevsky V.L., Kovtunov A.I., Prilipov A.G., Kinney R., Aristova V.A., Dzharkenov A.F., Samokhvalov E.I., Savage H.M., Shchelkanov M.Y., Galkina I.V., Deryabin P.G., Gubler D.J., Kulikova L.N., Alkhovsky S.K., Moskvina T.M., Zlobina L.V., Sadykova G.K., Shatalov A.G., Lvov D.N., Usachev V.E., Voronina A.G. West Nile and other zoonotic viruses as examples of emerging-reemerging situations in Russia. *Arch. Virol. Suppl.* 2004; (18):85–96. DOI: 10.1007/978-3-7091-0572-6_7.

17. Barmin A.N., Kolchin E.A., Shuvaev N.S., Dmitrieva M.V. [Analysis of manifestation of natural-focal diseases in the territory of the Astrakhan region]. *Estestvennye Nauki*. 2012; 3(40):44–51.

18. Plokhinsky N.A. [Biometry]. M.: MSU Publishing House; 1970. 367 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., Shcherbakova S.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Nikeshina N.N., Noskova L.N. Rospotrebnadzor Administration in the Astrakhan Region. 138, Ostrovskogo St., Astrakhan, 414057, Russian Federation. E-mail: tu_rpn@astrakhan.ru.

Arshba T.E., Rudenko G.G., Shishlonov A.M. A.M. Nichoga Regional Infectious Clinical Hospital. 7, Nachalovskoye Highway, Astrakhan, 414004, Russian Federation. E-mail: oikb@astranet.ru.

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

Никешина Н.Н., Носкова Л.Н. Управление Роспотребнадзора по Астраханской области. Российская Федерация, 414057, Астрахань, ул. Островского, 138. E-mail: tu_rpn@astrakhan.ru.

Аршба Т.Е., Руденко Г.Г., Шишлонов А.М. Областная инфекционная клиническая больница им. А.М. Ничоги. Российская Федерация, 414004, Астрахань, Началовское шоссе, 7. E-mail: oikb@astranet.ru.

Поступила 06.09.18.

Отправлена на доработку 19.10.18.

Принята к публ. 08.11.18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-79-86

УДК 616.98:579.842.23(517.3)

В.М. Корзун¹, С.В. Балахонов¹, А.В. Денисов², Е.Н. Рождественский², Е.Г. Токмакова¹, П.П. Санаров²,
С.С. Акулова², С.А. Косилко¹, Д. Отгонбаяр³, Л. Оргилбаяр³, Д. Батжав³, Ч. Уржих⁴, Н. Тоголдор⁴,
А. Махбал⁴, Н. Цогбадрах³, Д. Цэрэнноров³

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ В МОНГОЛЬСКОЙ ЧАСТИ ТРАНСГРАНИЧНОГО САЙЛЮГЕМСКОГО ПРИРОДНОГО ОЧАГА ЧУМЫ В 2018 г.

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт», Иркутск, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», Горно-Алтайск, Российская Федерация; ³Национальный центр по изучению зоонозных инфекций, Улаанбаатар, Монголия; ⁴Центр по изучению зоонозных инфекций Баян-Улгийского аймака, Улгий, Монголия

Цель работы – анализ результатов мониторинга эпизоотической ситуации в монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 г. для оптимизации профилактических и противоэпидемических мероприятий в приграничных районах Монголии и России. **Материалы и методы.** Эпизоотологическое обследование проведено на площади 2668 км², исследовано на чуму 282 млекопитающих, 261 эктопаразит (из них 257 блох). Все лабораторные исследования полевого материала осуществлялись в мобильной лаборатории мониторинга и диагностики на базе автомобиля КАМАЗ. Весь полевой материал исследовали молекулярно-генетическим (ПЦР) и серологическим методами. Свежие и мумифицированные остатки стола хищных птиц и трупы, добытые грызуны и зайцеобразные, блохи, снятые с трупов, подвергали экспресс-диагностике с использованием иммунохроматографического метода (ИХТ) для выявления капсульного антигена (F1) чумного микроба. Пробы, прореагировавшие положительно в ПЦР и ИХТ, исследовали бактериологическим методом. При проведении эпизоотологического обследования использованы ГИС-инструменты. Все полученные результаты занесли на электронные карты в программе QGIS 2.12.3. **Результаты и обсуждение.** Выделено 47 штаммов *Yersinia pestis* ssp. *pestis* от серых сурков и снятых с этих животных блох. ДНК чумного микроба обнаружена в 60 объектах. Получено 60 положительных результатов серологического исследования. Зараженность возбудителем чумы добытых сурков равна 4,5 % (n=22), свежих трупов и остатков стола хищных птиц – 63,4 % (n=41), мумифицированных трупов и остатков стола хищников, костных останков – 10,0 % (n=140). Установлено, что на приграничной с Россией территории протекает интенсивная разлитая эпизоотия чумы, вызванная возбудителем основного подвида. Все эпизоотические проявления выявлены на высотах 2400–2800 м над ур. м. в поселениях серого сурка с высокой плотностью. Эпизоотия зарегистрирована на большей части южного макросклона хребта Сайлюгем на протяжении 100 км и по всему хребту Харланхуу уул на протяжении 30 км. Площадь эпизоотии, подтвержденной изоляцией возбудителя чумы, составила 1207 км² (45,2 % от обследованной территории).

Ключевые слова: трансграничный Сайлюгемский природный очаг чумы, Северо-Западная Монголия, эпизоотическая активность, *Yersinia pestis*.

Корреспондирующий автор: Корзун Владимир Михайлович, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Для цитирования: Корзун В.М., Балахонов С.В., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Токмакова Е.Г., Санаров П.П., Акулова С.С., Косилко С.А., Отгонбаяр Д., Оргилбаяр Л., Батжав Д., Уржих Ч., Тоголдор Н., Махбал А., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д. Эпизоотическая ситуация в Монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:79–86. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-79-86

V.M. Korzun¹, S.V. Balakhonov¹, A.V. Denisov², E.N. Rozhdestvensky², E.G. Tokmakova¹,
P.P. Sanarov², S.S. Akulova², S.A. Kosilko¹, D. Otgonbayar³, L. Orgilbayar³, D. Batzhav³,
Ch. Urzhikh⁴, N. Togoldor⁴, A. Makhbal⁴, N. Tsogbadrakh³, D. Tserennorov³

Epizootic Situation in the Mongolian Part of the Transboundary Sailugem Natural Plague Focus in 2018

¹Irkutsk Research Anti-Plague Institute, Irkutsk, Russian Federation; ²Altai Plague Control Station, Gorno-Altai, Russian Federation; ³National Centre for Studies of Zoonotic Infections, Ulaanbaatar, Mongolia; ⁴Centre for Studies of Zoonotic Infections of Bayan-Ulgy Aimag, Ulgy, Mongolia

Abstract. Objective of the study was monitoring of epizootic situation in the Mongolian part of the trans-boundary Sailugem natural plague focus through 2018 for optimization of preventive and anti-epidemic activities to decrease the level of risk of human plague cases among the population in the border areas of Mongolia and Russia. **Materials and methods.** Epizootic survey was conducted across the area of 2668 km²; 282 mammals, 261 ectoparasites, including 257 fleas, were tested for plague. All laboratory investigations of the field material were carried out in the mobile laboratory for monitoring and diagnostics, mounted on the platform of KAMAZ. Field samples were subjected to molecular-genetic (PCR) and serological tests. Fresh and mummified pickings of birds of prey, corpses, caught rodents and lagomorphs, fleas collected from corpses, were tested using immune-chromatographic method (ICM) to detect capsular antigen (F1) of plague microbe. PCR and ICM positive samples were investigated applying bacteriological method. In the course of epizootiological survey, GIS-tools were employed. All the results obtained were plotted on electronic maps using QGIS 2.12.3 software package. **Results and discussion.** The total of 47 *Yersinia pestis* ssp. *pestis* strains were isolated from grey marmots and their fleas. *Y. pestis* DNA was detected in 60 objects. Serological testing showed 60 positive results. Contamination of the caught souslik with plague agent reached 4.5 % (n=22), fresh corpses and picking of predatory

birds – 63.4 % (n=41), mummified corpses and leftovers, skeletal remains – 10.0 % (n=140). It was established that in the border territory, adjacent to Russia, an intensive diffused plague epizooty, caused by the agent of the main subspecies, takes place. All epizootic manifestations were revealed at the altitudes of 2400–2800 m above sea level, in densely populated grey marmot settlements. The epizooty was registered in most of the southern macro-slope of Sailugem ridge, throughout 100 km and along the whole Karalakhtu ridge – throughout 30 km. The epizooty area, confirmed by plague agent isolation, amounted to 1207 km² (45.2 % of the examined territory).

Key words: transboundary Sailugem natural plague focus, Northwest Mongolia, epizootic activity, *Yersinia pestis*.

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

Corresponding author: Vladimir M. Korzun, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Citation: Korzun V.M., Balakhonov S.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Tokmakova E.G., Sanarov P.P., Akulova S.S., Kosilko S.A., Otgonbayar D., Orgilbayar L., Batzhav D., Urzhikh Ch., Togoldor N., Makhbal A., Tsogbadrakh N., Tserennorov D. Epizootic Situation in the Mongolian Part of the Transboundary Sailugem Natural Plague Focus in 2018. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:79–86. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-79-86

Received 15.03.19. Revised 12.04.19. Accepted 16.05.19.

В настоящее время чума остается одной из значимых эпидемических угроз в мире, способной вызвать чрезвычайную ситуацию эпидемиологического характера в сфере общественного здравоохранения [1, 2]. Несмотря на успехи в борьбе с этой инфекционной болезнью, во многих странах регулярно регистрируют как спорадическую, так и вспышечную заболеваемость [3–7]. Такая ситуация, в частности, характерна и для Монголии [8, 9]. Общеизвестно, что возникновение эпидемических осложнений по чуме среди населения, как правило, связано с повышением эпизоотической активности природных очагов. В течение текущего столетия отмечается активизация ряда природных очагов чумы Центральной Азии [10–12], в том числе и трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы, расположенного на территории России и Монголии [13, 14]. В связи с распространением возбудителя чумы основного подвида на его российской части (Горно-Алтайский природный очаг) и выявлением случаев заболевания чумой среди местного населения Кош-Агачского района Республики Алтай, в 2017 г. возобновлено совместное российско-монгольское эпизоотологическое обследование монгольской части очага [15]. В результате исследований впервые установлено, что на данной территории наблюдается циркуляция чумного микроба основного подвида. Высокая эпизоотическая активность Сайлюгемского очага и значительное увеличение его эпидемического потенциала как на российской, так и на монгольской территории [13–15] свидетельствует о необходимости продолжения российско-монгольского сотрудничества с целью снижения эпидемиологических рисков в приграничных районах двух стран. Эпизоотологическое обследование, проведенное в июле 2018 г., является вторым этапом выполнения российско-монгольской программы «Изучение современного состояния трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы и снижение возможных эпидемиологических рисков на его территории».

Цель работы – анализ результатов мониторинга эпизоотической ситуации в монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 г. для оптимизации профилактических и противоэпидемических мероприятий в приграничных районах Монголии и России.

Материалы и методы

Эпизоотологическое обследование проводилось с 3 июля по 1 августа 2018 г. на площади 2668 км². Изучено 35 секторов и 44 точки на 18 участках: Агуйт, Сонгинот, Шар-Булаг, Терсагкан, Худаг, Ойгор, Хар-Ямат, Жалпак, Талын Толгой, Зуслан-Булаг, Жаргалант, Хагнур, Хундий, Бухан Толгой, Шинэ-Дава, Заг, Хох-Сай, Борхаг. Работы осуществлялись в рамках реализации распоряжения правительства РФ от 05.09.2016 г. № 1864-р и Приказа Роспотребнадзора от 29.12.2016 г. В соответствии с МУ 3.1.3.2355-08 работы выполнены вдоль российско-монгольской государственной границы на протяжении 100 км и 60 км вглубь территории Монголии (рис. 1).

Основной акцент при сборе полевого материала делался на находки остатков стола хищных птиц и трупов носителей. При этом проводился активный поиск эпизоотий при объезде обследуемой территории на автомобиле, включающий два методических приема. Первый заключался в том, что велось постоянное наблюдение с целью обнаружения скоплений и одиночных крупных пернатых хищников и падальщиков – орлов и грифов, находящихся на поверхности земли. При выявлении таких птиц прилегающая территория тщательно осматривалась для обнаружения трупов млекопитающих и их фрагментов. Второй подход состоял в том, что при движении автомобиля просматривалась полоса шириной около 100 м. Низкотравная растительность горных степей и альпийских лугов позволяла видеть трупы достаточно крупных животных (сурков) с расстояния примерно в 50 м. В течение дня автомобили проходили 50–60 км по обследуемой территории, что позволяло проводить осмотр площади в 5–6 км². Сбор трупов также проводили и при пеших маршрутах по территории. Кроме того, осуществлялась добыча млекопитающих отстрелом из малокалиберных винтовок.

Получен и исследован на чуму полевой материал от 282 млекопитающих, из них серый сурок – 197 проб (добытые животные – 22, свежие остатки стола хищных птиц – 34, мумифицированные остатки стола хищников и трупы – 134, свежие трупы – 7), длиннохвостый суслик, – 19 (все добытые), монгольская пищуха – 63 (добытые – 60, остатки стола хищ-

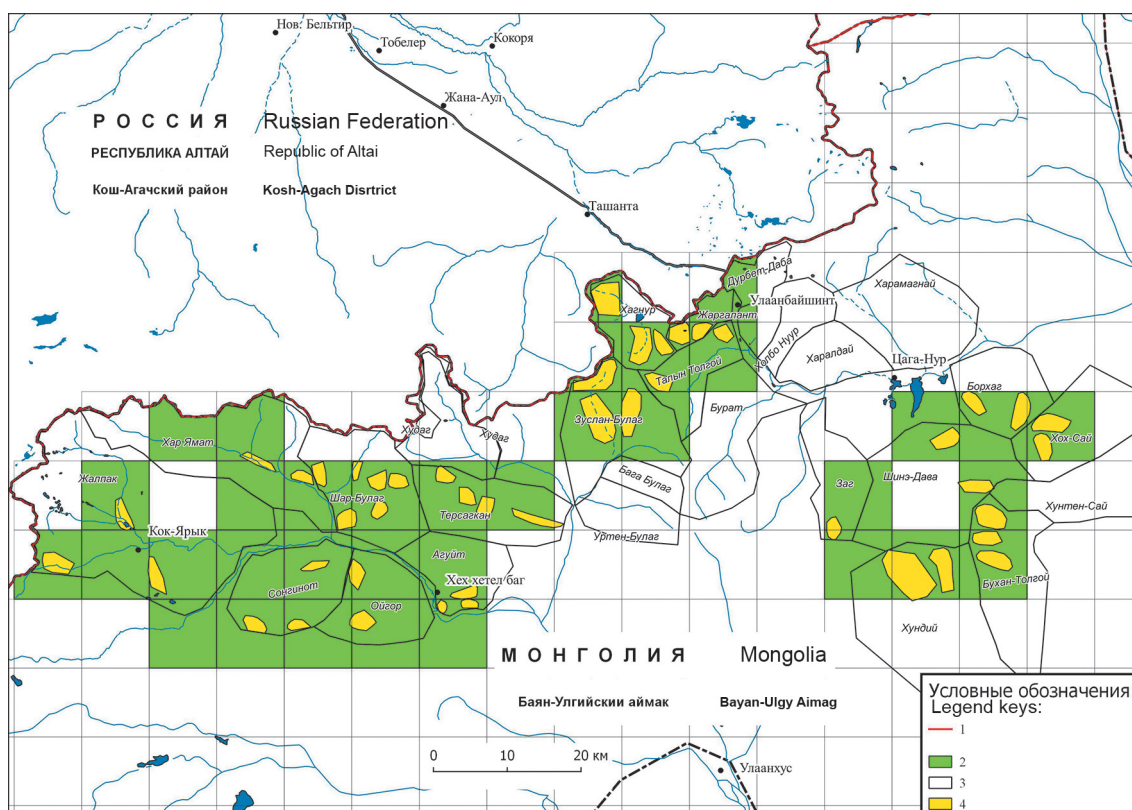


Рис. 1. Территория эпизоотологического обследования монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 г.:

1 – государственная граница, 2 – сектора, 3 – участки, 4 – точки

Fig. 1. Area of epizootiological survey of Mongolian part of Sailyugem natural plague focus, carried out in 2018:

1 – State border, 2 – sectors, 3 – regions, 4 – sites

ников – 1, трупы – 2), даурская пищуха – 2 (все добытые), заяц-толай – 1 (остатки стола хищников); эктопаразитов – 261, из них 257 блох, (114 из входов нор, 143 со зверьков), 4 вши *Neohaematopinus palearcticus*; костные останки сурка – 6 проб; погадок хищных птиц – 17 шт. Выполнено 29 пеших маршрутов по учету численности носителей возбудителя чумы общей протяженностью 68,1 км на площади 204,3 га. Проведено 28 визуальных учетов на площадках уровня численности серого сурка на площади 340 га и 14 автомобильных учетов в полосе 200 м общей протяженностью 73,7 км. Осмотрено 1955 входов нор.

Очес млекопитающих, их вскрытие и забор материала, разбор загнивших и мумифицированных трупов и остатков стола хищников, погадок хищных птиц проводили в оборудованной для этих целей юрте. Главная особенность проведения лабораторных исследований полевого материала заключалась в том, что все они осуществлялись в мобильной лаборатории мониторинга и диагностики на базе автомобиля КАМАЗ.

Весь полевой материал исследовали молекулярно-генетическим (ПЦР) и серологическим методами. Свежие и мумифицированные остатки стола хищных птиц и трупы, добытые грызуны и зайцеобразные, блохи, снятые с трупов, подвергали экспресс-диагностике с использованием иммунохроматографического метода (ИХТ) для выявления

капсульного антигена (FI) чумного микроба («ИХ тест-система *Yersinia pestis*», ФБУН ГНЦ ПМБ, пос. Оболенск). Пробы, прореагировавшие положительно в ПЦР и ИХТ, исследовали бактериологическим методом.

При проведении эпизоотологического обследования использованы ГИС-инструменты. Все полученные результаты наносились на электронные карты в программе QGIS 2.12.3.

Результаты и обсуждение

Численность и площадь, занимаемая поселениями носителей. По результатам изучения ареалов носителей возбудителя чумы в Северо-Западной Монголии, проведенного в 2017 и 2018 гг., установлено, что серый сурок населяет большую часть обследованной территории. Его поселения начинаются на высотах 2180–2200 м над ур. м. и продолжаются до 2900–3000 м над ур. м. вплоть до нивальной зоны. Площадь области распространения животных этого вида на изученной территории составляет 4280 км². Наблюдается большая зависимость уровня численности сурка от высотного пояса. На высоте 2100–2200 м над ур. м. средняя численность – 20 особей на 1 км² (n=6), 2201–2300 – 50 (n=4), 2301–2400 – 180 (n=16), 2401–2500 – 300 (n=8), 2501–2600 – 410 (n=10), 2601–2750 – 655 (n=8).

На нескольких участках, где регистрировались эпизоотии чумы, в 2018 г. наблюдалось существенное снижение численности серого сурка по сравнению с предыдущим годом. На участке Шинэ-Дава по северному макросклону хр. Харланхуу уул до 2400 м над ур. м. уровень численности в 2018 г. очень низкий – по результатам 14 учетов общей площадью 190 га – 5 особей на 1 км², в 2017 г. – 75 особей на 1 км². На высоте 2550 м над ур. м. численность на одном из склонов площадью 10 га в 2018 г. – 380 особей на 1 км², тогда как в 2017 г. в этом же месте – 970 особей на 1 км². По склонам хр. Сайлюгем на участке Зуслан-Булаг в 2017 г. на высоте 2600 м над ур. м. численность была 300, в 2018 г. – 130 особей на 1 км²; на высоте 2400–2500 м над ур. м. в 2017 г. уровень численности составлял 100, а в 2018 г. – 5 особей на 1 км². На участке Хагнур в 2017 г. показатель численности составлял 50 особей на 1 км², а в 2018 г. на этом же склоне площадью около 1 км² сурка нет, все бутаны нежилые. В 2017 и 2018 гг. на этих территориях зарегистрировано протекание эпизоотии.

Площадь, занимаемая монгольской пищухой на обследованной территории, составила 2270 км². Уровень численности зверька на отдельных учетах колебался от 0,3 до 22,5 жилых нор на 1 га, среднее значение составило 5,3, средняя заселенность колоний 82 % (n=21). По сравнению с предыдущим годом численность зверьков существенно увеличилась (по результатам учетов в июле 2017 г. средний показатель 3,7 жилых нор на 1 га, заселенность 72 %).

Площадь, занимаемая длиннохвостым сусликом и даурской пищухой, существенно меньше, чем у двух описанных выше видов – 324 и 24 км² соответственно, численность их низкая.

Численность блох. При проведении эпизоотологического обследования обнаружено восемь видов блох на четырех видах млекопитающих и во входах их нор. На сером сурке доминировала специфичная блоха сурков *Oropsylla silantiewi*, индекс доминирования (ИД) равен 100 %. На монгольской пищухе основное количество блох в сборах представлено *Amphalius runatus* и *Ctenophyllus hirticrus*, ИД составил 52,4 и 34,5 % соответственно. На длиннохвостом суслике доминировала блоха *Citellophilus tesquorum*, ИД – 84,2 %; во входах нор – блоха *C. hirticrus*, ИД – 50,0 %.

Показатели численности блох низкие, что объясняется сезонным спадом численности блох, связанным со сменой генераций. Индекс обилия на сером сурке составил 0,23 (n=2), на монгольской пищухе – 1,4 (n=60), на длиннохвостом суслике – 2,0 (n=19), во входах нор – 0,074 (n=1955). Но, по сравнению с предыдущим годом, численность блох выросла на монгольской пищухе (ИО в 2017 г. – 0,72), длиннохвостом суслике (ИО в 2017 г. – 1,32), во входах нор носителей (ИО в 2017 г. – 0,025).

Эпизоотическая ситуация. Эпизоотические проявления, подтвержденные выделением культур возбудителя чумы, обнаружением ДНК чумного

микроба, положительными результатами серологических исследований на наличие капсульного антигена и специфических антител к чумному микробу, установлены на площади 1544 км², что составляет 58 % от обследованной территории. Они выявлены на 12 участках (67 % от обследованных), в 20 секторах (57 % от обследованных) и на 24 точках (55 % от обследованных) (рис. 2).

При проведении эпизоотологического обследования выделено 47 штаммов *Yersinia pestis* ssp. *pestis*, все они изолированы от серых сурков и снятых с этих животных блох. Из них 1 – от добытого агонирующего сурка, 23 – от свежих остатков стола хищных птиц, 11 – от мумифицированных остатков стола хищных птиц, 3 – от свежих трупов, 3 – от костных останков, 6 – от блох *Oropsylla silantiewi* (в том числе 4 – от блох с одного свежего остатка стола хищных птиц, от которого получен изолят *Y. pestis*, 1 – от блохи, снятой с трупа серого сурка, от которого получена культура, 1 – от блохи, снятой с добытого сурка, от которого чумной микроб не выделен). Возбудитель чумы обнаружен на 11 участках: Шар-Булаг – 10 изолятов, Терсагкан – 5, Хар-Ямаг – 6, Жалпак – 3, Талын Толгой – 1, Зуслан-Булаг – 6, Хагнур – 6, Хундий – 5, Бухан Толгой – 3, Шинэ-Дава – 1, Заг – 1 (рис. 2). Площадь зарегистрированной эпизоотии (подтвержденной изоляцией возбудителя чумы) составила 1207 км² (45,2 % от обследованной территории).

При лабораторном исследовании полевого материала получено 39 положительных результатов в ИХТ. В том числе 1 – от добытого агонирующего сурка, 22 – от свежих остатков стола хищных птиц, 8 – от мумифицированных остатков стола хищных птиц, 3 – от свежих трупов, 3 – от костных останков, 2 – при индивидуальном исследовании блох *O. silantiewi*. Подчеркнем, что от всех объектов, в которых выявлен капсульный антиген чумного микроба в ИХТ, изолированы культуры чумного микроба.

Получено 60 положительных результатов методом ПЦР. ДНК чумного микроба основного подвида обнаружена во всех объектах, от которых изолированы культуры возбудителя; кроме того, в 11 сурках (2 – от свежих и 9 – от мумифицированных остатков стола хищников), в блохе *O. silantiewi*, снятой с добытого агонирующего сурка, в блохах *Amphalius runatus*, снятых с монгольской пищухи (подвид не определен). ДНК чумного микроба обнаружена на 12 обследованных участках (рис. 2).

Получено 60 положительных результатов серологического исследования. Специфические антитела к чумному микробу выявлены у 10 добытых млекопитающих: 6 серых сурков, 2 длиннохвостых сусликов и 2 монгольских пищух. Капсульный антиген (FI) чумного микроба обнаружен в 50 сурках: в 41, из которых изолирован возбудитель, а также в 1 свежем и 8 мумифицированных остатках стола хищных птиц. Положительные результаты серологических исследований зарегистрированы на 12 участках обследования (рис. 2).

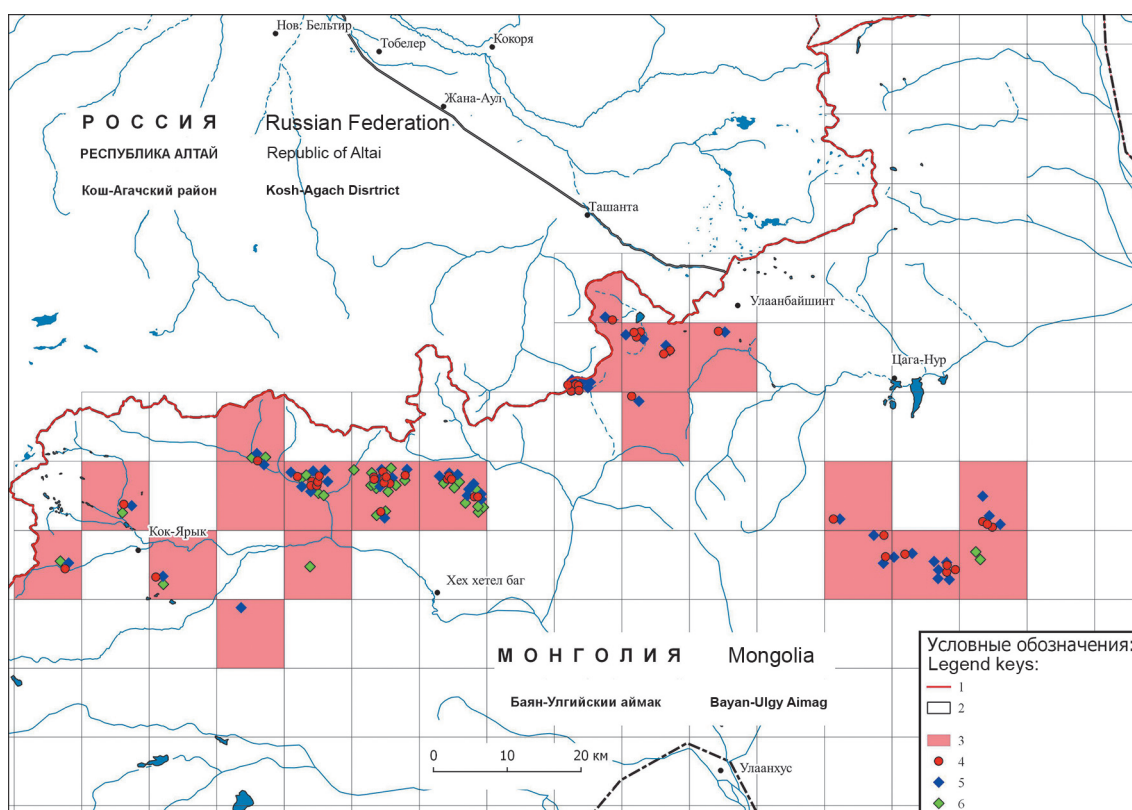


Рис. 2. Эпизоотические проявления на обследованной территории монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 г.:

1 – государственная граница, 2 – сектора, 3 – сектора с эпизоотическими проявлениями, 4 – места выделения чумного микроба основного подвида, 5 – места обнаружения ДНК *Y. pestis*, 6 – места положительных серологических находок

Fig. 2. Epizootic manifestations of plague in the surveyed territory of Mongolian part of Sailyugem natural plague focus in 2018:

1 – State border, 2 – sectors, 3 – sectors with registered epizootic manifestations, 4 – sites of isolation of plague microbe, main subspecies, 5 – sites of *Y. pestis* DNA detection, 6 – sites of positive serological findings

О высокой активности очага свидетельствуют значительные относительные показатели, характеризующие эпизоотический процесс. Зараженность чумным микробом основного подвида всех полученных при обследовании серых сурков (добытые животные, свежие трупы и остатки стола хищных птиц, мумифицированные трупы и остатки стола хищников, костные останки) составила 20,2 % (n=203). При этом зараженность добытых животных равна 4,5 % (n=22), свежих трупов и остатков стола хищных птиц – 63,4 % (n=41), мумифицированных трупов и остатков стола хищников, костных останков – 10,0 % (n=140).

Частота обнаружения ДНК *Y. pestis* ssp. *pestis* в серых сурках (добытые животные, свежие трупы и остатки стола хищных птиц, мумифицированные трупы и остатки стола хищных птиц, костные останки) равна 25,6 % (n=203), из них в добытых животных – 4,5 % (n=22); в свежих трупах и остатках стола хищных птиц – 68,3 % (n=41); мумифицированных трупов и остатках стола хищных птиц, костных останках – 16,4 % (n=140).

Зараженность чумным микробом основного подвида блох, снятых с серого сурка, составила 30,0 % (n=20, все *Oropsylla silantiewi*).

Специфические антитела к чумному микробу обнаружены у 27,3 % серых сурков (n=22), у 10,5 %

длиннохвостых сусликов (n=19) и у 3,3 % монгольских пищух (n=60).

Высокую интенсивность эпизоотического процесса в поселениях серого сурка подтверждает и большое количество обнаруженных трупов грызунов, как свежих, так и мумифицированных, в большинстве случаев поеденных в различной степени хищными птицами и падальщиками. В местах протекания эпизоотий встречено много пернатых хищников как летающих над этими участками, так и сидящих на поверхности. При проведении обследовательских работ обнаружено 24 скопления крупных птиц – грифов и орлов. У них отобрано 22 трупа сурков. Кроме того, у четырех одиночных орлов забрано четыре остатка сурков. В одном случае птицы сурка съели полностью, обнаружено только содержимое желудка. Шесть свежих, сильно поеденных остатков сурков подобраны в степи без визуального выявления хищников, при этом в непосредственной близости от данных находок находилось большое количество перьев крупных птиц.

Представляет несомненный интерес тот факт, что в семи случаях на различных участках в местах скопления пернатых хищников на небольшой площади обнаружено сразу по несколько поеденных в разной степени сурков: 1) у пяти орлов отобрано два

сильно расклеванных сурка (участок Шар-Булаг); 2) на склоне замечены шесть грифов и один орел, в этом месте на площади около 4 га собрано пять свежих остатков сурков (Зуслан-Булаг); 3) у семи грифов забраны остатки сурка (челюсть, задняя нога), рядом добыт агонирующий сурок, у которого была расклевана передняя часть головы (Хагнур); 4) у трех орлов забраны остатки сурка, в 100 м от них сидели четыре грифа, здесь подобраны два остатка сурков (Хагнур); 5) у семи грифов и одного орла отобран мало поеженный сурок, на этом же склоне на площади 4 га обнаружено восемь мумифицированных трупов сурков (Хундий); 6) на склоне замечены семь сидящих грифов, здесь подобран целый не расклеванный труп сурка, рядом обнаружено четыре мумифицированных остатка грызунов (Хар-Ямат); 7) у пяти грифов забраны свежие остатки сурка, тут же на небольшой площади найдено пять мумифицированных остатков (Шар-Булаг). Во всех указанных случаях из полученного материала изолированы культуры возбудителя чумы. Это показывает, что процесс заражения чумой и гибели от нее сурков, входящих в отдельную семью, может происходить как за очень короткий период (обнаруживаются несколько одновременно погибших от чумы особей), так и в растянутые сроки в течение одного эпизоотического сезона (обнаруживаются как только что павшие животные, так и уже мумифицированные трупы).

За время проведения обследовательских работ при выполнении автомобильных и пеших маршрутов по сбору полевого материала обнаружено большое количество мумифицированных трупов сурков, основную часть (134 экз.) повредили хищники. Найдено также три свежих и четыре загнивших трупа. Кроме того, собрано шесть костных останков сурков, которые, вероятнее всего, также явились недавней добычей хищников. Таким образом, за время эпизоотологического обследования собрано 181 экз. трупов и остатков серых сурков. Именно из них и эктопаразитов, снятых со свежих трупов, изолировано абсолютное большинство штаммов возбудителя чумы – 96 %.

Поскольку чумной микроб сохраняется в трупах животных около двух месяцев [16], можно полагать, что большая часть сурков, мумифицированные трупы и костные останки которых были собраны, погибли от чумы в текущем году. Зараженность данных объектов чумным микробом, как проиллюстрировано выше, достаточно высока. Еще выше частота обнаружения в них ДНК чумного микроба. Если учесть, что ДНК чумного микроба в костных останках млекопитающих сохраняется в природе на земной поверхности не более полутора лет [17], нельзя исключить, что гибель части сурков могла произойти и в прошлом году.

Результаты проведенного эпизоотологического обследования монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 г. показывают, что здесь, на приграничной с Российской Федерацией

местности, протекает интенсивная разлитая эпизоотия чумы, вызванная возбудителем основного подвида. Все эпизоотические проявления выявлены на высотах 2400–2800 м над ур. м. в поселениях серого сурка с высокой плотностью. Эпизоотия чумы охватила значительную территорию и зарегистрирована на большей части южного макросклона хр. Сайлюгем на протяжении 100 км от перевала Улан-Даба на западе до перевала Дурбет-Даба на востоке (участки Жалпак, Хар-Ямат, Шар-Булаг, Терсагкан, Зуслан-Булаг, Хагнур, Талын Толгой) и по всему хр. Каралахту на протяжении 30 км (участки Заг, Шинэ-Дава, Хундий, Бухан Толгой). Необходимо акцентировать внимание на том, что эпизоотическая обстановка на территории монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага в 2018 г. характеризуется большей напряженностью, чем в предыдущем 2017 г. (показатели приведены в [15]) по основным параметрам, описывающим интенсивность эпизоотии (количество изолированных штаммов, площадь эпизоотии, подтвержденная изоляцией возбудителя, зараженность чумным микробом носителей, в первую очередь сурков, и переносчиков, частота обнаружения ДНК *Y. pestis*).

Следует отметить, что результаты проведенного исследования являются единовременным «срезом» эпизоотической ситуации в очаге, поскольку сбор полевого материала на каждом участке осуществлялся одной зоо группой в сжатые сроки (в течение 1–2 дней) на небольшом количестве точек. При более детальном обследовании каждого участка количество положительных находок на чуму было бы значительно больше. На семи участках (Худаг, Талын Толгой, Жаргалант, Шинэ-Дава, Заг, Хох-Сай, Борхаг) выполнить полноценное обследование не удалось, во-первых, из-за неблагоприятных погодных условий во время проведения работ (сильные ветра и дожди), во-вторых, из-за ограниченного количества времени при обследовании обширной территории. На этих территориях получено небольшое количество полевого материала. Тем не менее, на трех из них (Талын Толгой, Шинэ-Дава, Заг) изолировано по одной культуре возбудителя чумы.

За время эпизоотологического обследования возбудитель чумы алтайского подвида не выделен, также не обнаружена его ДНК. Наиболее вероятная причина такой ситуации заключается в том, что, во-первых, в июле происходит сезонный спад эпизоотической активности при циркуляции *Y. pestis* ssp. *altaica*, во-вторых, численность монгольской пищухи (основного носителя этого варианта возбудителя) на обследованной территории начала только восстанавливаться, а эпизоотическая активность зависит от ее уровня.

Напряженная эпизоотическая ситуация, сложившаяся в монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2017–2018 гг., свидетельствует о необходимости организации системного эпизоотологического мониторинга

этой территории на постоянной основе. Такой подход позволит обеспечить контроль эпизоотической активности очага, определить территории высокого эпидемического риска заражения населения. Дифференциация энзоотичной территории по степени выраженности риска заражения человека чумой позволит оптимизировать объем и направленность профилактических, противоэпидемических мероприятий, что, в свою очередь, будет способствовать управлению эпидемическими рисками, действующими в приграничных районах России и Монголии, и минимизирует опасность вывоза этой болезни за пределы трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы.

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

Список литературы

- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Кривуля С.Д., Федоров Ю.М. Стратегия борьбы с инфекционными болезнями и санитарная охрана территорий в современных условиях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2006; 2:5–9.
- Mehand M.S., Millett P., Al-Shorbaji F., Roth C., Kieny M.P., Murgue B. World Health Organization Methodology to Prioritize Emerging Infectious Diseases in Need of Research and Development. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(9). [Электронный ресурс]. URL: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/24/9/17-1427_article (дата обращения 20.02.2019). DOI: 10.3201/eid2409.171427.
- Liu Y. The Atlas of plague and its environment in the People's Republic of China. Beijing, China: Science Press; 2000. 221 p.
- Human plague: review of regional morbidity and mortality, 2004–2009. *Weekly epidemiological record*. 2010; 85(6):40–5. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/wer/2010/wer8506.pdf?ua=1> (дата обращения 24.04.2019).
- Bertherat E. Plague around the world, 2010–2015. *Weekly epidemiological record*. 2016; 91(8):89–104. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/wer/2016/wer9108.pdf?ua=1> (дата обращения 24.04.2019).
- Yang R., Anisimov A., editors. *Yersinia pestis: retrospective and perspective. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 918. Springer; 2016. 391 p. DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4.
- Berger S. Infectious Diseases in China. Plague. Gideon Informatics; 2018. P. 575–9. [Электронный ресурс]. URL: https://play.google.com/books/reader?id=2jPLDwAAQBAJ&hl=ru&printsec=frontcover&source=gbs_atb_hover&pg=GBS.PA1 (дата обращения 24.04.2019).
- Адъяасурэн З., Цэрэнноров Д., Мягмар Ж., Ганхуяг Ц., Отгонбаяр Д., Баяр Ц., Вержуцкий Д.Б., Ганболд Д., Балахонов С.В. Современная ситуация в природных очагах чумы Монголии. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2014; 25:22–5.
- Altantugs B., Byambasuren D., Maralmaa G., Naranbaatar R., Saltanat S., Uuganjavkhua B., Erdenechimeg L., Altantogtokh D. Epidemiology of human plague in Mongolia. Current issues on zoonotic diseases. Ulaanbaatar; 2017. Vol. 22. P. 26–33.
- Zhao S.-S., Pulati Y., Yin X.-P., Li W., Wang B.-J., Yang K., Chen C.-F., Wang Y.-Z. Wildlife plague surveillance near the China–Kazakhstan border: 2012–2015. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64(6):e48–e51. DOI: 10.1111/tbed.12603.
- Вержуцкий Д.Б. Активизация природных очагов чумы в Центральной Азии: беспочвенные опасения или реальная угроза. *Природа внутренней Азии*. 2018; 1(6):7–18. DOI: 10.18101/2542-0623-2018-1-7-18.
- Wang P., Shi L., Zhang F., Guo Y., Zhang Z., Tan H., Cui Z., Ding Y., Liang Y., Liang Y., Yu D., Xu J., Li W., Song Z. Ten years of surveillance of the Yulong plague focus in China and the molecular typing and source tracing of the isolates. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(3):e0006352. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006352.
- Корзун В.М., Балахонов С.В., Косилко С.А., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Чипанян Е.В., Базарова Г.Х., Ярыгина М.Б., Абибулаев Д.Э., Шефер В.В. Особенности эпизоотической и эпидемической активности Горно-Алтайского природного очага чумы в 2012–2016 годах. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 16(1):36–8.
- Балахонов С.В., Щучинов Л.В., Мищенко А.И., Матросов А.Н., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Корзун

В.М., Косилко С.А., Тагызова С.Л., Топорков В.П., Попов Н.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Организация профилактических, противоэпидемических мероприятий в целях снижения риска осложнения эпидемиологической ситуации по чуме на территории Республики Алтай. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2018; 6:85–94.

15. Корзун В.М., Балахонов С.В., Денисов А.В., Ярыгина М.Б., Рождественский Е.Н., Абибулаев Д.Э., Шефер В.В., Косилко С.А., Отгонбаяр Д., Байгалмаа М., Оргилбаяр Л., Уржих Ч., Тоголдор Н., Махбал А., Дауренбек Х., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д., Ганболд Х. Монгольская часть трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2017 г. Сообщение 1. Эпизоотическая ситуация. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:79–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-79-84.

16. Черкасский Б.Л. Справочник по особо опасным инфекциям. М.: Медицина; 1996. 160 с.

17. Сутягин В.В., Мека-Меченко Т.В., Когай О.В., Бердибеков А.Т., Наурузбаев Е.О. Предварительные результаты изучения продолжительности сохранения генных фрагментов *Yersinia pestis* в костях грызунов. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане*. 2016; 1:96–8.

References

- Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V., Krivulya S.D., Feodorov Yu.M., Toporkov V.P. [Philosophy of infectious diseases control and sanitary protection of territories under the present-day situation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2006; 2:5–9.
- Mehand M.S., Millett P., Al-Shorbaji F., Roth C., Kieny M.P., Murgue B. World Health Organization Methodology to Prioritize Emerging Infectious Diseases in Need of Research and Development. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(9). [Internet]. (Cited 20 Feb 2019). Available from: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/24/9/17-1427_article. DOI: 10.3201/eid2409.171427.
- Liu Y. The Atlas of plague and its environment in the People's Republic of China. Beijing, China: Science Press; 2000. 221 p.
- Human plague: review of regional morbidity and mortality, 2004–2009. *Weekly epidemiological record*. 2010; 85(6):40–5. [Internet]. (Cited 24 Apr 2019). Available from: <https://www.who.int/wer/2010/wer8506.pdf?ua=1>.
- Bertherat E. Plague around the world, 2010–2015. *Weekly epidemiological record*. 2016; 91(8):89–104. [Internet]. (Cited 24 Apr 2019). Available from: <https://www.who.int/wer/2016/wer9108.pdf?ua=1>.
- Yang R., Anisimov A., editors. *Yersinia pestis: retrospective and perspective. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 918. Springer; 2016. 391 p. DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4.
- Berger S. Infectious Diseases in China. Plague. Gideon Informatics; 2018. P. 575–9. [Internet]. (Cited 24 Apr 2019). Available from: https://play.google.com/books/reader?id=2jPLDwAAQBAJ&hl=ru&printsec=frontcover&source=gbs_atb_hover&pg=GBS.PA1.
- Ad'jasuren Z., Tserennorov D., Myagmar Zh., Gankhuyag Ts., Otgonobayar D., Bayar Ts., Verzhutsky D.B., Gansbold D., Balakhonov S.V. [Current state of natural plague foci of Mongolia]. *Dal'nevostochny Zhurnal Infektsionnoi Patologii [Far-East Journal of Infectious Pathology]*. 2014; 25:22–5.
- Altantugs B., Byambasuren D., Maralmaa G., Naranbaatar R., Saltanat S., Uuganjavkhua B., Erdenechimeg L., Altantogtokh D. Epidemiology of human plague in Mongolia. Current issues on zoonotic diseases. Ulaanbaatar; 2017. Vol. 22. P. 26–33.
- Zhao S.-S., Pulati Y., Yin X.-P., Li W., Wang B.-J., Yang K., Chen C.-F., Wang Y.-Z. Wildlife plague surveillance near the China–Kazakhstan border: 2012–2015. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64(6):e48–e51. DOI: 10.1111/tbed.12603.
- Verzhutsky D.B. [Activation of natural plague foci in Central Asia: groundless apprehensions or a real threat]. *Priroda Vnutrennei Azii [Nature of Inner Asia]*. 2018; 1(6):7–18. DOI: 10.18101/2542-0623-2018-1-7-18.
- Wang P., Shi L., Zhang F., Guo Y., Zhang Z., Tan H., Cui Z., Ding Y., Liang Y., Liang Y., Yu D., Xu J., Li W., Song Z. Ten years of surveillance of the Yulong plague focus in China and the molecular typing and source tracing of the isolates. *PLOS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(3):e0006352. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006352.
- Korzun V.M., Balakhonov S.V., Kosilko S.A., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Chipanin E.V., Bazarova G.Kh., Yarygina M.B., Abibulaev D.E., Shefer V.V. [Peculiarities of epizootic and epidemic activity of Gorno-Altai natural plague focus in 2012–2016]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Preventive Vaccination]*. 2017; 16(1):36–8.
- Balakhonov S.V., Shchuchinov L.V., Mishchenko A.I., Matrosov A.N., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Korzun V.M., Kosilko S.A., Tagyzova S.L., Toporkov V.P., Popov N.V., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. [Organization of preventive, anti-epidemic measures aimed at decrement of risk of epidemiological situation aggravation as regards plague in the territory of the Republic of Altai]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*

[*Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology*]. 2018; 6:85–94.

15. Korzun V.M., Balakhonov S.V., Denisov A.V., Yarygina M.B., Rozhdestvensky E.N., Abibulaev D.E., Shefer V.V., Kosilko S.A., Otgonbayar D., Baigalmaa M., Orgilbayar L., Urzhikh Ch., Togoldor N., Makhbal A., Daurenbek Kh., Tsogbadrakh N., Tserennorov D., Ganbold Kh. [Mongolian Part of the Transboundary Sailugem Natural Plague Focus in 2017. Communication 1. Epizootic condition]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 1:79–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-79-84.

16. Cherkassky B.L. [Reference Book on Particularly Dangerous Infections]. M.: "Meditsina"; 1996. 160 p.

17. Sutyagin V.V., Meka-Mechenko T.V., Kogai O.V., Berdibekov A.T., Nauruzbaev E.O. [Preliminary results of studies of *Y. pestis* gene fragments preservation in skeletons of rodents]. *Karantinnye i Zoonoznye Infektsii v Kazakhstane* [Quarantine and Zoonotic Infections in Kazakhstan]. 2016; 1:96–8.

Authors:

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

Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Sanarov P.P., Akulova S.S. Altai Plague Control Station. 2, Zavodskaya St., Gorno-Altaysk, 649002, Russian Federation. E-mail: chuma@mail.gorny.ru.

Otgonbayar D., Orgilbayar L., Batzhav D., Tsogbadrakh N.,

Tserennorov D. National Centre for Studies of Zoonotic Infections. 20 horo, Songinohajrhan mikrorajon, Ulaanbaatar, 18131, Mongolia. E-mail: tsogoo_0210@yahoo.com.

Urzhikh Ch., Togoldor N., Makhbal A. Centre for Studies of Zoonotic Infections of Bayan-Ulgii Aimag. 4 bag, Ih bulan, Bayan-Ulgii Aimag, Mongolia. E-mail: urjeech@yahoo.com.

Об авторах:

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

Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Санаров П.П., Акулова С.С. Алтайская противочумная станция. Российская Федерация, 649002, Горно-Алтайск, ул. Заводская, 2. E-mail: chuma@mail.gorny.ru.

Отгонбаяр Д., Оргилбаяр Л., Батжав Д., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д. Национальный центр по изучению зоонозных инфекций. Монголия, 18131, Улаанбаатар, Сонгинохайрхан микрорайон, 20 хоро. E-mail: tsogoo_0210@yahoo.com

Уржих Ч., Тоголдор Н., Махбал А. Центр по изучению зоонозных инфекций Баян-Улгийского аймака. Монголия, Баян-Улгий аймак, Их булан, 4 баг. E-mail: urjeech@yahoo.com.

Поступила 15.03.19.

Отправлена на доработку 12.04.19.

Принята к публ. 16.05.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-87-92

УДК 616.932:579.222

Е.В. Монахова, Г.В. Демидова, Р.В. Писанов, О.В. Дуванова, **Б.Н. Мишанькин****РЕКОМБИНАНТНЫЙ ШТАММ *ESCHERICHIA COLI* С ПОВЫШЕННОЙ ПРОДУКЦИЕЙ НЕЙРАМИНИДАЗЫ *VIBRIO CHOLERAЕ***

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Целью работы явилось клонирование гена *nanH* *Vibrio cholerae* в составе плазмидного вектора, обеспечивающего экспрессию чужеродных генов под контролем T5-промотора, и создание штамма *E. coli* – продуцента рекомбинантной нейраминидазы. **Материалы и методы.** Донором ДНК послужил штамм *V. cholerae* O1, векторной плазмидой – pQE30. Ген амплифицировали с помощью ПЦР, клонирование осуществляли общепринятыми методами, продуктивность рекомбинантов и локализацию искомого белка определяли по результатам электрофореза лизатов клеток. Нейраминидазную активность определяли по наличию флуоресценции в ультрафиолетовом свете после инкубации со специфическим субстратом (4-метилумбеллиферил-N-ацетилнейраминовой кислотой). **Результаты и обсуждение.** Сконструирована рекомбинантная плазмида pNanH, содержащая ген *nanH* *V. cholerae*, встроенный по сайтам BamHI-PstI в полилинкер pQE30. Экспрессия клонированного гена в штамме-продуценте *E. coli* JM103pNanH происходит под контролем T5-промотора при индукции изопропил-β-D-тиогалактозидом (ИПТГ). Штамм обладает нейраминидазной активностью. Рекомбинантный белок NanH накапливается в клетках продуцента в двух формах. Первая, с молекулярной массой (ММ) 89,5 кДа, представляет собой непротессированный белок с гексагистидиновым блоком (6His-tag) на N-конце и находится в тельцах включения. Ее содержание составляет 5,6–6,6 % суммарных клеточных белков. Вторая, с ММ 83 кДа, обнаруживается в периплазматическом пространстве клеток и соответствует зрелой NanH, содержание составляет 3,4–3,8 %. Их общее содержание – 9–10 % суммарных клеточных белков, что позволяет считать штамм *E. coli* JM103pNanH суперпродуцентом искомого фактора. Штамм может быть использован для получения NanH *V. cholerae* в целях создания специфических диагностических, терапевтических и фармацевтических препаратов, а также для изучения свойств этого белка как фактора патогенности/персистенции возбудителя.

Ключевые слова: нейраминидаза *Vibrio cholerae*, рекомбинантная плазмида, клонирование гена, экспрессия в *Escherichia coli*.

Монахова Елена Владимировна monakhova_ev@antiplague.ru

Корреспондирующий автор: Монахова Елена Владимировна, e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru.

Для цитирования: Монахова Е.В., Демидова Г.В., Писанов Р.В., Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н. Рекомбинантный штамм *Escherichia coli* с повышенной продукцией нейраминидазы *Vibrio cholerae*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:87–92. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-87-92

E.V. Monakhova, G.V. Demidova, R.V. Pisanov, O.V. Duvanova, **B.N. Mishan'kin****Recombinant *Escherichia coli* Strain with Enhanced Production of *Vibrio cholerae* Neuraminidase**

Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. Objective of this work was cloning of the *Vibrio cholerae nanH* gene as part of a plasmid vector, providing expression of foreign genes under the control of T5 promoter, and construction of a *E. coli* strain – producer of *V. cholerae* recombinant neuraminidase. **Materials and methods.** *V. cholerae* O1 strain served as a DNA donor, pQE30 – as a vector plasmid. The gene was PCR-amplified, the cloning was carried out by means of conventional methods, performance of recombinants and localization of the required protein was determined based on the results of electrophoresis of cell lysates. Neuraminidase activity was identified by fluorescence in ultraviolet light after incubation with specific substrate (4-methylumbelliferyl-N-acetylneuraminic acid). **Results and discussion.** Recombinant plasmid pNanH, containing the cloned gene *nanH* *V. cholerae*, has been constructed. The gene is inserted into BamHI-PstI sites of the polylinker of pQE30. Expression of the cloned gene in the producer strain *E. coli* JM103pNanH occurs under the control of T5 promoter after isopropyl-β-D-galactopyranoside (IPTG) induction. The strain shows neuraminidase activity. The recombinant NanH protein is accumulated in the producer's cells in two forms. The first form, with molecular mass (MM) of 89.5 kDa, is an unprocessed protein with the hexahistidine block (6His-tag) at its N-terminus, it is located in inclusion bodies. Its percentage is 5.6–6.6 % of the total cell proteins. The second one, with MM of 83 kDa, is found in the periplasmic space and corresponds to the mature NanH, its percentage being 3.4–3.8 %. The total percentage of both forms is 9–10 % of total cell proteins, which allows to consider the strain *E. coli* JM103pNanH to be a super-producer of the required protein. The strain may be used for purification of NanH preparations for construction of specific diagnostic, therapeutic and pharmaceutical preparations as well as for investigation of the protein as a virulence/persistence factor of the pathogen.

Key words: *Vibrio cholerae* neuraminidase, gene cloning, recombinant plasmid, expression in *Escherichia coli*.

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

Corresponding author: Elena V. Monakhova, e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru.

Citation: Monakhova E.V., Demidova G.V., Pisanov R.V., Duvanova O.V., Mishan'kin B.N. Recombinant *Escherichia coli* Strain with Enhanced Production of *Vibrio cholerae* Neuraminidase. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2019; 2:87–92. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-87-92

Received 26.02.19. Accepted 28.02.19.

Нейраминидаза (NanH) является одним из немаловажных факторов патогенности/персистенции холерных вибрионов, повышающим чувствительность клеток кишечника к действию холерного токсина, а также участвующим в утилизации ганглиозидов высшего порядка в качестве источников питания. Не исключено, что продукция NanH может играть определенную роль в развитии легкой формы инфекции или кратковременного вибриононосительства [1–3]. Однако ее роль в патогенезе холеры и биологии возбудителя остается не до конца изученной. Это обуславливает актуальность проведения дальнейших исследований свойств данного фактора, что требует наличия его препаратов.

Препараты NanH также широко используются в биохимических и медицинских исследованиях, в фармацевтической промышленности [4]. Показана перспективность их применения для создания новых пероральных средств лечения аллергических заболеваний [5]. В опытах на крысах установлено, что интратекальное введение препарата NanH значительно ускоряет лечение травм спинного мозга, не оказывая на организм побочных токсических эффектов [6, 7].

Коммерческие препараты нейраминидазы *V. cholerae*, производимые зарубежными компаниями (Sigma-Aldrich, Roche), отличаются высокой стоимостью (более 25 тыс. рублей за 1,5 U). Для их производства используют токсигенные штаммы холерных вибрионов, что требует соблюдения режима работы с возбудителями особо опасных инфекций. Согласно данным G. Taylor *et al.* [8], выход продукта составляет около 1 мг/л культуральной жидкости. Недавно болгарские исследователи предложили более эффективный продуцент – нетоксигенный штамм *V. cholerae* nonO1/nonO139 V13 [4], перспективный для использования в промышленных масштабах, выход очищенного белка составляет ~2 мг/л культуральной жидкости.

Наиболее эффективным способом получения этого фактора в препаративных количествах представляется использование лабораторных штаммов *E. coli*, содержащих и экспрессирующих клонированный ген *nanH*. Ранее нами сконструирован такой штамм – *E. coli* HB101pRD39, содержащий в составе рекомбинантной плазмиды фрагмент ДНК *V. cholerae* длиной ~7,3 т.п.н. с геном *nanH*, экспрессирующимся под контролем собственного промотора [9]. Однако на сегодняшний день выход искомого продукта представляется недостаточным для выделения его в препаративных количествах. Кроме того, параллельно с NanH, возможно, происходит синтез нецелевых продуктов некоторых, либо всех шести, дополнительных интактных генов, также входящих в состав клонированного фрагмента, что затрудняет выделение и очистку препарата. Плазида pCVD364, сконструированная ранее E.R. Vimr *et al.* [10], содержала функционально активный ген *nanH* в составе клонированного фрагмента ДНК длиной 4,8 т.п.н. Активность продукта в экстрактах клеток несущего эту плазмиду штамма *E. coli* HB101 составила

858 U/мг общего белка. Авторам удалось выделить из этих экстрактов очищенный препарат, однако сведения о количестве использованной биомассы и выходе продукта не приведены ни в упомянутой [10], ни в последующей публикации [8]. В дальнейшем I. Moustafa *et al.* [11] пытались использовать эту плазмиду для получения препарата, но выход продукта был слишком низким, в связи с чем авторы клонировали участок встроенного в нее гена без последовательности, кодирующей сигнальный пептид, в составе вектора pET30b(+). Трансформированный полученной рекомбинантной плазмидой штамм *E. coli* BL21(DE3) при индукции изопропил-β-D-тиогалактозидом (ИПТГ) накапливал NanH в цитоплазме, однако наращивание биомассы занимало около суток. Продуктивность рекомбинантного штамма, определенная позднее другими авторами [6], составляла не менее 500 U/л культуры. Обеими группами авторов получение препарата осуществлялось для достижения собственных научных целей, и в литературе больше не появлялось сообщений о дальнейшем применении продуцента. В распоряжении отечественных исследователей аналогичные продуценты отсутствуют.

Целью настоящей работы явилось клонирование гена *nanH* в составе плазмидного вектора pQE30, обеспечивающего экспрессию чужеродных генов под контролем мощного T5-промотора, и создание штамма *E. coli* – продуцента рекомбинантного белка NanH *V. cholerae*.

Материалы и методы

В качестве донора ДНК для амплификации гена использован штамм *V. cholerae* Эль Тор Р-5879 (Инаба), выделенный в 1972 г. в Таганроге (Ростовская область) из содержимого кишечника трупа холерного больного; в качестве реципиентов рекомбинантных плазмид – *E. coli* Jm103 и M15[pREP4]. Штаммы хранились в лиофилизированном состоянии в Музее живых культур с Центром патогенных для человека вибрионов Ростовского-на-Дону противочумного института. Векторной плазмидой служила pQE30 (QIAGEN), обеспечивающая контролируемую экспрессию клонированного гена.

Штамм *V. cholerae* выращивали на агаре Мартена, кишечной палочки – на плотной и жидкой среде LB. Для культивирования рекомбинантных штаммов *E. coli* в среды добавляли 50 мкг/мл ампициллина и 0,5 % глюкозы, для наращивания биомассы в целях наработки искомого продукта – только ампициллин без глюкозы.

Геномную ДНК выделяли с помощью комплекта реагентов «Проба-НК» (ДНК-Технология, Россия), плазмидную – методом Бирнбойма как описано ранее [12].

Ген *nanH* идентифицировали с помощью программы BLASTN 2.2.29 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) в черновом полном геноме *V. cholerae* P-5879, сек-

Праймеры, использованные в работе
Primers used in this work

Праймеры / Primers	Нуклеотидная последовательность 5'-3' / Nucleotide sequence 5'-3'	t° отжига / annealing t°, °C	Длина ампликона, п.н. / Amplicon length, bps
<i>nanH</i> -clon-F <i>nanH</i> -clon-R	GTCAGGATCCATGACTTCACAACGAAGAAG* CCTGCTGCAGCAGGGCATGCTTCCATTGTT*	60	2484
<i>nanH</i> -detect-F <i>nanH</i> -detect-R	TTGCAATGTTCCGGTATGGCGA CACGATAAGCGGCGACACCAT	58	585

*В праймерах для клонирования выделены жирным шрифтом и подчеркнуты сайты эндонуклеаз рестрикции – соответственно BamHI и PstI.

*Primers for cloning include sites for endonuclease restriction, correspondingly BamHI and PstI (printed in bold and underlined).

венированном нами на платформе MiSeq (Illumina, США) согласно прилагаемому протоколу.

Праймеры для клонирования и детекции гена *nanH* конструировали с помощью Vector NTI Advance 11 (Invitrogen), их нуклеотидные последовательности приведены в таблице. Синтез праймеров выполнен ОАО «Евроген» (Россия). Амплификацию искомым фрагментов осуществляли с использованием Taq-полимеразы, буфера и смеси dNTP производства Thermo Scientific (США) на программируемом термостате «Терцик» (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия).

Фрагмент и вектор гидролизовали эндонуклеазами рестрикции BamHI и PstI и лигировали T4-ДНК-лигазой (Thermo Scientific, США) в прилагаемых буферах согласно рекомендациям изготовителя. Лигазными смесями трансформировали компетентные клетки *E. coli* Jm103, приготовленные накануне с обработкой хлористым кальцием. После стандартной процедуры трансформации (0 °C – 40 мин, 42 °C – 2 мин, 0 °C – 5 мин) клетки разводили в 10 раз средой LB с 0,5 % глюкозы, подрачивали в течение 1 ч и высевали на агар LB, содержащий 50 мкг/мл ампициллина и 0,5 % глюкозы. Посевы инкубировали при 37 °C и на следующие сутки отбирали ампициллинрезистентные колонии. Наличие вставки искомого гена определяли в ПЦР с помощью специфических праймеров для его детекции (таблица), а затем подтверждали рестрикцией рекомбинантной плазмиды указанными эндонуклеазами с последующим электрофорезом в 0,9 % агарозном геле.

Для отбора рекомбинантных клонов кишечной палочки, экспрессирующих клонированный ген, их выращивали в жидкой среде LB, содержащей 50 мкг/мл ампициллина, с шуттелированием в течение 4 ч, затем добавляли индуктор ИПТГ до конечной концентрации 1 мМ и продолжали шуттелирование в течение еще 1,5 ч. Для определения нейраминидазной активности 20 мкл каждой культуры смешивали на стекле с равным объемом раствора (1 мг/мл) 4-метилумбеллиферил-N-ацетилнейраминной кислоты (Sigma-Aldrich, Германия) и спустя 20 мин просматривали в ультрафиолетовом (УФ) свете. Положительные результаты учитывали по наличию флуоресценции [13].

Для оценки уровней экспрессии клонированных генов в двух разных штаммах *E. coli*, трансформиро-

ванных рекомбинантными плазмидами, их выращивали как описано выше. Затем клетки осаждали центрифугированием, растворяли осадок в лизис-буфере при 100 °C и подвергали SDS-электрофорезу в 10 % полиакриламидном геле (ПААГ). Процентное содержание искомого продукта относительно суммарных клеточных белков оценивали с помощью программы Quantity One 4.6. Для определения локализации рекомбинантного белка клетки продуцентов разрушали ультразвуком на дезинтергаторе Q700 (QSonica, США) в течение 10 мин (40 импульсов по 5 сек, 357 Дж с перерывами в 10 сек; амплитуда 50) и подвергали электрофорезу растворимую и нерастворимую фракции клеток, разделенные центрифугированием.

Результаты и обсуждение

Ген *nanH* штамма *V. cholerae* P-5879 оказался на 100 % идентичным таковому референс-штамму *V. cholerae* N16961 (VC1784 в составе его большой хромосомы, AE003852). Специфические праймеры для ПЦР-синтеза гена сконструированы на основе анализа содержащей его нуклеотидной последовательности, депонированной нами в NCBI под номером KU215667. На 5'-конце они содержали сайты эндонуклеаз, образующих липкие концы: BamHI для прямого праймера и PstI – для обратного в соответствии с порядком расположения сайтов рестрикции в полилинкере векторной плазмиды pQE30, с целью встраивания ампликона в вектор в ориентации, обеспечивающей направление транскрипции под контролем T5-промотора.

Полученный ПЦР-ампликон длиной 2484 п.н. и плазида pQE30 обработаны указанными эндонуклеазами и лигированы, как описано в разделе «Материалы и методы». Схема конструирования рекомбинантной плазмиды, обозначенной как pNanH, показана на рис. 1. Лигазной смесью трансформировали компетентные клетки *E. coli* Jm103. Тестирование рекомбинантных клонов, отобранных по результатам ПЦР с праймерами для детекции искомого гена, по фенотипу позволило выявить реально способные к его экспрессии по наличию флуоресценции в УФ свете, отсутствующей у контрольного штамма (рис. 2).

Наличие вставки гена в pNanH, выделенной из штамма *E. coli* Jm103, подтверждено рестрик-

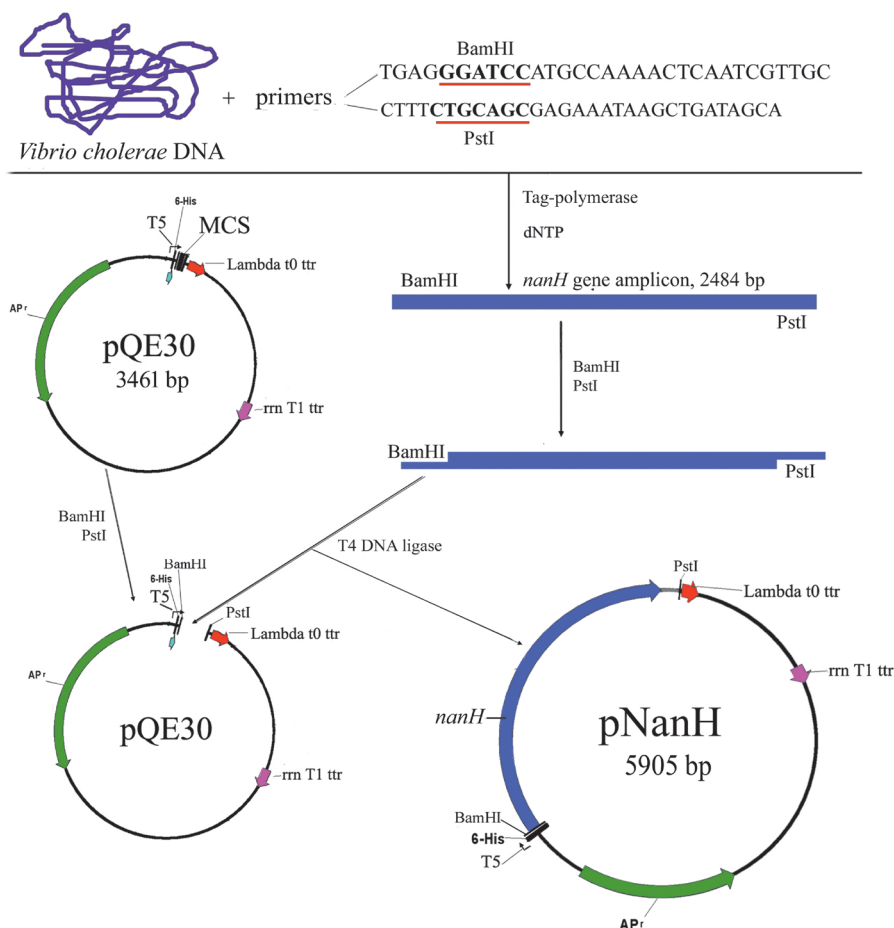


Рис. 1. Схема конструирования рекомбинантной плазмиды pNanH

Fig. 1. The scheme of recombinant plasmid pNanH construction

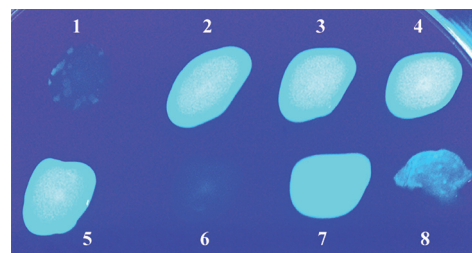
цией BamHI-PstI с последующим электрофорезом (рис. 3). Плазмида дополнительно трансформирована в штамм *E. coli* M15[pREP4].

Результаты SDS-электрофореза лизатов клеток штаммов *E. coli* Jm103pNanH и M15[pREP4]pNanH, выращенных с индукцией ИПТГ, показали, что значительное увеличение количества белков с ММ ~83 и ~89,5 кДа (что соответствовало ММ двух форм

NanH) наблюдалось только в лизате клеток *E. coli* Jm103pNanH, в отличие от лизатов M15[pREP4]pNanH и обоих контрольных штаммов, содержащих векторную плазмиду без вставки (рис. 4А). Данные результаты стали неожиданными, поскольку сконструированная нами ранее аналогичная плазмида pHlyA, напротив, намного эффективнее экспрессировала клонированный в ее составе ген гемолизина *V. cholerae* в штамме M15[pREP4], чем в Jm103 [14], и именно M15[pREP4] рекомендован QIAGEN

Рис. 2. Электрофорез в агарозном геле BamHI-PstI-рестрикта pNanH (дорожка 1) в сравнении с линейной формой вектора pQE30 (дорожка 2) и ПЦР-ампликоном гена *nanH* *V. cholerae* P-5879 (дорожка 3)

Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of BamHI-PstI restrict of pNanH (lane 1) as compared to the linear form of the pQE30 vector (lane 2) and PCR-amplified *nanH* gene (lane 3)

Рис. 3. Продукция NanH рекомбинантными клонами *E. coli* Jm103pNanH: флуоресценция в УФ свете после инкубации с субстратом:

1 – контрольный штамм *E. coli* Jm103, содержащий векторную плазмиду pQE30 без вставки, 2–5, 7 – NanH-положительные клоны, 6 – NanH-негативный клон, 8 – *V. cholerae* P-5879

Fig. 3. Production of NanH by recombinant clones of *E. coli* Jm103pNanH: fluorescence in UV light after incubation with substrate:

1 – control strain *E. coli* Jm103 carrying vector plasmid pQE30 without insertion, 2–5, 7 – NanH-positive clones, 6 – NanH-negative clone, 8 – *V. cholerae* P-5879

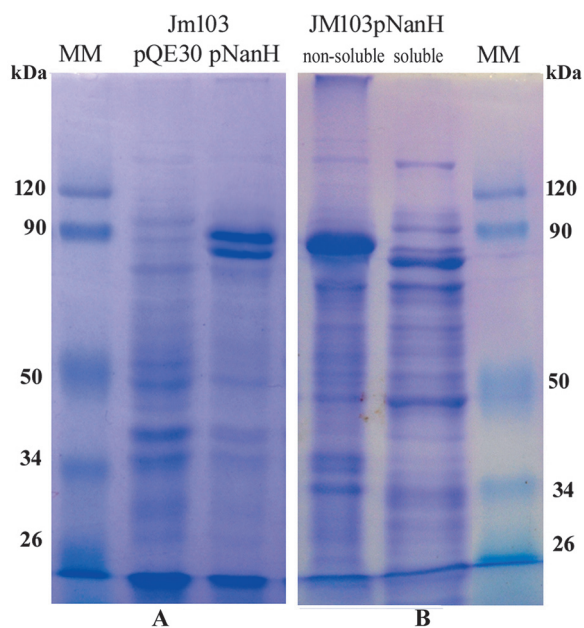


Рис. 4. Продукция NanH рекомбинантными штаммами *E. coli*, выращенными с индукцией ИПТГ (SDS-электрофорез в 10 % ПААГ):

A – лизаты целых клеток, **B** – нерастворимая (non-soluble) и растворимая (soluble) фракции ультразвуковых дезинтеграторов Jm103pNanH

Fig. 4. Production of NanH by recombinant *E. coli* strains grown with IPTG induction (SDS electrophoresis in 10 % PAAG):

A – lisates of whole cells, **B** – non-soluble and soluble fractions of sonicated Jm103pNanH cells

как один из лучших штаммов для экспрессии генов, клонированных в составе pQE30 (<https://www.qiagen.com/us/resources/resourcedetail?id=79ca2f7d-42fe-4d62-8676-4cfa948c9435&lang=en>). Тем не менее, на основе наших результатов в качестве продуцента выбран штамм Jm103pNanH. По данным программы Quantity One, общее содержание двух форм NanH в лизате его клеток составляло приблизительно 9–10 % суммарных клеточных белков. Для определения локализации рекомбинантного белка клетки этого штамма разрушали ультразвуком и подвергали электрофорезу растворимую и нерастворимую фракции клеток. Оказалось, что продукт действительно накапливается в двух формах (рис. 4В). Первая представляет собой непротессированный белок с гексагистициновым блоком (6His-tag) на N-конце, имеющий ММ ~89,5 кДа, и остается в нерастворимой фракции клеток в виде телец включения. Ее содержание составляет 5,6–6,6 % суммарных клеточных белков. Вторая обнаруживается в основном в растворимой фракции, т.е., по-видимому, в периплазматическом пространстве клеток. Ее ММ ~83 кДа соответствует зрелой форме NanH, образующейся вследствие удаления сигнальной последовательности вместе с 6His-tag, общей длиной 58 аминокислотных остатков. Содержание зрелой формы составило 3,4–3,8 % суммарных белков. Это согласуется с данными E.R. Vimr *et al.* [10], которые показали, что в рекомбинантном штамме *E. coli* HB101 транспорт продукта клонированного гена *nanH* в периплазму сопровождается отщеплением сигнального пептида.

Таким образом, нами сконструирован штамм *E. coli* Jm103pNanH – суперпродуцент нейраминидазы *V. cholerae* Эль Тор, который может быть использован для выделения целевого продукта в препаративных количествах. По предварительным расчетам, выход NanH должен составить ~1,5–2 мг/г сырой биомассы (что соответствует 400 мл культуры продуцента, выращенной с индукцией в жидкой среде LB, т.е. ~3,5 мг/л). В зависимости от дальнейших задач можно получать из биомассы исходный продукт (6His-NanH) из телец включения с помощью специфического сорбента типа Ni-NTA (никель-нитрилацетиленованной) сефарозы либо зрелый белок NanH из осветленных ультразвуковых дезинтеграторов клеток с использованием других методов очистки.

Преимуществами полученного продуцента, по сравнению с холерными вибрионами, является высокий выход искомого белка, возможность культивирования без соблюдения режима работы с возбудителями особо опасных инфекций, отсутствие способности к синтезу каких-либо дополнительных биологически активных субстанций, которые могли бы затруднить его выделение и очистку, а по сравнению с известными рекомбинантными штаммами-продуцентами – непродолжительный период наращивания биомассы (около 5 ч включая индукцию), что обеспечивает возможность ускоренного получения препарата.

Штамм депонирован в Государственной Коллекции Патогенных Бактерий «Микроб» (Саратов) под номером КМ 2047.

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

Список литературы

1. Galen J.E., Ketley J.M., Fasano A., Richardson S.N., Wasserman S.S., Kaper J.B. Role of *Vibrio cholerae* neuraminidase in the function of cholera toxin. *Infect. Immun.* 1992; 60(2):406–15. PMID: 1730470. PMCID: PMC257643.
2. Jermyn W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (*nanH*) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. *Microbiology.* 2002; 148(Pt 11):3681–93. DOI: 10.1099/00221287-148-11-3681.
3. Figueiredo S.C., Neves-Borges A.C., Coelho A. The neuraminidase gene is present in the non-toxigenic *Vibrio cholerae* Amazonia strain: a different allele in comparison to the pandemic strains. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2005; 100(6):563–9. DOI: 10.1590/S0074-02762005000600010.
4. Eneva R.T., Engibarov S.A., Petrova P., Abrashev R., Strateva T., Kolyovska V., Abrashev J. High production of neuraminidase by a *Vibrio cholerae* non-O1 strain – the first possible alternative to toxigenic producers. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2015; 176(2):412–27. DOI: 10.1007/s12010-015-1584-4.
5. Diesner S.C., Bergmayr C., Wang X.Y., Heiden D., Exenberger S., Roth-Walter F., Starkl P., Ret D., Palischoll J., Gabor F., Untermayr E. Characterisation of *Vibrio cholerae* neuraminidase as an immunomodulator for novel formulation of oral allergy immunotherapy. *Clin. Immunol.* 2018; 192:30–9. DOI: 10.1016/j.clim.2018.03.017.
6. Mountney A., Zahner M.R., Lorenzini I., Oudega M., Schramm L.P., Schnaar R.L. Sialidase enhances recovery from spinal cord contusion injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107(25):11561–6. DOI: 10.1073/pnas.1006683107.
7. Mountney A., Zahner M.R., Sturgill E.R., Riley C.J., Aston J.W., Oudega M., Schramm L.P., Hurtado A., Schnaar R.L. Sialidase, chondroitinase ABC, and combination therapy after spinal cord contusion injury. *J. Neurotrauma.* 2013; 30(3):181–90. DOI: 10.1089/neu.2012.2353.

8. Taylor G., Vimr E., Garman E., Laver G. Purification, crystallization and preliminary crystallographic study of neuraminidase from *Vibrio cholerae* and *Salmonella typhimurium* LT2. *J. Mol. Biol.* 1992; 226(4):1287–90. PMID: 1518058.

9. Мишанькин Б.Н., Шиманюк Н.Я., Рябухина О.Ю., Власов В.П. Штамм *E. coli* HB101 pRD39 – продуцент нейраминидазы холерного вибриона. Авторское свидетельство № 1210278 от 08.10.1985 г., опубл. 23.02.1987, Бюл. № 7.

10. Vimr E.R., Lawrisuk L., Galen J., Kaper J.B. Cloning and expression of the *Vibrio cholerae* neuraminidase gene *nanH* in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 1988; 170(4):1495–504.

11. Moustafa I., Connaris H., Taylor M., Zaitsev V., Wilson J.C., Kiefel M.J., von Itzstein M., Taylor G. Sialic acid recognition by *Vibrio cholerae* neuraminidase. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(39):40819–26. DOI: 10.1074/jbc.M404965200.

12. Монахова Е.В., Писанов Р.В., Гончарова Л.А., Михась Н.К., Непомнящая Н.Б., Асеева Л.Е., Каграманов В.С. Клонирование и экспрессия гена гемагглютинин/протеазы (*hapA*) *Vibrio cholerae* в *Escherichia coli*. *Биотехнология*. 2006; 6:8–15.

13. Рябухина О.Ю., Шиманюк Н.Я., Мишанькин Б.Н. Определение нейраминидазы у вибрионов O1 и не O1 групп. *Лабораторное дело*. 1990; (8):63–5.

14. Монахова Е.В., Писанов Р.В., Демидова Г.В., Непомнящая Н.Б. Штамм *Escherichia coli* – суперпродуцент гемолизина *Vibrio cholerae*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:90–3. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-90-93.

References

1. Galen J.E., Ketley J.M., Fasano A., Richardson S.N., Wasserman S.S., Kaper J.B. Role of *Vibrio cholerae* neuraminidase in the function of cholera toxin. *Infect. Immun.* 1992; 60(2):406–15. PMID: 1730470. PMCID: PMC257643.

2. Jermyn W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (*nanH*) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. *Microbiology*. 2002; 148(Pt 11):3681–93. DOI: 10.1099/00221287-148-11-3681.

3. Figueiredo S.C., Neves-Borges A.C., Coelho A. The neuraminidase gene is present in the non-toxigenic *Vibrio cholerae* Amazonia strain: a different allele in comparison to the pandemic strains. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2005; 100(6):563–9. DOI: 10.1590/S0074-02762005000600010.

4. Eneva R.T., Engibarov S.A., Petrova P., Abrashev R., Strateva T., Kolyovska V., Abrashev J. High production of neuraminidase by a *Vibrio cholerae* non-O1 strain – the first possible alternative to toxigenic producers. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2015; 176(2):412–27. DOI: 10.1007/s12010-015-1584-4.

5. Diesner S.C., Bergmayr C., Wang X.Y., Heiden D., Exenberger S., Roth-Walter F., Starkl P., Ret D., Palischoll J., Gabor F., Untersmayr E. Characterisation of *Vibrio cholerae* neuraminidase as an immunomodulator for novel formulation of oral allergy immunotherapy. *Clin. Immunol.* 2018; 192:30–9. DOI: 10.1016/j.clim.2018.03.017.

6. Mountney A., Zahner M.R., Lorenzini I., Oudega M., Schramm L.P., Schnaar R.L. Sialidase enhances recovery from spinal cord contusion injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010; 107(25):11561–6. DOI: 10.1073/pnas.1006683107.

7. Mountney A., Zahner M.R., Sturgill E.R., Riley C.J., Aston J.W., Oudega M., Schramm L.P., Hurtado A., Schnaar R.L. Sialidase, chondroitinase ABC, and combination therapy after spinal cord contusion injury. *J. Neurotrauma*. 2013; 30(3):181–90. DOI: 10.1089/neu.2012.2353.

8. Taylor G., Vimr E., Garman E., Laver G. Purification, crystallization and preliminary crystallographic study of neuraminidase from *Vibrio cholerae* and *Salmonella typhimurium* LT2. *J. Mol. Biol.* 1992; 226(4):1287–90. PMID: 1518058.

9. Mishan'kin B.N., Shimanyuk N.Ya., Ryabukhina O.Yu., Vlasov V.P. Shamm *E. coli* HB101 pRD39 – продуцент нейраминидазы холерного вибриона. [Certificate of authorship № 1210278], 08.10.1985, published 23.02.1987, Bul. No.7.

10. Vimr E.R., Lawrisuk L., Galen J., Kaper J.B. Cloning and expression of the *Vibrio cholerae* neuraminidase gene *nanH* in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 1988; 170(4):1495–504.

11. Moustafa I., Connaris H., Taylor M., Zaitsev V., Wilson J.C., Kiefel M.J., von Itzstein M., Taylor G. Sialic acid recognition by *Vibrio cholerae* neuraminidase. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(39):40819–26. DOI: 10.1074/jbc.M404965200.

12. Monakhova E.V., Pisanov R.V., Goncharova L.A., Cloning and expression of the *Vibrio cholerae* hemagglutinin/tease gene (*hapA*) in *Escherichia coli*. *Biotechnology in Russia*. 2006; (6):8–15.

13. Ryabukhina O.Yu., Shimanyuk N.Ya., Mishan'kin B.N. Detection of neurominidase in vibrios of Oland non-O1 groups. *Laboratornoe delo [Laboratory Science]* 1990; (8):63–5.

14. Monakhova E.V., Pisanov R.V., Demidova G.V., Nepomnyashchaya N.B. *Escherichia coli* strain – super-producer of *Vibrio cholerae* hemolysin. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (1):90–3. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-90-93.

Authors:

Monakhova E.V., Demidova G.V., Pisanov R.V., Duvanova O.V., Mishan'kin B.N. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aanet.ru.

Об авторах:

Монахова Е.В., Демидова Г.В., Писанов Р.В., Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: plague@aanet.ru.

Поступила 26.02.19.

Принята к публ. 28.02.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-93-98

УДК 616.98:578.833.29(665.2)

Е.В. Найденова¹, К.С. Захаров¹, М.Ю. Карташов², Д.А. Агафонов¹, А.В. Бойко¹, Ж.А. Касьян¹,
А.М. Сеничкина¹, К.А. Никифоров¹, Е.Г. Оглодин¹, А.В. Шиповалов², А.А. Дубинина²,
А.М. Поршаков¹, I. Nouridine³, M.G. Diallo³, A.A. Nassour³, A. Kourouma³, F. Drame³, В.А. Сафронов¹,
А.А. Лопатин⁴, S. Boumbali³, S. Kalivogui³, M.Y. Boiro³, С.А. Щербакова¹, В.В. Кутырев¹

ВЫЯВЛЕНИЕ МАРКЕРОВ ВИРУСА КРЫМСКОЙ-КОНГО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ В ПРОБАХ ИКСОДОВЫХ КЛЕЩЕЙ, СОБРАННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;
²ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация; ³Исследовательский институт прикладной биологии, Киндия,
Гвинейская Республика; ⁴ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

Цель. Данная работа проводилась с целью выявления маркеров (антиген и РНК) вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) в пробах от клещей, собранных во всех ландшафтно-географических зонах Гвинеи (Нижней, Средней, Верхней и Лесной) для получения современных данных о распространении возбудителя на территории страны. **Материалы и методы.** Всего исследовано 4273 экземпляра клещей восьми видов, собранных в 2016–2019 гг. на территории Гвинейской Республики, которые объединили в 1406 проб. Эктопаразитов снимали с сельскохозяйственных животных, собак и мелких млекопитающих. Вирусный антиген выявляли с использованием иммуноферментного анализа. Наличие РНК вируса ККГЛ определяли методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией. **Результаты и обсуждение.** В результате проведенных исследований антиген вируса ККГЛ выявлен в 21 пробе, что составило 1,5 %, а РНК – в 37 (2,6 %). Все образцы, в которых выявили вирусный антиген, содержали и РНК вируса ККГЛ. Положительные пробы зарегистрированы во всех ландшафтно-географических районах страны. Установлено, что основными переносчиками и резервуарами возбудителя КГЛ в Гвинее являются клещи видов *Rh. sanguineus*, *Rh. geigy*, *Rh. annulatus* и *Am. variegatum*. Полученные данные подтверждают возможность циркуляции возбудителя в этом регионе и определяют необходимость дальнейшего изучения распространения вируса ККГЛ на территории Гвинейской Республики.

Ключевые слова: Крымская геморрагическая лихорадка, вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки, иксодовые клещи, Гвинейская Республика, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией.

Корреспондирующий автор: Найденова Екатерина Владимировна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Найденова Е.В., Захаров К.С., Карташов М.Ю., Агафонов Д.А., Бойко А.В., Касьян Ж.А., Сеничкина А.М., Никифоров К.А., Оглодин Е.Г., Шиповалов А.В., Дубинина А.А., Поршаков А.М., Nouridine I., Diallo M.G., Nassour A.A., Kourouma A., Drame F., Сафронов В.А., Лопатин А.А., Boumbali S., Kalivogui S., Boiro M.Y., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Выявление маркеров вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки в пробах иксодовых клещей, собранных на территории Гвинейской Республики. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:93–98. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-93-98

E.V. Naydenova¹, K.S. Zakharov¹, M.Yu. Kartashov², D.A. Agafonov¹, A.V. Boiko¹, Zh.A. Kas'yan¹,
A.M. Senichkina¹, K.A. Nikiforov¹, E.G. Oglochin¹, A.V. Shipovalov², A.A. Dubinina², A.M. Porshakov¹,
I. Nouridine³, M.G. Diallo³, A.A. Nassour³, A. Kourouma³, F. Drame³, V.A. Safronov¹, A.A. Lopatin⁴,
S. Boumbali³, S. Kalivogui³, M.Y. Boiro³, S.A. Shcherbakova¹, V.V. Kuttyrev¹

Detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Markers in Samples of Ixodes Ticks Collected in the Territory of the Republic of Guinea

¹Russian Research Anti-Plague Institute «Microbe» of the Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation; ²State Scientific Center of Virology and Biotechnology «Vector» of the Rospotrebnadzor, Kol'tsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;
³Research Institute of Applied Biology, Kindia, Republic of Guinea; ⁴«Plague Control Center», Moscow, Russian Federation

Abstract. Objective of the study. This work was carried out to identify markers (antigen and RNA) of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus in samples from ticks, collected in all landscape-geographical areas of Guinea: Lower, Middle, Upper and Forest, to obtain up-to-date data on the distribution of the pathogen in the country. **Materials and methods.** Total of 4276 specimens of 8 species of ticks collected in 2016–2019 in the territory of the Republic of Guinea were studied, which were compiled into 1406 samples. Ectoparasites were collected from livestock animals, dogs, and small mammals. Viral antigen was detected using enzyme immunoassay (ELISA). The presence of RNA of the CCHF virus was determined by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results and discussion.** As a result of the studies, the antigen of the CCHF virus was detected in 21 samples (1.5 %), and RNA – in 37 (2.6 %). All samples, in which the viral antigen was detected, contained RNA of the CCHF virus. Positive results were obtained in samples from all geographical areas of the country. The main vectors and reservoirs of the pathogen in Guinea are ticks of the species *Rh. sanguineus*, *Rh. geigy*, *Rh. annulatus* and *Am. variegatum*. The data obtained confirm the previously available information on the possibility of the pathogen circulation in this region and determine the need for further study of the spread of the CCHF virus in the territory of the Republic of Guinea.

Keywords: Crimean-Congo hemorrhagic fever, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, ticks, Republic of Guinea, enzyme-linked immunosorbent assay, polymerase chain reaction with reverse transcription.

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

Corresponding author: Ekaterina V. Naydenova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Naydenova E.V., Zakharov K.S., Kartashov M.Yu., Agafonov D.A., Boiko A.V., Kas'yan Zh.A., Senichkina A.M., Nikiforov K.A., Oglodin E.G., Shipovalov A.V., Dubinina A.A., Porshakov A.M., Nouridine I., Diallo M.G., Nassour A.A., Kourouma A., Drame F., Safronov V.A., Lopatin A.A., Boumbali S., Kalivogui S., Boiro M.Y., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Detection of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus Markers in Samples of Ixodes Ticks Collected in the Territory of the Republic of Guinea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:93–98. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-93-98
Received 07.03.19. Revised 21.03.19. Accepted 29.05.19.

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) – природно-очаговая инфекционная болезнь, которая широко распространена во всем мире. Заболевание является эндемичным для многих регионов Европы, Азии и Африки. Возбудителем данной инфекции является вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), который относится к роду *Orthonairovirus* семейства *Nairoviridae* порядка *Bunyavirales* [1]. Летальность заболевания зависит от механизма передачи инфекции: варьирует от 10 % при трансмиссивном и до 50 % – при контактном [2, 3, 4]. Резервуарами и переносчиками вируса являются более 30 видов иксодовых клещей, относящихся к родам *Hyalomma*, *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*, *Boophilus* и *Amblyomma* [4].

На Африканском континенте вирус ККГЛ распространен достаточно широко. Случаи заболевания КГЛ, выявление маркеров (вирусных антигенов или РНК), наличие иммунной прослойки зарегистрированы на территории Туниса, Сенегала, Ганы, Демократической Республики Конго, Мавритании, Нигерии, Нигера, Центрально-Африканской Республики, Кении, Уганды, Танзании, Эфиопии, Южно-Африканской Республики, Зимбабве, Судана, Мадагаскара, Мали и других стран [5–18].

Изучение распространения вируса ККГЛ на территории Гвинейской Республики началось в 80-е годы прошлого столетия на базе Советско-Гвинейской научно-исследовательской вирусологической и микробиологической лаборатории. До этого времени информация о циркуляции данного возбудителя в Гвинее практически отсутствовала. В результате проведенных исследований изолировано и идентифицировано девять вирусных штаммов. Вирус выделили из иксодовых клещей трех видов: *Rhipicephalus sanguineus* (4 штамма); *Rhipicephalus (Boophilus) geigy* (3) и *Amblyomma variegatum* (2) [19].

В связи с тяжелой экономической ситуацией и нестабильной политической обстановкой в регионе в начале 90-х годов XX в. работа по изучению циркуляции возбудителя КГЛ на данной территории была прервана, спектр переносчиков инфекции и значимость этой лихорадки в общей структуре заболеваемости Гвинее так и не определены.

В настоящее время в рамках российско-гвинейского сотрудничества в области эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций в Гвинейской Республике продолжены исследования по данной тематике.

Целью работы являлось выявление маркеров вируса ККГЛ в материале от клещей для получения современных данных о распространении возбудителя на территории Гвинейской Республики.

Материалы и методы

Работу проводили российские и гвинейские специалисты на базе Российско-Гвинейского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней (г. Киндия, Гвинейская Республика).

Сбор иксодовых клещей осуществляли на территории четырех ландшафтно-климатических зон Гвинейской Республики в 2016–2019 гг. Эктопаразитов снимали с крупного (КРС) и мелкого (МРС) рогатого скота, домашних и безнадзорных собак, а также мелких млекопитающих. Всего собрано 4273 экземпляра клещей восьми видов: *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1794; *Haemaphysalis leachi* Audouin, 1826; *Hyalomma truncatum* Koch, 1844; *Rhipicephalus (Boophilus) decoloratus* Koch, 1844; *Rhipicephalus (Boophilus) geigy* Aeschliman & Morel, 1965; *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* Say, 1821; *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806; *Rhipicephalus senegalensis* Koch, 1844 [20]. Сбор и определение клещей проведены в соответствии с МУ 3.1.3012-12, регламентирующими данный вид работы. С учетом видовой принадлежности, пола, фазы развития и упитанности отдельных особей сформировано 1406 пулов. Этап подготовки проб осуществляли по схеме, приведенной в МУ 1.3.2569-09, и инструкциям фирм-производителей диагностических препаратов. Пробы исследованы согласно МУ 3.1.3.2488-09.

Полученный материал протестирован методами иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Вирусный антиген обнаруживали с помощью набора реагентов «ВекторКрым-КГЛ-антиген» (ЗАО «ВекторБест», Российская Федерация). Для выявления РНК вируса ККГЛ использован набор реагентов «АмплиСенс® ССНФV-FL» (ООО «ИнтерЛабСервис», Российская Федерация).

При статистической обработке материала рассчитывали долю выявленных маркеров вируса ККГЛ в каждой выборке, 95 % доверительные интервалы (ДИ) для долей по методу Уилсона.

Индивидуальную зараженность (вирусофорность) клещей в пулах определяли по методу В.Н. Беклемишева (1963 г.), описанному в МУ 3.1.3.2488-09.

Результаты и обсуждение

Гвинейская Республика расположена на территории Западной Африки; площадь государства составляет 246 тыс. км². Страна условно разделена на четыре зоны: Нижнюю (Приморскую), Среднюю, Верхнюю и Лесную Гвинее, которые отличаются

друг от друга по географическим и климатическим признакам (рисунок).

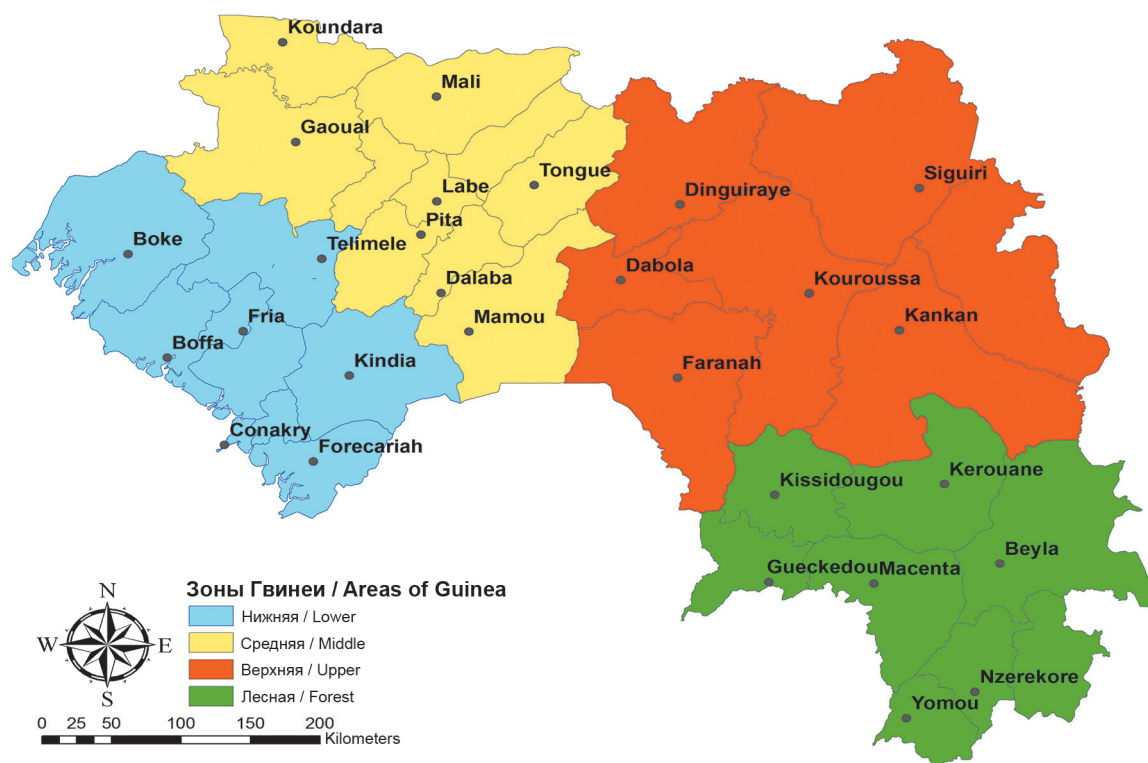
Фауна клещей, обитающих на территории Гвинеи, включает 33 вида, относящихся к семи родам [20, 21]. Сборы клещей, взятых для данного исследования, представлены восемью видами. Наибольшее количество эктопаразитов относились к *Rh. decoloratus*, *Am. variegatum* и *Rh. geigy*, которые являются самыми распространенными видами на территории Гвинейской Республики [21]. *Rh. decoloratus* – один из часто встречающихся однохозяинных клещей КРС в Африке. Он широко распространен в подходящих местах обитания к югу от Сахары. Клещи *Am. variegatum* паразитируют как на домашних животных (КРС, овцы, козы, собаки), так и на диких крупных травоядных. В своем жизненном цикле клещ сменяет трех хозяев. Незрелые стадии питаются на небольших антилопах, зайцах, птицах и черепахах, очень редко встречаются на мелких млекопитающих. Представители *Rh. geigy* являются однохозяинным видом клещей и паразитируют в большинстве случаев на КРС, а также овцах и диких копытных [21]. Клещи данных видов собраны на территории четырех ландшафтно-географических зон страны (табл. 1).

В результате проведенных исследований методом ИФА всего получен 21 (1,5 % от общего количества проб) положительный результат, а с помощью ОТ-ПЦР – 37 (2,6 %). В 16 пробах выявлена только РНК вируса. Все образцы, в которых обнаружили антиген вируса ККГЛ, содержали также вирусную РНК. Всего с применением обоих методов выявлено

37 положительных пулов клещей. Данные о результатах исследования представлены в табл. 1.

Наибольшее количество проб, в которых обнаружены маркеры вируса ККГЛ, зафиксировано в Нижней и Лесной Гвинее – 18 (3,2 %) и 13 (3,5 %) соответственно, но в целом активность циркуляции возбудителя на разных территориях не имеет достоверных различий, свидетельством чего является наличие трансгрессии ДИ. Ранее, при исследовании сывороток крови жителей провинции Киндиа, выявлены антитела класса IgG к вирусу ККГЛ, что также свидетельствует о циркуляции возбудителя на данной территории [19, 22].

Помимо данных о возможном ареале вируса ККГЛ на территории Гвинеи получены сведения о видовом составе клещей, участвующих в циркуляции возбудителя. Вирусные маркеры (РНК и антиген) обнаружены в пробах, представленных видами *Am. variegatum* (2,9 % выявлено методом ПЦР, и 1,9 % – ИФА), *Rh. annulatus* (4,4 и 2,2 % соответственно), *Rh. geigy* (4,2 и 0,9 %) и *Rh. decoloratus* (1,1 и 1,1 %). В клещах *Rh. sanguineus* зарегистрирована только вирусная РНК (10,0 %). По данным А.М. Бутенко, во время работы Советско-Гвинейской научно-исследовательской вирусологической и микробиологической лаборатории штаммы вируса ККГЛ выделены из клещей, относящихся к этим же видам [18]. В остальных случаях результаты исследований были отрицательные. Данный факт позволяет предположить, что наиболее активную роль в качестве резервуара и переносчика возбудителя КГЛ на этой территории играют представители



Ландшафтно-географические зоны Гвинейской Республики
Landscape-geographical areas of the Republic of Guinea

Таблица 1 / Table 1

Результаты исследования материала от клещей с целью выявления маркеров вируса ККГЛ

Results of ticks sample assays, aimed at detection of CCHF virus

Вид клещей / Species of ticks	Количество проб (экземпляров) / The number of samples (specimens)	Результаты исследований, число положительных; % положительных; (ДИ) / Results of tests, the number of positive samples, %; confidence interval (CI)	
		ПЦР / PCR	ИФА / ELISA
Нижняя Гвинея / Lower Guinea			
<i>Am. variegatum</i>	347 (1126)	11; 3,2; (1,8–5,6)	8; 2,3; (1,2–4,5)
<i>Ha. leachi</i>	12 (43)	0	0
<i>Hy. truncatum</i>	15 (34)	0	0
<i>Rh. annulatus</i>	8 (34)	0	0
<i>Rh. decoloratus</i>	102 (380)	0	0
<i>Rh. geigy</i>	59 (158)	6; 10,2; (4,8–20,5)	1; 1,7;(0,2–8,99)
<i>Rh. sanguineus</i>	9 (33)	1; 11,1; (1,9–43,5)	0
<i>Rh. senegalensis</i>	2 (2)	0	0
<i>Итого / Total:</i>	554 (1810)	18; 3,2;(2,1–5,1)	9; 1,6; (0,9–3,1)
Средняя Гвинея / Middle Guinea			
<i>Am. variegatum</i>	107 (499)	2; 1,9; (0,5–6,6)	1; 0,9; (0,2–5,1)
<i>Rh. geigy</i>	66 (167)	1; 1,5; (0,3–8,1)	0
<i>Rh. decoloratus</i>	54 (104)	1; 1,9; (0,3–9,8)	1; 1,9; (0,3–9,8)
<i>Rh. sanguineus</i>	1 (9)	0	0
<i>Rh. senegalensis</i>	1(1)	0	0
<i>Итого / Total:</i>	229 (780)	4; 1,8; (0,9–4,4)	2; 0,9; (0,2–3,1)
Верхняя Гвинея / Upper Guinea			
<i>Am. variegatum</i>	83 (148)	0	0
<i>Hy. truncatum</i>	18 (33)	0	0
<i>Rh. annulatus</i>	20 (49)	0	0
<i>Rh. decoloratus</i>	89 (192)	0	0
<i>Rh. geigy</i>	41 (152)	2; 4,9; (1,4–16,1)	1; 2,4; (0,4–12,6)
<i>Rh. senegalensis</i>	3 (4)	0	0
<i>Итого / Total:</i>	254 (578)	2; 0,8; (0,2–2,8)	1; 0,4; (0,1–2,2)
Лесная Гвинея / Forest Guinea			
<i>Am. variegatum</i>	183 (503)	8; 4,4; (2,2–8,4)	5; 2,7; (1,1–6,2)
<i>Ha. leachi</i>	1 (9)	0	0
<i>Hy. truncatum</i>	3 (9)	0	0
<i>Rh. annulatus</i>	18 (51)	2; 11,1; (3,1–32,8)	1; 5,6; (0,9–25,8)
<i>Rh. decoloratus</i>	113 (308)	3; 2,7; (0,9–7,5)	3; 2,7; (0,9–7,5)
<i>Rh. geigy</i>	49 (222)	0	0
<i>Rh. senegalensis</i>	2 (3)	0	0
<i>Итого / Total:</i>	369 (1105)	13; 3,5; (2,1–5,9)	9; 2,4; (1,3–4,6)
<i>Итого по всей стране / Total across the country:</i>	1406 (4273)	37; 2,6; (1,9–3,6)	21; 1,5;(1–2,3)

Примечание: процент указан от общего количества проб.

Note: the percentage is counted out of the total number of samples.

выше указанных систематических групп. Результаты работы отражены в табл. 2.

В табл. 3 представлены результаты изучения вирусофорности клещей, полученные в соответствии с пп. 6.7.7 МУ 3.1.3.2488-09. Так как данные ИФА во всех случаях совпали с результатами, полученными с использованием метода ОТ-ПЦР, индивидуальную зараженность каждого отдельного вида эктопаразитов рассчитывали только по наличию вирусной РНК в пробе. Из таблицы видно, что вирусофорность клещей *Rh. sanguineus* оказалась выше, чем у представителей других видов.

Таким образом, в результате работы получены актуальные сведения о распространении вируса ККГЛ в Гвинейской Республике. На основании проведенных исследований можно предположить, что циркуляция вируса происходит на всей территории страны, основными переносчиками и резервуарами возбудителя во всех ландшафтно-географических зонах являются клещи видов *Rh. sanguineus*, *Rh. geigy*, *Rh. annulatus* и *Am. variegatum*, что подтверждают ранее полученные данные.

Изучение вопроса о распространении вируса ККГЛ на территории Гвинейской Республики и ко-

Таблица 2 / Table 2

Видовой состав клещей, обследованных на наличие антигена и РНК вируса ККГЛ
Species composition of ticks studied for the presence of antigen and RNA of CCHF virus

Виды клещей / Species of ticks	Количество проб (экземпляров) / The number of samples (specimens)	Количество положительных проб; % (95 % ДИ), выявленных методами ПЦР и ИФА / The number of positive samples, % (95 % confidence interval (CI)), identified using PCR and ELISA	
		ПЦР / PCR	ИФА / ELISA
<i>Am. variegatum</i>	720 (2276)	21; 2,9 % (1,9–4,4)	14; 1,9 % (1,2–3,2)
<i>Ha. leachi</i>	13 (52)	0	0
<i>Hy. truncatum</i>	36 (76)	0	0
<i>Rh. annulatus</i>	46 (134)	2; 4,4 % (1,2–14,5)	1; 2,2 % (0,4–11,3)
<i>Rh. decoloratus</i>	358 (984)	4; 1,1 % (0,4–2,8)	4; 1,1 % (0,4–2,8)
<i>Rh. geigy</i>	215 (699)	9; 4,2 % (2,2–7,8)	2; 0,9 % (0,3–3,3)
<i>Rh. sanguineus</i>	10 (42)	1; 10,0 % (1,8–40,4)	0
<i>Rh. senegalensis</i>	8 (10)	0	0
Итого* / Total*	1406 (4273)	37; 2,6 % (1,9–3,6)	21; 1,5 % (1–2,3)

*процент указан от общего количества образцов.

*the percentage is counted out of the total number of samples.

личестве вызываемых им случаев заболеваний среди людей остается актуальной задачей при учете таких факторов, как эпидемиологическая значимость КГЛ, одним из возможных механизмов передачи которой является контактный, высокая вероятность возникновения внутрибольничных вспышек, отсутствие настороженности медицинских работников в отношении данной инфекции. Предпосылками активной циркуляции возбудителя КГЛ и возникновения вспышек заболевания на территории Гвинеи являются природно-климатические условия страны, широкое распространение различных видов иксодовых клещей, большое количество сельскохозяйственных животных, находящихся в частном владении населения. Данные, полученные в результате работы, указывают на необходимость дальнейших исследований в этом направлении.

Исследование выполнялось в рамках Распоряжений Правительства РФ от 25.07.2015 г. № 1448-р (2015–2017 гг.) и 22 декабря 2017 г. № 2904-р (2018–2020 гг.) о российско-гвинейском научно-техническом сотрудничестве в области эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций в Гвинейской Республике.

Таблица 3 / Table 3

Вирусиформность различных видов клещей, собранных на территории Гвинейской Республики

Infection rate of various species of ticks collected in the territory of the Republic of Guinea

Вид клещей / Species of ticks	Количество проб (экземпляров) / The number of samples (specimens)	Вирусиформность клещей, % / Infection rate, %
<i>Am. variegatum</i>	720 (2276)	0,99
<i>Rh. annulatus</i>	46 (134)	1,48
<i>Rh. decoloratus</i>	358 (984)	0,47
<i>Rh. geigy</i>	215 (699)	1,43
<i>Rh. sanguineus</i>	10 (42)	3,51
Общее количество исследованных проб / Total number of samples	1406 (4273)	0,89

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

Список литературы

1. International Committee on Taxonomy of Viruses ICTV. [Электронный ресурс]. URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy> (дата обращения 20.04.2019).
2. Бутенко А.М., Трусова И.Н. Заболеваемость Крымской геморрагической лихорадкой в странах Европы, Африки и Азии (1943–2012 гг.). *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2013; 5:46–8.
3. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
4. Papa A., Mirazimi A., Köksal I., Estrada-Pena A., Feldmann H. Recent advances in research on Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J. Clin. Virol.* 2015; 64:137–43. DOI: 10.1016/j.jcv.2014.08.029.
5. Akuffo R., Brandful J.A.M., Zayed A., Adjei A., Watany N., Fahmy N.T., Hughes R., Doman B., Voegborlo S.V., Aziati D., Pratt D., Awuni J.A., Adams N., Dueger E. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in livestock ticks and animal handler seroprevalence at an abattoir in Ghana. *BMC Infect. Dis.* 2016; 16:324. DOI: 10.1186/s12879-016-1660-6.
6. Burt F.J., Swanepoel R. Molecular epidemiology of African and Asian Crimean-Congo haemorrhagic fever isolates. *Epidemiol. Infect.* 2005; 133(4):659–66. DOI: 10.1017/S0950268805003730.
7. Chitanga S., Gaff H., Mukaratirwa S. Tick-borne pathogens of potential zoonotic importance in the southern African Region. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 2014; 85(1):1084. DOI: 10.4102/jsava.v85i1.1084.
8. Grard G., Drexler J.F., Fair J., Muyembe J.J., Wolfe N.D., Drosten C., Leroy E.M. Re-Emergence of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Central Africa. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5(10):e1350. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001350.
9. Lwande O.W., Irura Z., Tigoi C., Chepkorir E., Orindi B., Musila L., Venter M., Fischer A., Sang R. Seroprevalence of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Virus in Ijara District, Kenya. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12(9):727–32. DOI: 10.1089/vbz.2011.0914.
10. Nabeth P., Cheikh D.O., Lo B., Faye O., Vall I.O., Niang M., Wague B., Diop D., Diallo M., Diallo B., Diop O.M., Simon F. Crimean-Congo hemorrhagic fever, Mauritania. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(12):2143–9. DOI: 10.3201/eid1012.040535.
11. O'Hearn A.E., Voorhees M.A., Fetterer D.P., Wauquier N., Coomber M.R., Bangura J., Fair J.N., Gonzalez J.-P., Schoep R.J. Sero-surveillance of viral pathogens circulating in West Africa. *Virol J.* 2016; 13(1):163. DOI: 10.1186/s12985-016-0621-4.
12. Safronetz D., Sacko M., Sogoba N., Rosenke K., Martellaro C., Traoré S., Cissé I., Maïga O., Boisen M., Nelson D., Oottamasathien D., Millett M., Garry R. F., Branco L. M., Doumbia S., Feldmann H., Traoré M. S. Vector borne infections, Mali. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(2):340–2. DOI: 10.3201/eid2202.150688.
13. Spengler J.R., Bergeron E., Rollin P.E. Seroepidemiological Studies of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Domestic and Wild Animals. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(1):e0004210. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004210.
14. Tall A., Sall A.A., Faye O., Diatta B., Sylla R., Faye J. Two

cases of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) in two tourists in Senegal in 2004. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 2009; 102(3):159–61. PMID: 19739410.

15. Tigoi C., Lwande O., Orindi B., Irura Z., Ongus J., Sang R. Seroepidemiology of Selected Arboviruses in Febrile Patients Visiting Selected Health Facilities in the Lake/River Basin Areas of Lake Baringo, Lake Naivasha, and Tana River, Kenya. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015; 15(2):124–32. DOI: 10.1089/vbz.2014.1686.

16. Wasfia F., Dowall S., Ghabbari T., Bosworth A., Chakroun M., Varghese A., Tiouiri H., Ben Jemaa M., Znazen A., Hewson R., Elyes Z., Letaief A. Sero-epidemiological survey of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Tunisia. *Parasite.* 2016; 23:10. DOI: 10.1051/parasite/2016010.

17. Wilson M.L., LeGuennou B., Guillaud M., Desoutter D., Gonzalez J.P., Camicas J.L. Distribution of Crimean-Congo hemorrhagic fever viral antibody in Senegal: environmental and vectorial correlates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1990; 43(5):557–66. DOI: 10.4269/ajtmh.1990.43.557.

18. Zivcec M., Maïga O., Kelly A., Feldmann F., Sogoba N., Schwan T.G., Feldmann H., Safronetz D. Unique Strain of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus, Mali. *Emerg Infect Dis.* 2014; 20(5):911–3. DOI: 10.3201/eid2005.131641.

19. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* 1996; 2:40–5.

20. Walker A.R., Bouattour A., Camicas J.-L., Estrada-Peña A., Horak I.G., Latif A.A., Pegram R.G., Preston P.M. Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species. Edinburgh: Bioscience Reports; 2014. 227 p.

21. Konstantinov O.K. Les tiques de la famille Ixodidae comme réservoir d'arbovirus en République de Guinée. II. Les arbovirus. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* 1990; 43(1):15–22. DOI: 10.19182/remvt.8883.

22. Найденова Е.В., Пьянков С.А., Крицкий А.А., Касьян Ж.А., Раздорский А.С., Лопатин А.А., Сафронов В.А., Чаусов Е.В., Sylia A.L., Boumbaly S., Ibrachim N., Diallo M.G., Sow I.S., Barry M., Щербаклова С.А., Boiro M.I., Кутырев В.В. Выявление специфических антител к арбовирусам в сыворотках крови людей, проживающих в провинции Киндия, Гвинейская Республика. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2016; 3:62–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-62-65.

References

1. International Committee on Taxonomy of Viruses [ICTV. Internet]. (Cited 20 Apr 2019). Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>.

2. Butenko A. M., Trusova I. N. Morbidity of the Crimean Hemorrhagic fever in the countries of Europe, Africa, and Asia (1943–2012). *Epidemiology and Infectious Diseases. Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni.* 2013; 5: 46–8.

3. Onishchenko G.G., Kuttyrev V.V., editors. Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases. M.: "Shiko" CJSC, 2013. 560 p.

4. Papa A., Mirazimi A., Köksal I., Estrada-Pena A., Feldmann H. Recent advances in research on Crimean-Congo hemorrhagic fever. *J. Clin. Virol.* 2015; 64:137–43. DOI: 10.1016/j.jcv.2014.08.029.

5. Akuffo R., Brandful J.A.M., Zayed A., Adjei A., Watany N., Fahmy N.T., Hughes R., Doman B., Voegborlo S.V., Aziati D., Pratt D., Awuni J.A., Adams N., Dueger E. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in livestock ticks and animal handler seroprevalence at an abattoir in Ghana. *BMC Infect. Dis.* 2016; 16:324. DOI: 10.1186/s12879-016-1660-6.

6. Burt F.J., Swanepoel R. Molecular epidemiology of African and Asian Crimean-Congo haemorrhagic fever isolates. *Epidemiol. Infect.* 2005; 133(4):659–66. DOI: 10.1017/S0950268805003730.

7. Chitanga S., Gaff H., Mukaratirwa S. Tick-borne pathogens of potential zoonotic importance in the southern African Region. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 2014; 85(1):1084. DOI: 10.4102/jsava.v85i1.1084.

8. Grard G., Drexler J.F., Fair J., Muyembe J.J., Wolfe N.D., Drosten C., Leroy E.M. Re-Emergence of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Central Africa. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011; 5(10):e1350. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001350.

9. Lwande O.W., Irura Z., Tigoi C., Chepkorir E., Orindi B., Musila L., Venter M., Fischer A., Sang R. Seroprevalence of Crimean Congo Hemorrhagic Fever Virus in Ijara District, Kenya. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12(9):727–32. DOI: 10.1089/vbz.2011.0914.

10. Nabeth P., Cheikh D.O., Lo B., Faye O., Vall I.O., Niang M., Wague B., Diop D., Diallo M., Diallo B., Diop O.M., Simon F. Crimean-Congo hemorrhagic fever, Mauritania. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(12):2143–9. DOI: 10.3201/eid1012.040535.

11. O'Hearn A.E., Voorhees M.A., Fetterer D.P., Wauquier N., Coomber M.R., Bangura J., Fair J.N., Gonzalez J.-P., Schoep R.J. Serosurveillance of viral pathogens circulating in West Africa. *Virol J.* 2016; 13(1):163. DOI: 10.1186/s12985-016-0621-4.

12. Safronetz D., Sacko M., Sogoba N., Rosenke K., Martellaro C., Traoré S., Cissé I., Maïga O., Boisen M., Nelson D.,

Oottamasathien D., Millett M., Garry R. F., Branco L. M., Doumbia S., Feldmann H., Traoré M. S. Vector borne infections, Mali. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(2):340–2. DOI: 10.3201/eid2202.150688.

13. Spengler J.R., Bergeron E., Rollin P.E. Seroepidemiological Studies of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Domestic and Wild Animals. *PLoS Negl Trop. Dis.* 2016; 10(1):e0004210. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004210.

14. Tall A., Sall A.A., Faye O., Diatta B., Sylia R., Faye J. Two cases of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) in two tourists in Senegal in 2004. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 2009; 102(3):159–61. PMID: 19739410.

15. Tigoi C., Lwande O., Orindi B., Irura Z., Ongus J., Sang R. Seroepidemiology of Selected Arboviruses in Febrile Patients Visiting Selected Health Facilities in the Lake/River Basin Areas of Lake Baringo, Lake Naivasha, and Tana River, Kenya. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015; 15(2):124–32. DOI: 10.1089/vbz.2014.1686.

16. Wasfia F., Dowall S., Ghabbari T., Bosworth A., Chakroun M., Varghese A., Tiouiri H., Ben Jemaa M., Znazen A., Hewson R., Elyes Z., Letaief A. Sero-epidemiological survey of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Tunisia. *Parasite.* 2016; 23:10. DOI: 10.1051/parasite/2016010.

17. Wilson M.L., LeGuennou B., Guillaud M., Desoutter D., Gonzalez J.P., Camicas J.L. Distribution of Crimean-Congo hemorrhagic fever viral antibody in Senegal: environmental and vectorial correlates. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1990; 43(5):557–66. DOI: 10.4269/ajtmh.1990.43.557.

18. Zivcec M., Maïga O., Kelly A., Feldmann F., Sogoba N., Schwan T.G., Feldmann H., Safronetz D. Unique Strain of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus, Mali. *Emerg Infect Dis.* 2014; 20(5):911–3. DOI: 10.3201/eid2005.131641.

19. Butenko A.M. Studies of Arboviruses circulation in the Republic of Guinea. *Meditinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 1996; 2:40–5.

20. Walker A.R., Bouattour A., Camicas J.-L., Estrada-Peña A., Horak I.G., Latif A.A., Pegram R.G., Preston P.M. Ticks of Domestic Animals in Africa: a Guide to Identification of Species. Edinburgh: Bioscience Reports; 2014. 227 p.

21. Konstantinov O.K. Les tiques de la famille Ixodidae comme réservoir d'arbovirus en République de Guinée. II. Les arbovirus. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.* 1990; 43(1):15–22. DOI: 10.19182/remvt.8883.

22. Naydenova E.V., P'yankov S.A., Kritsky A.A., Kas'yan Zh.A., Razdorsky A.S., Lopatin A.A., Safronov V.A., Chausov E.V., Sylia A.L., Boumbaly S., Ibrachim N., Diallo M.G., Sow I.S., Barry M., Shcherbakova S.A., Boiro M.I., Kuttyrev V.V. Detection of specific antibodies to arboviruses in blood sera of persons residing in Kindia Province, the Republic of Guinea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 3:62–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-62-65.

Authors:

Naydenova E.V., Zakharov K.S., Agafonov D.A., Boiko A.V., Kas'yan Zh.A., Senichkina A.M., Nikiforov K.A., Oglozin E.G., Porshakov A.M., Safronov V.A., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Kartashov M.Yu., Shipovalov A.V., Dubinina A.A. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Nouridine I., Diallo M.G., Nassour A.A., Kourouma A., Drame F., Boumbali S., Kalivogui S., Boiro M.Y. Research Institute of Applied Biology. Kindia, Republic of Guinea.

Lopatin A.A. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nlh.ru.

Об авторах:

Найденова Е.В., Захаров К.С., Агафонов Д.А., Бойко А.В., Касьян Ж.А., Сеничкина А.М., Никифоров К.А., Оглозин Е.Г., Поршаков А.М., Сафронов В.А., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Карташов М.Ю., Шиповалов А.В., Дубинина А.А. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru

Nouridine I., Diallo M.G., Nassour A.A., Kourouma A., Drame F., Boumbali S., Kalivogui S., Boiro M.Y. Исследовательский институт прикладной биологии. Киндия, Гвинейская Республика.

Лопатин А.А. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nlh.ru.

Поступила 07.03.19.

Отправлена на доработку 21.03.19.

Принята к публ. 29.05.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-99-104

УДК 616.98:578.833.2(470)

А.Я. Никитин¹, Е.И. Андаев¹, А.К. Носков¹, Н.Д. Пакскина², Е.В. Яценко², Е.В. Веригина³,
С.В. Балахонов¹**ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ КЛЕЩЕВЫМ ВИРУСНЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ
В СУБЪЕКТАХ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ.
СООБЩЕНИЕ 2. ОЦЕНКА СООТВЕТСТВИЯ ДАННЫХ ПРОГНОЗА И СЕЗОННОГО
МОНИТОРИНГА ФАКТИЧЕСКОЙ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ**¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ³ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация

Эпидемиологический прогноз является основой планирования профилактических мероприятий и способствует повышению их эффективности и экономии финансовых ресурсов. Несмотря на несомненную важность решения этих задач, до сих пор нет процедуры составления прогноза заболеваемости населения клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ), утвержденной в Роспотребнадзоре. Цель сообщения – описать алгоритм краткосрочного прогноза заболеваемости КВЭ, оценить соответствие этих данных фактической заболеваемости и результатам ежегодно проводимого в субъектах страны оперативного сезонного мониторинга. **Материалы и методы.** Использованы материалы государственного статистического учета «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» (форма № 2), а также данные оперативного мониторинга за 2007–2018 гг. Для выявления многолетней тенденции развития эпидемического процесса применен регрессионный анализ. При наличии тренда прогноз проводился на его основе. При отсутствии – путем расчета среднесезонного показателя. Во всех случаях учитывался 95 % доверительный интервал изменения заболеваемости. Сравнение фактической заболеваемости с ожидаемой и данными оперативного мониторинга проведено по критерию Стьюдента. Расчеты выполнены в программе Excel. **Результаты и обсуждение.** Ожидаемые значения инцидентности КВЭ в субъектах Российской Федерации достоверно не отличаются от фактической заболеваемости, а также данных оперативного мониторинга. Недооценка эпидемиологического риска выявлена лишь в четырех субъектах из 49 (8,2 %), причем в трех из них различия составляют менее 16 %. Данные оперативного мониторинга субъектов РФ имеют значения, смещенные в сторону их занижения по отношению к фактической заболеваемости, что, вероятно, связано с учетом в «форме № 2» случаев КВЭ, подтвержденных и/или проявившихся по окончании инкубационного периода после завершения установленных сроков еженедельных наблюдений. Таким образом, предлагаемый унифицированный подход к прогнозу заболеваемости населения КВЭ в субъектах России дает корректную информацию для оценки ожидаемых эпидемиологических рисков и своевременного планирования необходимых мер профилактики инфекции.

Ключевые слова: клещевой вирусный энцефалит, прогноз, оперативный мониторинг, временные ряды.

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

Для цитирования: Никитин А.Я., Андаев Е.И., Носков А.К., Пакскина Н.Д., Яценко Е.В., Веригина Е.В., Балахонов С.В. Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом в субъектах Российской Федерации. Сообщение 2. Оценка соответствия данных прогноза и сезонного мониторинга фактической заболеваемости. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:99–104. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-99-104

A.Ya. Nikitin¹, E.I. Andaev¹, A.K. Noskov¹, N.D. Paksina², E.V. Yatsmenko², E.V. Verigina³,
S.V. Balakhonov¹**Tick-Borne Viral Encephalitis Incidence in the Constituent Entities of the Russian Federation. Communication 2. Verification of Conformity of the Forecast Data and Seasonal Monitoring of Actual Morbidity Rates**¹Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation; ²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ³Federal Centre of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. Despite the decreasing TBE incidence trend in Russia, the disease is considered an ongoing challenge for the state's public health and economics. **Objective** of our study was to describe the algorithm of short-term incidence forecast of TBE, to evaluate the conformity of these data to factual incidence and the results of annual strategic seasonal monitoring which takes place across all the entities of Russia. In the paper, we described the procedure for providing short-term extrapolation of TBE incidence forecast onto the Russian territories, depending on the absence or presence of incidence change trends. **Materials and methods.** Utilized were the State statistics, "The data on infectious and parasitic diseases" (Form No 2), as well as the information on strategic monitoring for a period of 2007–2018. In order to determine the multi-year trend of epidemic process development, regression analysis was applied. If the trend was identified, predictions were made on its basis, if not – through calculating the long-term annual average. In all the cases, 95 % confidence interval for incidence trend deviation was considered. Comparative analysis of actual morbidity rates and predicted ones and the data on strategic monitoring was conducted by Student's criterion. The commutations were performed using Excel software tools. **Results and discussion.** The study has demonstrated that the expected rates of

TBE incidence are not statistically different from the actual incidence or the data from strategic monitoring. The underestimation of the epidemiological risk is found only in 4 out of 49 entities (8,2 %), and it is of note that in 3 of them it was less than 16 %. The data from operational monitoring are downward biased by reference to actual incidence, which is probably due to inclusion of TBE cases confirmed and/or manifested upon termination of incubation period after expiration of terms of weekly observations. The unified and simple approach that we proposed to TBE-incidence forecasting within the territory of Russia provides for correct information on expected epidemiological risk assessment and timely planning of required preventative measures.

Key words: tick-borne viral encephalitis, forecast, strategic monitoring, time series.

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

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

Citation: Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Noskov A.K., Paksina N.D., Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Balakhonov S.V. Tick-Borne Viral Encephalitis Incidence in the Constituent Entities of the Russian Federation. Communication 2. Verification of Conformity of the Forecast Data and Seasonal Monitoring of Actual Morbidity Rates. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:99–104. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-99-104

Received 28.01.19. *Revised* 06.02.19. *Accepted* 14.02.19.

Два первых десятилетия XXI в. характеризуются в Российской Федерации устойчивым трендом к снижению заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ), особенно на территориях субъектов с высоким уровнем инцидентности [1, 2]. Тем не менее, КВЭ остается актуальной проблемой для здравоохранения и экономики страны из-за наличия летальных исходов, инвалидизации населения, поражения болезнью работоспособных жителей городов и обширного нозоареала [3, 4]. Важнейшую роль для краевой патологии КВЭ сохраняет в Сибирском, Уральском и Северо-Западном федеральных округах (СФО, УФО и СЗФО соответственно) России.

Прогноз эпидемиологической обстановки призван способствовать планированию мер профилактики и финансовых трат, направленных на предотвращение развития неблагоприятного сценария с заболеваемостью населения КВЭ. Несмотря на несомненную важность решения этих задач, до сих пор нет научно обоснованного и утвержденного в Роспотребнадзоре подхода к процедуре прогноза заболеваемости населения КВЭ.

В данном сообщении нами предложен способ проведения краткосрочного количественного прогноза КВЭ в субъектах страны, который может найти практическое применение. Прогноз является экстраполяционным, основывается на принципах анализа временных рядов [5, 6, 7]. Значительный вклад в его развитие при изучении динамики КВЭ внесен рядом исследователей, из которых в рамках статьи упомянем наиболее важные работы [8–12]. Отметим, что создать унифицированный подход с применением факторного прогноза КВЭ не возможно, так как в различных ландшафтных зонах, в отдельных субъектах страны комплекс экологических и социально-экономических предикторов эпидемического процесса будет различен.

Цель сообщения – описать алгоритм краткосрочного прогноза заболеваемости населения клещевым вирусным энцефалитом, оценить соответствие этих данных фактической заболеваемости и результатам ежегодно проводимого в субъектах страны оперативного сезонного мониторинга.

Материалы и методы

В работе использованы данные государственного статистического учета – форма № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» («форма 2») о заболеваемости КВЭ, а также материалов оперативного мониторинга (оперативный мониторинг), осуществляемого учреждениями Роспотребнадзора в субъектах РФ.

Прогноз, как и ранее [1, 2], проведен на основе анализа десятилетних временных отрезков, а его алгоритм включает два этапа.

На первом этапе с помощью регрессионного анализа проверяется – содержит ли анализируемая последовательность линейный тренд. Выявление тенденции динамики КВЭ означает, что существует долговременное действие причин и/или условий, необходимых для реализации подобного уровня заболеваемости. Колебания же, напротив, связаны с действием краткосрочных циклических или случайных факторов, влияющих на отдельные сезонные значения КВЭ, отклоняющих наблюдения от тренда то в одном, то в другом направлении.

Второй этап представлен собственно прогнозом. Если тренда нет, то весь ряд содержит только колебания, происходящие на стационарном уровне, в качестве ожидаемого на будущий сезон показателя заболеваемости принимаем ее среднесезонный уровень с расчетом 95 % доверительного интервала (ДИ) возможных изменений инцидентности КВЭ. При обнаружении значимого тренда прогноз КВЭ осуществляется по линейному уравнению, а вычисление 95 % ДИ проводится с учетом показателя колеблемости временного ряда [6].

Одной из задач статьи является анализ величины отклонений (ошибки), полученных при прогнозе данных, от фактической заболеваемости КВЭ – то есть предполагается, что ожидаемые и наблюдаемые значения КВЭ не должны статистически значительно различаться. Обычно для верификации прогноза проводится сравнение ожидаемых и фактических значений во времени [13]. Однако в данной работе проведено сопоставление результатов краткосрочной экстраполяции временных рядов наблюдений за

Сопоставление данных по заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в субъектах России, полученных в ходе «оперативного мониторинга», при прогнозе и по «форме 2»

Collation of the data on tick-borne viral encephalitis incidence in the entities of Russia, obtained from “strategic monitoring”, when making prognosis, and the factual data

Типы сопоставляемых данных и годы / Types of the data collated and the years	Сравнение результатов методом Стьюдента с одинаковыми дисперсиями / Comparing of the results using Student's method with identical dispersions			Сравнение результатов методом Стьюдента для парных выборок / Comparing of the results using Student's method for pared samples		
	число степеней свободы / number of degrees of freedom	значение t-критерия / t-criterion value	величина достоверности (P) / (P) confidence level	число степеней свободы / number of degrees of freedom	значение t-критерия / t-criterion value	величина достоверности (P) / (P) confidence level
«Форма 2» 2017 г. и прогноз на 2017 г. / Factual data, 2017 and forecast information for 2017	94	0,09	>0,05	47	0,20	>0,05
«Оперативный мониторинг» 2018 г. и прогноз на 2018 г. / “Strategic monitoring”, 2018 and forecast for 2018	96	0,18	>0,05	48	0,37	>0,05
«Оперативный мониторинг» 2016 г. и «форма 2» 2016 г. / “Strategic monitoring”, 2016 and Factual data, 2016	88	0,33	>0,05	44	3,58	<0,001
«Оперативный мониторинг» 2017 г. и «форма 2» 2017 г. / “Strategic monitoring”, 2017 and Factual data, 2017	100	0,49	>0,05	50	3,51	<0,001

эпидемиологической обстановкой по КВЭ в субъектах страны с данными фактической заболеваемости в них. Всего проведено сопоставление четырех вариантов данных: инцидентности КВЭ в субъектах страны по «форме 2» в 2017 г. с ожидаемым уровнем заболеваемости в этот сезон, полученным при анализе материалов 2007–2016 гг.; результатов прогноза на 2018 г., рассчитанных по данным 2008–2017 гг., с материалами оперативного мониторинга КВЭ, проведенного в 2018 г.; результатов оперативного мониторинга КВЭ в 2016 и 2017 гг. с материалами, представленными в «форме 2». Сравнение выборок ввиду достаточно большого числа анализируемых субъектов страны (от 44 до 50) проводили с применением критерия Стьюдента в двух модификациях: для двух выборок с одинаковыми дисперсиями и парного двухвыборочного t-теста для средних.

Все вычисления (линий регрессии, среднегодовых показателей заболеваемости, ДИ, величин критерия Стьюдента) выполнены стандартными методами вариационной статистики [6, 14] с использованием пакета прикладной программы Excel. Значимыми считали различия при уровне вероятности (P) ниже 0,05.

Результаты и обсуждение

Результаты анализа соответствия прогнозируемых показателей заболеваемости с данными «оперативного мониторинга» КВЭ в субъектах РФ и «формы 2» приведены в таблице, из которой следует, что значимых различий ($P > 0,05$) между результатами прогноза КВЭ и фактическими значениями этого показателя как по «форме 2», так и по данным оперативного мониторинга не установлено. Соответственно, это доказывает низкие значения ошибок, полученных в ходе прогноза заболеваемости.

Если ошибку прогноза рассчитать путем отнесения среднего значения разности фактических и ожидаемых значений КВЭ в субъектах в 2017 г. к среднему уровню КВЭ, полученному в этот сезон по «форме 2», то ее величина составит 1,9 %. Особое внимание при принятии управленческих решений по профилактике КВЭ следует обращать на субъекты РФ со значительным превышением верхней границы ДИ, что указывает на неустойчивую эпидемиологическую ситуацию, сложившуюся на их территории. Таких случаев «недооценки» эпидемиологических рисков у нас 4 из 49, то есть 8,2 %. Наибольшее превышение верхнего порога ДИ наблюдается в Москве (на 66,5 %), где в последние 10 лет происходит определенный рост заболеваемости КВЭ (исключение – 2014 г.), но на статистически недостоверном уровне и при низкой инцидентности: 0,08 случаев на 100 тыс. населения. В остальных трех субъектах, а также в Республике Тыва (прогноз совпал с верхней границей ДИ), величина выхода за границы ДИ не превышает 15,5 %, что требует анализа причин, но не предполагает необходимости разработки дополнительных программ по профилактике КВЭ.

Применение метода парных сравнений Стьюдента не вносит корректив в полученный вывод об отсутствии различий ($P > 0,05$) между результатами прогноза заболеваемости КВЭ и фактическими значениями этого показателя (таблица).

Несколько иная ситуация наблюдается при сопоставлении результатов оперативного мониторинга и «формы 2» (таблица). Хотя существенных различий между двумя типами сезонной информации о КВЭ с помощью критерия Стьюдента не выявляется, метод парных сравнений указывает на их существенное расхождение ($P < 0,001$). Причину этих различий раскрывает рис. 1 (А и В), характеризующий значения разностей между двумя показателями по отдельным субъектам страны. На большинстве администра-

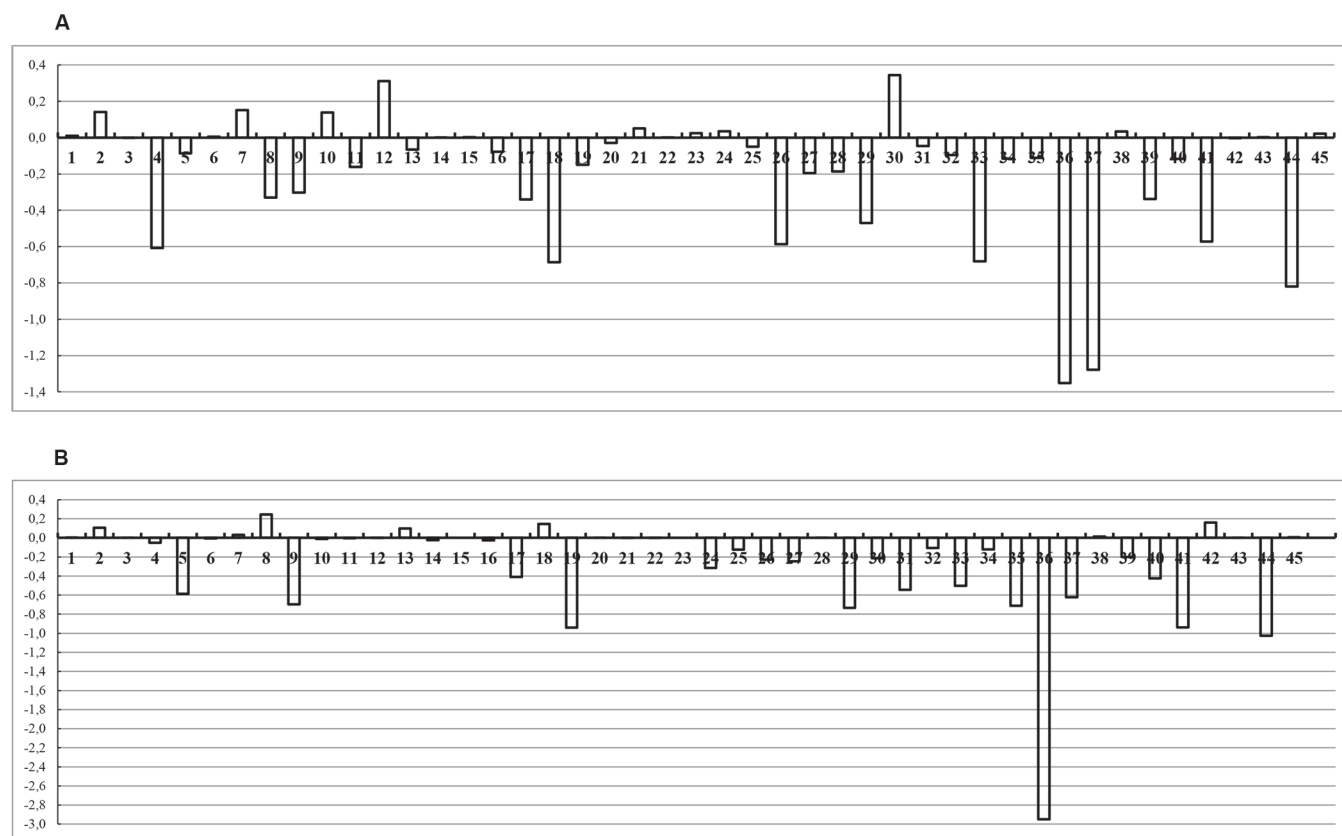


Рис. 1. Величина значений разности между данными о заболеваемости КВЭ в субъектах РФ, полученных при «оперативном мониторинге», и фактической (по «форме 2») за 2016 г. (А) и за 2017 г. (В):

Под номерами по оси абсцисс субъекты Российской Федерации: 1 – Ивановская область, 2 – Костромская область, 3 – Московская область, 4 – Тверская область, 5 – Республика Карелия, 6 – Республика Коми, 7 – Архангельская область, 8 – Вологодская область, 9 – Калининградская область, 10 – Ленинградская область, 11 – Новгородская область, 12 – Псковская область, 13 – Санкт-Петербург, 14 – Республика Башкортостан, 15 – Республика Марий Эл, 16 – Республика Татарстан, 17 – Удмуртская Республика, 18 – Пермский край, 19 – Кировская область, 20 – Нижегородская область, 21 – Оренбургская область, 22 – Самарская область, 23 – Ульяновская область, 24 – Курганская область, 25 – Свердловская область, 26 – Тюменская область, 27 – Ханты-Мансийский АО, 28 – Ямало-Ненецкий АО, 29 – Челябинская область, 30 – Республика Алтай, 31 – Республика Бурятия, 32 – Республика Тыва, 33 – Республика Хакасия, 34 – Алтайский край, 35 – Забайкальский край, 36 – Красноярский край, 37 – Иркутская область, 38 – Кемеровская область, 39 – Новосибирская область, 40 – Омская область, 41 – Томская область, 42 – Приморский край, 43 – Амурская область, 44 – Сахалинская область, 45 – Еврейская АО

Fig. 1. Differential between the values of TBE morbidity rates in the constituent entities of the Russian Federation, received in the course of «strategic monitoring», and the actual values (by «Form No 2») in 2016 (A) and 2017 (B):

Under the numbers on the X axis constituent entities of the Russian Federation are placed: 1 – Ivanovo Region, 2 – Kostroma Region, 3 – Moscow Region, 4 – Tver Region, 5 – Republic of Kalmykia, 6 – Komi Republic, 7 – Arkhangelsk Region, 8 – Vologda Region, 9 – Kaliningrad Region, 10 – Leningrad Region, 11 – Novgorod Region, 12 – Pskov Region, 13 – Saint Petersburg, 14 – Republic of Bashkortostan, 15 – Mari El Republic, 16 – Republic of Tatarstan, 17 – Udmurt Republic, 18 – Perm Territory, 19 – Kirov Region, 20 – Nizhny Novgorod Region, 21 – Orenburg Region, 22 – Samara Region, 23 – Ulyanovsk Region, 24 – Kurgan Region, 25 – Sverdlovsk Region, 26 – Tyumen Region, 27 – Khanty-Mansi Autonomous District, 28 – Yamalo-Nenets Autonomous District, 29 – Chelyabinsk Region, 30 – Republic of Altai, 31 – Republic of Buryatia, 32 – Tuva Republic, 33 – Republic of Khakassia, 34 – Altai Territory, 35 – Trans-Baikal Territory, 36 – Krasnoyarsk Territory, 37 – Irkutsk Region, 38 – Kemerovo Region, 39 – Novosibirsk Region, 40 – Omsk Region, 41 – Tomsk Region, 42 – Primorsk Territory, 43 – Amur Region, 44 – Sakhalin Region, 45 – Jewish Autonomous Region

тивных территорий данные по КВЭ, полученные в ходе оперативного мониторинга, несколько ниже, чем регистрируемые по «форме 2». Вероятно, это связано с постепенным (более поздним, чем завершение оперативного мониторинга) подтверждением диагноза, в том числе лабораторными методами. В некоторых случаях (например, Красноярский край в 2016–2017 гг.) расхождения достаточно велики, причины чего должны быть проанализированы заинтересованными специалистами.

Для сравнения на рис. 2 приводятся материалы по сравнению прогнозируемой и фактической заболеваемости КВЭ в субъектах за 2017 г. (А), а также

ожидаемых значений и данных оперативного мониторинга 2018 г. (В). В этих случаях смещение выборки отсутствует, видно, что имеющиеся отклонения носят случайный, не направленный характер, о чем свидетельствует и метод Стьюдента для сравнения парных выборок, приведенный в таблице.

Таким образом, экстраполяционный прогноз, основанный на десятилетних наблюдениях КВЭ в субъектах страны, содержит малую величину (в большинстве случаев, находящуюся в пределах ДИ) отклонений от фактических данных («формы 2»), а также материалов оперативного мониторинга, в случае обязательного учета при его проведении на-

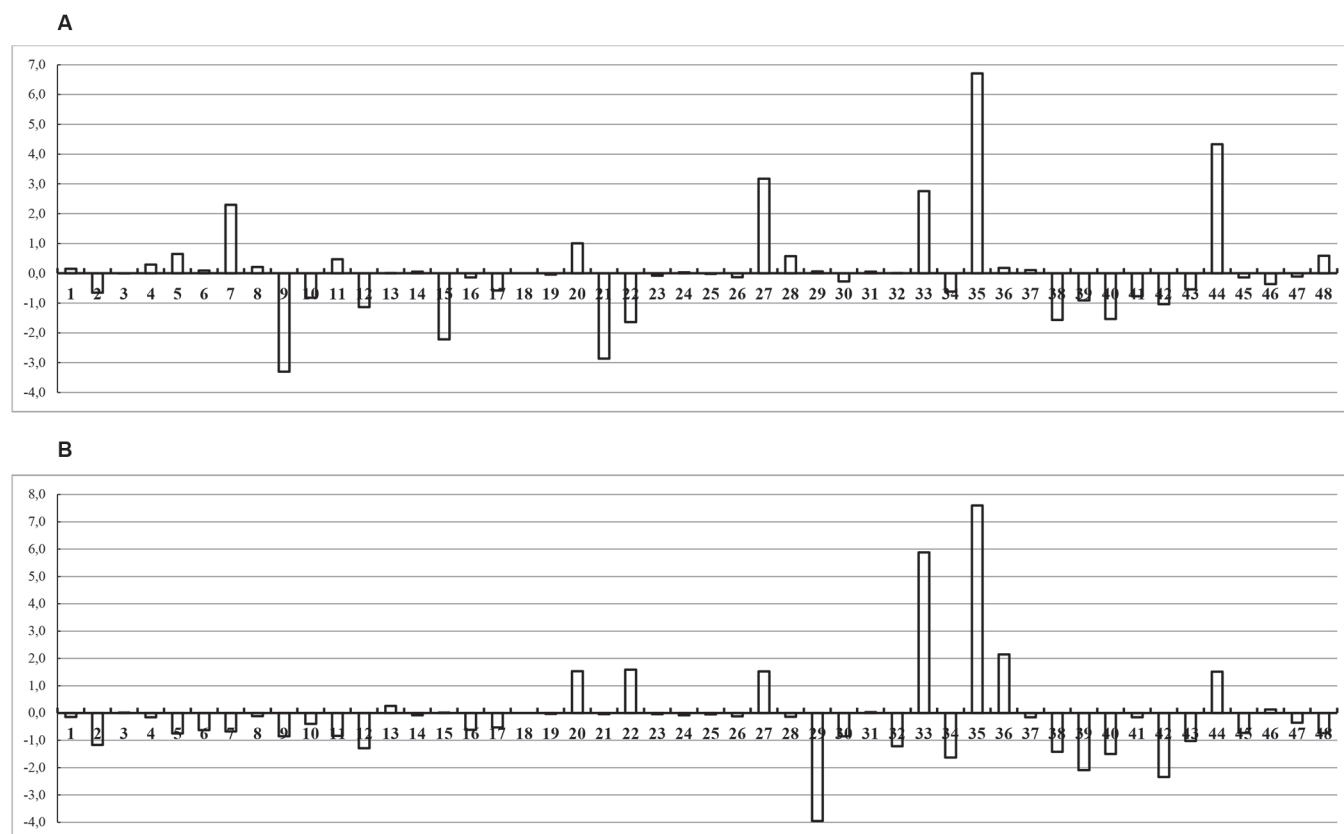


Рис. 2. Величина значений разности между данными о заболеваемости КВЭ в субъектах РФ («форма 2») и ожидаемых в 2017 г. показателей (А), а также «оперативного мониторинга» и прогноза на 2018 г. (В):

Под номерами по оси абсцисс субъекты Российской Федерации: 1 – Ивановская область, 2 – Костромская область, 3 – Московская область, 4 – Тверская область, 5 – Ярославская область, 6 – Москва, 7 – Республика Карелия, 8 – Республика Коми, 9 – Архангельская область, 10 – Вологодская область, 11 – Калининградская область, 12 – Ленинградская область, 13 – Мурманская область, 14 – Новгородская область, 15 – Псковская область, 16 – Санкт-Петербург, 17 – Республика Башкортостан, 18 – Республика Марий Эл, 19 – Республика Татарстан, 20 – Удмуртская Республика, 21 – Пермский край, 22 – Кировская область, 23 – Нижегородская область, 24 – Оренбургская область, 25 – Самарская область, 26 – Ульяновская область, 27 – Курганская область, 28 – Свердловская область, 29 – Тюменская область, 30 – Ханты-Мансийский АО, 31 – Ямало-Ненецкий АО, 32 – Челябинская область, 33 – Республика Алтай, 34 – Республика Бурятия, 35 – Республика Тыва, 36 – Республика Хакасия, 37 – Алтайский край, 38 – Забайкальский край, 39 – Красноярский край, 40 – Иркутская область, 41 – Кемеровская область, 42 – Новосибирская область, 43 – Омская область, 44 – Томская область, 45 – Приморский край, 46 – Хабаровский край, 47 – Амурская область, 48 – Еврейская АО

Fig. 2. Differential between the values of TBE morbidity rates in the constituent entities of the Russian Federation, («Form 2») and expected indicators in 2017 (A), as well as «strategic monitoring» and forecast for 2018 (B):

Under the numbers on the X axis, the following constituent entities of the Russian Federation are shown: 1 – Ivanovo Region, 2 – Kostroma Region, 3 – Moscow Region, 4 – Tver Region, 5 – Yaroslavl Region, 6 – Moscow, 7 – Republic of Karelia, 8 – Komi Republic, 9 – Arkhangelsk Region, 10 – Vologda Region, 11 – Kaliningrad Region, 12 – Leningrad Region, 13 – Murmansk Region, 14 – Novgorod Region, 15 – Pskov Region, 16 – Saint Petersburg, 17 – Republic of Bashkortostan, 18 – Mari El Republic, 19 – Republic of Tatarstan, 20 – Udmurt Republic, 21 – Perm Territory, 22 – Kirov Region, 23 – Nizhny Novgorod Region, 24 – Orenburg Region, 25 – Samara Region, 26 – Ulyanovsk Region, 27 – Kurgan Region, 28 – Sverdlovsk Region, 29 – Tyumen Region, 30 – Khanty-Mansi Autonomous District, 31 – Yamalo-Nenets Autonomous District, 32 – Chelyabinsk Region, 33 – Republic of Altai, 34 – Republic of Buryatia, 35 – Tuva Republic, 36 – Republic of Khakassia, 37 – Altai Territory, 38 – Trans-Baikal Territory, 39 – Krasnoyarsk Territory, 40 – Irkutsk Region, 41 – Kemerovo Region, 42 – Novosibirsk Region, 43 – Omsk Region, 44 – Tomsk Region, 45 – Primorsk Territory, 46 – Khabarovsk Territory, 47 – Amur Region, 48 – Jewish Autonomous Region

личия тренда в развитии эпидемического процесса. Показано также, что данные оперативного мониторинга, хотя и отражают фактическую заболеваемость КВЭ в субъектах («форма 2»), но являются несколько смещенными в сторону ее занижения. Считаем, что предложенный способ простого и унифицированного для всех субъектов прогноза может использоваться в региональных учреждениях Роспотребнадзора.

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

Список литературы

1. Никитин А.Я., Андаев Е.И., Носков А.К., Пакскина Н.Д., Яценко Е.В., Веригина Е.В., Балахонов С.В. Особенности эпидемиологической ситуации по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2017 г. и прогноз ее развития на 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:44–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-44-49.
2. Носков А.К., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Пакскина Н.Д., Яценко Е.В., Веригина Е.В., Иннокентьева Т.И., Балахонов С.В. Клещевой вирусный энцефалит в Российской Федерации: особенности эпидемического процесса в период устойчивого спада заболеваемости, эпидемиологическая ситуация в 2016 г., прогноз на 2017 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 1:37–43. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-37-43.
3. Злобин В.И., Рудаков Н.В., Малов И.В. Клещевые трансмиссивные инфекции. Новосибирск: Наука; 2015. 224 с.

4. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М.: ООО Комментарий; 2013. 464 с.
5. Андерсон Т. Статистический анализ временных рядов. М.: «Мир»; 1976. 756 с.
6. Елисеева И.И., Юзбашев М.М. Общая теория статистики: учебник. М.: Финансы и статистика; 2002. 480 с.
7. Кендалл М., Стьюарт А. Многомерный статистический анализ и временные ряды. М.: Наука; 1976. 736 с.
8. Болотин Е.И. О функциональной организации природных очагов клещевого энцефалита и прогнозе их эпидемического проявления: анализ одномерных временных рядов заболеваемости. *Паразитология*. 2001; 35(5):386–93.
9. Болотин Е.И., Цициашвили Г.Ш., Голычева И.В., Бурухина И.Г. Возможности факторного прогнозирования заболеваемости клещевым энцефалитом в Приморском крае. *Паразитология*. 2002; 36(4):280–5.
10. Коротков Ю.С. Циклические процессы в динамике численности таежного клеща и их связь с погодными и климатическими условиями. *Паразитология*. 1998; 32(1):21–31.
11. Наумов Р.Л. О прогнозах при клещевом энцефалите. *Паразитология*. 1983; 17(5):337–45.
12. Коротков Ю.С., Никитин А.Я., Антонова А.М. Роль климатических факторов в многолетней динамике заболеваемости населения г. Иркутска клещевым энцефалитом. *Бюлл. ВЦНЦ СО РАМН*. 2007; 3:121–25.
13. Наумов Р.Л., Гутова В.П., Фонарева К.С. Степень совпадения долгосрочного экстраполяционного экспертного прогноза с реальной заболеваемостью клещевым энцефалитом в СССР. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1990; 5:40–3.
14. Ивантер Э.В., Коросов А.В. Элементарная биометрия. Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ; 2013. 104 с.

References

1. Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Noskov A.K., Pakskina N.D., Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Balakhonov S.V. Peculiarities of the Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2017 and the Forecast for 2018. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 1:44–9. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-44-49.
2. Noskov A.K., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Pakskina N.D., Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Balakhonov S.V. [Tick-Borne Virus Encephalitis in the Russian Federation: Features of Epidemic Process in Steady Morbidity Decrease Period. Epidemiological Condition in 2016 and the Forecast for 2017]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 1:37–43. (in Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-37-43.
3. Zlobin V.I., Rudakov N.V., Malov I.V. [Tick-borne transmissible infections]. Novosibirsk: “Nauka”; 2015. 224 p. (in Russian).
4. Korenberg E.I., Pomelova V.G., Osin N.S. [Natural-focal infections transmitted by Ixodidae ticks]. M.; 2013. 464 p. (in Russian).
5. Anderson T. [Statistical Analysis of Temporal Series]. Moscow: Mir; 1976. 756 p. (in Russian).
6. Eliseeva I.I., Yuzbashev M.M. [General Theory of Statistics: Manual]. Moscow: “Finances and statistics”; 2002. 480 p.

(in Russian).

7. Kendal M., Stuart A. [Multivariate Statistical Analysis and Temporal Series]. Moscow: “Nauka”; 1976. 736 p. (in Russian).
8. Bolotin E.I. [Regarding Functional Organization of Natural Tick-Borne Encephalitis Foci and Forecast of its Epidemic Manifestations: Analysis of One-dimensional Temporal Series of Morbidity Rate]. *Parazitologiya [Parasitology]*. 2001; 35(5):386–93. (in Russian).
9. Bolotin E.I., Tsitsiashvili G.Sh., Golycheva I.V., Burukhina I.G. [Capacities of Factor Forecasting of Tick-Borne Encephalitis Incidence in Primorsk Territory]. *Parazitologiya [Parasitology]*. 2002; 36(4):280–5. (in Russian).
10. Korotkov Yu.S. [Cyclic Processes in Dynamics of *Ixodes persulcatus* Number and its Association with Weather and Climatic Conditions]. *Parazitologiya [Parasitology]*. 1998; 32(1):21–31. (in Russian).
11. Naumov R.L. [Concerning Forecasts in case of Tick-Borne Encephalitis]. *Parazitologiya (Parasitology)*, 1983; 17 (5):337–45. (in Russian).
12. Korotkov Yu.S., Nikitin A.Ya., Antonova A.M. [Role of Climatic Factors in Long-term Dynamics of Human Tick-Borne Encephalitis Incidence in Irkutsk City]. [*Bulletin of the East-Siberian Scientific Center of the RAMS Siberian Branch*]. 2007; 3:121–25. (in Russian).
13. Naumov R.L., Gutova V.P., Fonareva K.S. [Conformity Degree of Long-term Extrapolation Expert Forecast and Real Tick-Borne Encephalitis Incidence in USSR]. *Med. Parazitologiya [Medical Parasitology]*. 1990; 5:40–3. (in Russian).
14. Ivanter E.V., Korosov A.V. [Elementary biometrics]. Petrozavodsk; 2013. 104 p. (in Russian).

Authors:

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

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

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

Об авторах:

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

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

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

Поступила 28.01.19.

Отправлена на доработку 06.02.19.

Принята к публ. 14.02.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-105-110

УДК 616.98:579.841.95(470.62+470.621)

В.П. Попов¹, В.М. Мезенцев², А.В. Антонов³, Г.П. Шкурин³, В.Е. Безсмертный¹, А.А. Лопатин¹**ЛАНДШАФТНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЙОНИРОВАНИЕ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ И РЕСПУБЛИКИ АДЫГЕЯ ПО ТУЛЯРЕМИИ**

¹ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Причерноморская противочумная станция», Новороссийск, Российская Федерация

Цель – эпизоотолого-эпидемиологическое районирование территории Краснодарского края и Республики Адыгея по туляремии для определения уровня эпидемиологической опасности районов. **Материалы и методы.** Использованы архивные данные Причерноморской противочумной станции за период 1946–2017 гг. и Противочумного центра Роспотребнадзора. При помощи ГИС-пакетов MapInfo Professional 10.5 и Arc GIS 10.2 сформированы базы данных, содержащие точечные слои мест заражения туляремией (49), выделения возбудителя туляремии (195) и ландшафтно-эпизоотологических районов на территории Краснодарского края и Республики Адыгея. **Результаты и обсуждение.** Использование геоинформационных технологий позволило более детально рассмотреть проявления туляремии на разных участках. Показана перспективность использования Arc GIS и MapINFO для геокодирования, обработки и создания геоинформационной базы проявлений туляремии за многолетний период. Созданы векторные данные ландшафтов и мест проявлений эпидемий и эпизоотических проявлений туляремии на разных видах млекопитающих и клещей. Конвертация базы данных в Microsoft Excel позволила проводить статистическую обработку данных для целей эпидемиологического анализа. Проведенная работа по эпидрайонированию территории Краснодарского края и Республики Адыгея наглядно показали целесообразность использования ГИС-технологий для этих целей. Результаты анализа позволяют оптимизировать режим эпизоотологического обследования на различных участках Краснодарского края и Республики Адыгея. Показана целесообразность проведения эпизоотологического обследования и мониторинга территории с определением географических координат мест эпизоотических проявлений.

Ключевые слова: туляремия, природно-очаговые болезни, медико-географическое картографирование, эпидемиологическая дифференциация территории, степень потенциальной эпидемической опасности, ландшафтная приуроченность стойких проявлений туляремии, ГИС.

Корреспондирующий автор: Попов Вячеслав Петрович, e-mail: protivochym@nln.ru.

Для цитирования: Попов В.П., Мезенцев В.М., Антонов А.В., Шкурин Г.П., Безсмертный В.Е., Лопатин А.А. Ландшафтно-эпидемиологическое районирование Краснодарского края и Республики Адыгея по туляремии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 2:105–110. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-105-110

V.P. Popov¹, V.M. Mezentsev², A.V. Antonov³, G.P. Shkurin³, V.E. Bezsmertny¹, A.A. Lopatin¹**Landscape-Epidemiological Zoning of the Krasnodar Territory and the Republic of Adygea by Tularemia**

¹Plague Control Center, Moscow, Russian Federation; ²Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation; ³Black Sea Plague Control Station, Novorossiysk, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was epizootic-epidemiological zoning of the area of Krasnodar Territory and the Republic of Adygea by manifestations of tularemia to determine the level of epidemic hazard of each zone. **Materials and methods.** Utilized were archival data of the Black Sea Plague Control station over the period of 1946–2017 and plague Control Center of the Rospotrebnadzor. With the help of GIS software packages, MapINFO 10.5 and ArcGIS 10.2, the data bases containing the point-like layers of the sites of infection with tularemia (49), isolation of tularemia agent (195), and the layer of landscape-geographical regions in the Krasnodar Territory and the Republic of Adygea were created. **Results and discussion.** Usage of the geo-information technologies allowed for detailed consideration of tularemia manifestations in different parts of the region. The prospects of applying Arc GIS and MapINFO for geo-encoding, processing and creation of geo-information pool of tularemia manifestations over a long period was shown. Vector data of landscapes and sites of epidemics and epizootic manifestations of tularemia on different species of mammals and ticks were generated. The conversion of the database to Microsoft Excel made it possible to make full use of statistical capabilities for epidemiological analysis. The work on epidemiological zoning carried out in the Krasnodar region and the Republic of Adygea starkly illustrated the feasibility of using GIS technologies for those purposes. The results of the analysis allowed for optimization of the mode of epizootiological survey in different parts of the studied region. Advisability of epizootiological inspection and monitoring of the territories with identification of geographical coordinates for epizootic manifestation sites was proved.

Key words: tularemia, natural-focal diseases, medical-geographical mapping, epidemiological differentiation of the territory, degree of potential epidemic hazard, landscape confinedness of persistent tularemia manifestations, GIS.

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

Corresponding author: Vyacheslav P. Popov, e-mail: protivochym@nln.ru.

Citation: Popov V.P., Mezentsev V.M., Antonov A.V., Shkurin G.P., Bezsmertny V.E., Lopatin A.A. Landscape-Epidemiological Zoning of the Krasnodar Territory and the Republic of Adygea by Tularemia. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:105–110. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-105-110

Received 20.12.18. Revised 14.01.19. Accepted 29.01.19.

Использование геоинформационных систем (ГИС) для изучения пространственно-временных изменений различных показателей в последнее десятилетие нашло широкое применение во многих областях общественной жизни, науки и техники. Одним из направлений использования ГИС является биология и медицина. В последние годы в зарубежной и отечественной литературе появилось много научных публикаций, отражающих результаты изучения опасных инфекционных заболеваний [1, 2, 3]. Активное применение ГИС отмечается при изучении сибирской язвы – создание электронных кадастров [4, 5], при изучении природных очагов туляремии [6, 7]. ГИС используются в практике санитарно-эпидемиологического надзора [8].

Цель работы – эпизоотолого-эпидемиологическое районирование территории Краснодарского края и Республики Адыгея по туляремии с использованием ГИС-технологий для определения уровня эпидемиологической опасности районов.

Материалы и методы

В работе использованы архивные данные Причерноморской противочумной станции за период 1946–2017 гг. и Противочумного центра Роспотребнадзора. При помощи ГИС-пакетов MapInfo Professional 10.5 и Arc GIS 10.2 сформированы базы данных, содержащие точечный слой мест заражения туляремией (49), выделения возбудителя туляремии (195) и слой полигонов ландшафтно-эпизоотологических районов на территории Краснодарского края и Республики Адыгея. На основе созданной геоинформационной базы данных построены три карты: «Приуроченность эпизоотических и эпидемических проявлений туляремии к ландшафтам Краснодарского края и Республики Адыгея в 1946–2017 гг.», «Потенциальная эпидемическая опасность природных очагов туляремии в Краснодарском крае и Республике Адыгея» и «Ядра эпизоотических проявлений туляремии с обнаружением возбудителя туляремии на территории Краснодарского края и Республики Адыгея за период с 1946 г. по 2017 гг.», отражающие особенности распространения туляремии в границах ландшафтно-эпизоотологических районов территории.

Результаты и обсуждение

Территория Краснодарского края считается эндемичной по туляремии с 1943 г., когда произошла регистрация первых больных туляремией. С 1943 по 1950 год здесь зарегистрировано 12825 больных, наибольшее количество зафиксировано в 1943 (3118), 1945 (5280) и 1946 (1897) гг. Последняя крупная вспышка была в 1949 г., когда заболело 1094 человека. В дальнейшем заболеваемость пошла на убыль и колебалась от 40 случаев в 1950 до 767 случаев в 1951 г. К 1963 г. всего зарегистрировано более 14 тыс. больных. С 1956 г., после проведения мас-

совой иммунизации, в крае заболеваемость туляремией снизилась до спорадических случаев. В 1989 г. вновь отмечены заболевания среди непривитых, Причерноморской ПЧС изолирован возбудитель туляремии от полевых и синантропных мышевидных. В последние годы после снижения эпизоотической активности и трансформации очаговой территории Краснодарского края территория несколько изменилась – зарегистрирован очередной подъем эпизоотической активности и спорадической заболеваемости; в 2011 г. – один случай в Крымском районе, в 2012 г. – в Новороссийске [9].

Краснодарский край и Республика Адыгея входят в состав Южного федерального округа Российской Федерации. Площадь Краснодарского края 75485 км². В его состав входят 38 районов, 6 городских округов (Краснодар, Новороссийск, Геленджик, Горячий Ключ, Сочи и Армавир), а также Республика Адыгея – 7 районов, площадь 7790 км². Территория Краснодарского края и Республики Адыгея отличается разнообразием природных условий. За последние 70 лет накоплен большой фактический материал, характеризующий биоценотическую структуру и пространственно-временные особенности эпизоотической активности природных очагов туляремии на территории Краснодарского края и Республики Адыгея. Эпизоотические и эпидемические проявления туляремии зарегистрированы во всех типах ландшафтов, кроме горного и причерноморского (рисунок).

На территории Краснодарского края и Республики Адыгея за все время эпизоотологического мониторинга из различных объектов внешней среды изолировано 467 культур возбудителя туляремии, в том числе от мелких млекопитающих – 371 (79,4 %) штамм от 14 видов, от иксодовых клещей – 69 (14,8 %), из различных водных объектов – 23 (4,9 %), а также от субстрата подснежных гнезд грызунов – 4 (0,9 %). Культура возбудителя туляремии выделена во всех районах края, кроме Абинского, Гулькевичского и Калининского. В Республике Адыгея возбудитель туляремии не изолирован в Тахтамукайском и Теучежском районах. От основного носителя туляремии (домовой мыши) на изучаемой территории изолировано 195 (54 %) культур туляремийного микроба, из изолированных от мелких млекопитающих на долю обыкновенной полевки приходится всего 15,1 %.

Спонтанно зараженных возбудителем туляремии в крае обнаружено семь видов иксодовых клещей: *Ixodes ricinus* (L.), *I. laguri laguri* Ol, *Haemaphysalis punctata* Can. et Fanz. *H. otophila* P. Sch., *Dermacentor marginatus* Sulz., *Rhipicephalus rossicus* Jak. et K. Jak и *Hyalomma plumbeum plumbeum* Panz.

В **лиманно-плавневом ландшафте** на территории Красноармейского, Приморско-Ахтарского, Славянского и Калининского районов края располагаются очаги пойменно-болотного типа. Площадь составляет 8100 км². Эпизоотии туляремии и больные обнаружены во всех районах, кроме Калининского.



Приуроченность эпизоотических и эпидемических проявлений туляремии к различным типам природных ландшафтов Краснодарского края и Республики Адыгея в 1946–2017 гг.:

I – места обнаружения *F. tularensis*; 2 – места заражения людей туляремией; 3 – больные и культура *F. tularensis*. Типы ландшафтов: *I* – таманско-сопочный, *II* – лиманно-плавневый, *III* – равнинно-степной, *IV* – предгорный, *V* – горный, *VI* – причерноморский

Confinement of epizootic and epidemic tularemia manifestations to different types of natural landscapes of the Krasnodar Territory and the Republic of Adygea in 1946–2017:

I – sites of detection of *F. tularensis*; 2 – sites of human infection with tularemia; 3 – patients and *F. tularensis* culture. Types of landscapes: *I* – Taman-bald mountain, *II* – liman-floodable, *III* – lowland-steppe, *IV* – piedmont, *V* – mountain, *VI* – Black Sea region

Первая культура возбудителя туляремии изолирована в 1946 г. от домового мыши в Красноармейском районе, последняя – в 2002 г. из воды и от обыкновенной полевки в Славянском районе. Эпизоотии продолжались 16 лет, за это время выделено 68 культур возбудителя туляремии, из которых 33 (48,3 %) от домашних мышей и 17 (26,6 %) от обыкновенных полевков. Культура возбудителя туляремии также выделена от серой крысы, лесной мыши, обыкновенного хомяка, землеройки, клещей *H. marginatum*, *H. otophila* и гнезд обыкновенных полевков. Эпидемии туляремии среди населения регистрировались с 1946 по 1962 год. Всего заболело 1867 человек, из которых 1331 в Славянском районе в 1949, 1951 и 1952 гг., что связывали с эпизоотиями туляремии среди грызунов (с 1948 по 1953 год выделено 23 культуры возбудителя туляремии, из которых 16 от домашних мышей). Эпидемии продолжались 11 лет, из них 8 лет подряд (с 1946 по 1953 год). Последний случай заболевания туляремией отмечен в 1962 г. в Приморско-Ахтарском районе. В этом типе ландшафта выявлено шесть мест длительного сохранения эпизоотической и эпидемической активности очагов инфекции, где

заболело 712 человек и выделено 15 штаммов возбудителя, из которых 11 от домашних мышей.

Таманско-сопочный ландшафт занимает Таманский полуостров. В его состав входит Темрюкский район площадью 1957 км². Эпизоотии туляремии впервые зарегистрированы в 1948 г. в станице Курчанская (заболело 4 человека, 2 штамма изолированы от домашней мыши и клещей *D. marginatum*). В 1951 г. Зарегистрирована вспышка туляремии, заболело 30 человек. За все время изолировано 10 культур, из которых 6 – от домашних мышей. Последняя культура туляремии выделена от домашней мыши в станице Голубицкая в 1987 г. Два последних случая заболевания туляремией зарегистрировали в 2017 г. в пос. Артюшенко, одним из источников туляремии здесь стали зайцы-русаки.

Предгорный ландшафт включает Анапский, Абинский, Апшеронский, Белореченский, Крымский, Лабинский, Мостовской, Отрадненский и Северский районы Краснодарского края, Майкоп и Майкопский район Республики Адыгея и район Горячий Ключ. Его площадь составляет 18693 км². Эпизоотии туляремии зарегистрированы во всех районах, кроме

Абинского, Апшеронского и г.о. Горячий Ключ. За время наблюдений выделено 87 культур возбудителя туляремии. Эпизоотии продолжались 28 лет, из которых 10 лет в Крымском, 12 лет в Лабинском районах. Первые три штамма изолированы от домовых мышей в 1947 г. в Белореченском и Крымском районах, последний – в 2009 г. из воды в пос. Турсино Анапского района. В Анапском и Крымском районах изолировано 51,7 % культур туляремии от общего выделенного количества. В эпизоотический процесс вовлекались землеройка белозубка, кустарниковая и водяная полевки, лесная и полевая мыши, серый хомячок, мыш-малютка, землеройка бурозубка, а также зайцы. В этом типе ландшафта заболело 411 человек. Заболеваемость регистрировалась в течение 25 лет, из которых 16 лет непрерывно. Наибольшее количество заболевших за все время наблюдений зарегистрировано в Лабинском (239) и Мостовском (125) районах. В станице Упорная в 1948 г. заболело 183 человека, что было связано с эпизоотиями среди водяных полевок на реках Чамлык и Щучка. В станице Губская и хут. Пролетарский Мостовского района в 1948 г. отмечена вспышка туляремии (68 человек) среди местного населения, связанная с эпизоотиями среди домовых мышей. Выявлено 17 мест длительного сохранения возбудителя туляремии, где изолировано 39 (44,8 %) штаммов и заболело 293 человека (71,28 % из всех заболевших). В 2016 г. в Анапском районе (пос. Курбатский) зарегистрирован последний случай заболевания туляремией охотника при разделке зайца, добытого на охоте.

В **равнинно-степной ландшафт** входит 23 района края, Краснодар и Армавир (38133,8 км²), а также шесть районов Республики Адыгея (3792 км²), кроме Майкопа и Майкопского района. Его площадь составляет 41925,8 км². Впервые культуры туляремии выделены в 1947 г. в Белоглинском, Брюховецком, Кущевском, Новопокровском, Новокубунском и Щербиновском районах. Эпизоотии продолжались 26 лет, из которых 20 лет непрерывно. Всего выделено 300 штаммов возбудителя туляремии, из которых 292 в районах края и 8 – в Республике Адыгея. Из 300 изолированных культур возбудителя туляремии 156 (52 %) выделены от домовых мышей, эпизоотии среди которых зарегистрированы во всех районах края и Республики Адыгея. Последняя культура выделена в 2008 г. в Курганинском районе от клещей *D. marginatum*. На территории равнинно-степного ландшафта заболело туляремией 3332 человека, из которых 3229 в Краснодарском крае и 103 человека в Республике Адыгея. Больные туляремией регистрировались в течение 21 года, из которых 17 лет непрерывно. Наибольшее число заболевших туляремией было в 1946 г. в Ейском, Кавказском, Кущевском, Павловском, Тимашевском, Староминском и Щербиновском районах, когда было зарегистрировано 1686 больных. Последние два случая заболевания зарегистрированы в Краснодаре в 2013 г. Выявлено 19 мест совпадений эпизоотий и заболеваний людей в Белоглинском, Брюховецком, Курганинском, Ново-

покровском, Староминском, Тимашевском, Тбилиском, Щербининском, Усть-Лабинском районах и городах Краснодар и Армавир.

Территория **горного ландшафта** включает Апшеронский, Туапсинский и частично Мостовской районы, Майкопский район, а также районы Геленджик и Сочи. Площадь составляет 8273 км². Эпизоотии туляремии и заболевания людей не зарегистрированы.

Причерноморский ландшафт включает Новороссийск и частично Геленджик, Сочи и Туапсинский район. Площадь 4587 км². В Новороссийске две культуры возбудителя туляремии выделены от серой крысы, заболело восемь человек.

По результатам анализа пространственных особенностей эпидемических и эпизоотических проявлений природных очагов туляремии в 1946–2017 гг. проведено районирование Краснодарского края и Республики Адыгея по степени потенциальной эпидемиологической опасности (высокая, средняя, низкая) энзоотичных территорий.

К территориям с высокой степенью потенциальной эпидемической опасности относятся Ейский, Красногвардейский, Крымский, Лабинский, Новокубанский, Приморско-Ахтарский и Славянский районы. Площадь этой территории составляет 15495 км² или 20,5 % от площади края. Эпизоотии туляремии регистрировались в течение 30 лет, 20 из них подряд (1946–1966 гг.). Всего изолировано 189 культур возбудителя туляремии, из которых 92 от домовой мыши и 27 от обыкновенной полевки, что составило 62,96 % от выделенных культур. В эпизоотии также были вовлечены лесная и полевая мыши, полевая, кустарниковая и водяная полевки, мыш-малютка, серый хомячок, серая крыса, бурозубки. От клещей *D. marginatum*, *H. otophila*, *H. marginatum*, *Ix. ricinus* выделен 21 штамм, из воды – 10 штаммов. Эпидемии туляремии в указанных районах продолжались 24 года, из которых 17 лет подряд (1946–1962 гг.). За это время заболело туляремией 3052 человека во всех районах. Наибольшее количество заболевших туляремией зарегистрировано в Славянском (1331), Ейском (490), Красноармейском (797) и Лабинском (239) районах. Последний случай туляремии зарегистрирован в Крымском районе. В шести районах, где одновременно регистрировались эпизоотии и эпидемии, заболело 2437 человек, изолировано 118 штаммов возбудителя туляремии. В 17 местах совмещений заболело 1100 человек, выделено 49 культур возбудителя туляремии. Следует отметить, что только в 12 местах совпадений заболело 895 человек и выделено 24 культуры туляремии от домовых мышей.

Культура туляремии также выделена от полевых и лесных мышей, обыкновенных, водяных и кустарниковых полевок, а также от серых хомячков, серых крыс, обыкновенной бурозубки и иксодовых клещей.

К территориям со средней степенью потенциальной эпидемической опасности относятся Белоглинский, Динской, Каневской, Курганинский,

Мостовской, Новопокровский и Щербиновский районы. Их площадь составляет 14712 км² (18,8 % от площади края). Эпизоотические проявления отмечены в течение 24 лет, в том числе 20 лет непрерывно (1947–1966 гг.).

Впервые возбудитель туляремии выделен в Белоглинском (обыкновенный суслик), Новопокровском (домовая мышь) и Щербиновском (обыкновенная полевка) районах в 1947 г. Изолировано 117 культур, 52 (44,4 %) – от домашних мышей. Туляремией заболело 787 человек, в том числе 205 в 1946 г. Эпидемии продолжались 17 лет, из них 11 лет непрерывно (с 1946 по 1956 год). Последний случай заболевания отмечен в 2014 г. в Щербиновском районе. Места совпадений обнаружены в пяти районах, где заболело 613 человек и изолировано 19 штаммов возбудителя туляремии. Выявлено восемь мест длительного сохранения инфекции, где заболело 244 человека и изолировано 19 штаммов туляремии, в том числе в шести местах от домашних мышей, где заболело 211 человек. Возбудитель туляремии также выделен от обыкновенных полевых, иксодовых клещей, лесной мыши и серого хомячка.

К территориям с низкой степенью эпидемиологической опасности относятся Абинский, Анапский, Апшеронский, Брюховецкий, Белореченский, Выселковский, Гулькевичский, Кавказский, Калининский, Крыловский, Кушевский, Ленинградский, Отрадненский, Павловский, Северский, Староминский, Тбилисский, Темрюкский, Тихорецкий, Туапсинский, Успенский, Усть-Лабинский районы Краснодарского края, города Краснодар, Армавир, Горячий Ключ, Сочи, Геленджик, Туапсе. Площадь этой территории составляет 52497,9 км², 45815 км² из которых (60,7 % от всей площади края) относится к Краснодарскому краю, а 5682,5 км² к Республике Адыгея. На территории 20 районов края эпизоотии туляремии продолжались 24 года, выделено 138 культур возбудителя туляремии, заболело 1642 человека. Не выявлено эпизоотий туляремии в Абинском, Гулькевичском и Калининском районах. Заболевания туляремией регистрировались 21 год, из них 11 лет подряд (с 1946 по 1956 год). Всего за эти годы заболело 1641 человек. Наибольшее число заболевших зарегистрировано в Староминском (725), Кушевском (441) и Кавказском (204) районах. Последний случай туляремии выявлен в Темрюкском районе в 2017 г. Совмещение эпизоотий туляремии и заболеваемости обнаружено всего в 14 местах. В них заболело 130 человек и выделено 57 культур возбудителя туляремии. Следует отметить, что в местах, где зарегистрированы эпизоотии среди домашних мышей (8 штаммов), заболело 74 человека. В местах совмещений возбудитель туляремии выделен из воды, от зайца, полевых и лесных мышей, обыкновенных полевых, серых хомячков, землероек, мыши-малютки, гнезд и иксодовых клещей. В Краснодаре, Армавире и Новороссийске заболело туляремией 66 человек. Эпизоотии среди грызунов регистрировались в течение 7 лет, за это время изолировано 12 культур туляремии, из кото-

рых 9 от домашних мышей. В Новороссийске заболело восемь человек и выделено две культуры от серых крыс. В Республике Адыгея эпизоотии туляремией продолжались 8 лет, выделено 11 штаммов возбудителя туляремии. Заболеваемость туляремией регистрировалась в течение 9 лет, заболело 107 человек во всех районах кроме Тахтамукайского. Наибольшее число заболевших (69) туляремией зарегистрировано в Гиагинском районе. Места совмещений отмечены в трех районах и Майкопе, в которых заболело 19 человек. Изолировано шесть штаммов возбудителя туляремии, пять из которых от домашних мышей.

Таким образом, в Краснодарском крае и Республике Адыгея выявлено 49 мест длительного сохранения инфекции, где выделено 143 (30,6 %) штамма возбудителя туляремии, при этом заболело 1559 человек (27,6 %). Детальный анализ мест совмещений показал, что основным фактором эпидемиологических осложнений в Краснодарском крае и Республике Адыгея в прошлом столетии стали эпизоотии среди домашних мышей.

За последние 20 лет в Краснодарском крае выделено 32 культуры возбудителя туляремии.

Число заболевших туляремией по районам с различной степенью эпидемиологической опасности составило 34 человека, в том числе высокой степени – 14, средней – 4 и низкой – 16 человек.

При этом следует отметить, что в районах с низкой степенью эпидемиологической опасности заболеваемость туляремией за эти годы была распределена крайне неравномерно. Так, в Анапе, Краснодаре и Новороссийске зарегистрировано девять больных туляремией. При охоте на зайцев в Анапском, Темрюкском и Усть-Лабинском районах заразилось туляремией пять человек и лишь единичные случаи заражения туляремией зарегистрированы в Тихорецком и Щербиновском районах края.

Таким образом, проведенная работа по районированию территории Краснодарского края и Республики Адыгея по степени потенциальной эпидемиологической опасности позволила оптимизировать в дальнейшем режим эпизоотологического обследования природных очагов туляремии данных субъектов Российской Федерации

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

Список литературы

1. Куница Т.Н. Природные очаги туляремии в Казахстане. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане*. 2010; 21:50–65.
2. Поршаков А.М., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Булычев В.П., Ларин В.В. Дифференциация Волго-Уральского песчаного очага чумы по кратности эпизоотических проявлений методом круговой экстраполяции. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 4:33–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-33-36.
3. Куклев Е.В., Сафронов В.А., Лопатин А.А., Раздорский А.С. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; 4:78–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-78-79.
4. Буравцева Н.П., Мезенцев В.М., Рязанова А.Г., Плужникова О.В., Ерёмченко Е.И., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Использование ГИС-технологий при разработке кадастра стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов в Краснодарском крае. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 2:59–64.

5. Дубянский В.М., Куличенко А.Н., Семенко О.В., Малецкая О.В., Мезенцев В.М. Совершенствование эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями с использованием геоинформационных систем. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 1:85–91.
6. Полухина А.Н., Попов В.П., Орлов Д.С., Царук Е.В., Гильденскильд О.А., Попов Н.В. Применение ГИС-технологий для выявления районов разной степени потенциальной эпидемической опасности в природных очагах туляремии Московской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 2:59–64. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-59-64.
7. Попов В.П., Ватлина Т.В., Воробьева М.В., Орлов Д.С., Безсмертный В.Е. Районирование Смоленской области по степени потенциальной эпидемической опасности природных очагов туляремии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 4:62–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-62-65.
8. Попова А.Ю., Кузькин Б.П., Демина Ю.В., Дубянский В.М., Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Шаяхметов О.Х., Семенко О.В., Назаренко Ю.В., Агапитов Д.С., Мезенцев В.М., Харченко Т.В., Ефременко Д.В., Оробей В.Г., Клиндухов В.П., Гречаная Т.В., Николаевич П.Н., Тешева С.Ч., Рафеенко Г.К. Использование современных информационных технологий в практике санитарно-эпидемиологического надзора в период проведения XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских зимних игр в г. Сочи. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015; 2:113–8.
9. Гальцева Г.В., Малай В.И., Пиликова О.М., Медяник И.М., Антонов А.В., Дубаневич Б.А. Туляремия в Краснодарском крае. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2(1–2):130–1.

References

1. Kunitsina T.N. [Natural foci of tularemia in Kazakhstan]. *Karantinnye i Zoonoznye Infektsii v Kazakhstane*. 2010; 21:50–65.
2. Porshakov A.M., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Bulychiev V.P., Larin V.V. [Volga-Ural sandy plague focus differentiation against epizootic manifestations by means of circular extrapolation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; 4:33–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-33-36.
3. Kouklev E.V., Safronov V.A., Lopatin A.A., Razdorsky A.S. [Designing of the software program "Epidemic Potential of Natural Plague Foci in the Territory of the Russian Federation"]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2014; 4:78–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-78-79.
4. Buravtseva N.P., Mezentsev V.M., Ryazanova A.G., Pluzhnikova O.V., Eremenko E.I., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. [Usage of GIS-technologies in the development of Cadastre of stationary potentially hazardous as regards anthrax areas in the Krasnodar Territory]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*. 2014; 2:59–64.
5. Dubyansky V.M., Kulichenko A.N., Semenko O.V., Maletskaya O.V., Mezentsev V.M. [Enhancement of epidemiological surveillance over infectious diseases using geo-information

systems]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*. 2014; 1:85–91.

6. Polukhina A.N., Popov V.P., Orlov D.S., Tsaruk E.V., Gil'denskiol'd O.A., Popov N.V. [Application of GIS-technologies for identifying the areas with different degree of potential hazard in natural tularemia foci of the Moscow Region]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 2:59–64. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-59-64.
7. Popov V.P., Vatlina T.V., Vorob'eva M.V., Orlov D.S., Bezsmertny V.E. [Zoning of the Smolensk Region by the degree of potential epidemic hazard of natural tularemia foci]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 4:62–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-62-65.
8. Popova A.Yu., Kuz'kin B.P., Demina Yu.V., Dubyansky V.M., Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Shayakhmetov O.Kh., Semenko O.V., Nazarenko Yu.V., Agapitov D.S., Mezentsev V.M., Kharchenko T.V., Efremenko D.V., Orobey V.G., Klindukhov V.P., Grechanaya T.V., Nikolaevich P.N., Tesheva S.Ch., Rafeenko G.K. [Usage of advanced information technologies in practice of sanitary-epidemiological surveillance during XXII Winter Olympic Games and XI Paralympic Games in Sochi]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*. 2015; 2:113–8.
9. Galtseva G.V., Malay V.I., Pilikova O.M., Medyanik I.M., Antonov A.V., Dubanevich B.A. [Tularemia in the Krasnodar Territory]. *Infektsiya i Immunitet*. 2012; 2(1–2):130–1.

Authors:

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

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

Antonov A.V., Shkurin G.P. Black Sea Plague Control Station. 90, Kunikova St., Novorossiysk, 353919, Russian Federation. E-mail: novppchs@rambler.ru.

Об авторах:

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

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

Антонов А.В., Шкурин Г.П. Причерноморская противочумная станция. Российская Федерация, 353919, Краснодарский край, Новороссийск, ул. Куникова, 90. E-mail: novppchs@rambler.ru.

Поступила 20.12.18.

Отправлена на доработку 14.01.19.

Принята к публ. 29.01.19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-111-116

УДК 616.98:578.835

Н.И. Хаммадов

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВИРУСА ЯЩУРА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА, ГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ*ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Казань, Российская Федерация*

Цель работы — поиск локусов генома различных типов вируса ящура, характеризующихся наименьшей вариативностью, для использования их в качестве генетических маркеров при ПЦР-индикации вируса. **Материалы и методы.** В работе использовались ресурсы Национального центра биотехнологической информации и программные утилиты «BLAST» и «Vector NTI 9.1.0». Для ПЦР-амплификации применялась плазмидная ДНК с маркерной вставкой. **Результаты и обсуждение.** Анализ подверглись нуклеотидные последовательности геномов вируса ящура типов *A*, *Asia-1*, *C*, *O* и *SAT* (1, 2 и 3). При выравнивании геномов изолятов каждого из типов вируса установлены потенциально консервативные участки. Сравнение этих локусов у различных типов вируса позволило выявить один максимально консервативный локус, последующий BLAST-анализ установил его высокую специфичность к геному вируса ящура, на этот локус выбрали праймеры и зонд. Кроме того, олигонуклеотидные затравки подобраны на три гена, входящих в геном крупного рогатого скота, наименее гомологичные специфичным олигонуклеотидам. Праймеры и зонд использованы в качестве внутреннего контроля амплификации. Для контроля хода амплификации разработан положительный контроль, имеющий нуклеотидную последовательность маркерной области генома вируса ящура. В геномах некоторых изолятов вируса обнаружен высокий уровень полиморфизма относительно ПЦР-зонда (у 12 изолятов по серотипам *A*, *Asia-1*, *SAT1* и *SAT2*). Устранить влияние такой вариативности на количество выявляемых изолятов вируса позволяют модификации ПЦР-зонда (Pas FMDV и Psat FMDV). Нуклеотидные последовательности праймеров, зондов и положительного контроля представлены в таблицах.

Ключевые слова: вирус ящура, тип, штамм, полиморфизм генома, ПЦР.

Корреспондирующий автор: Хаммадов Наиль Ильдарович, e-mail: nikhammadov@mail.ru.

Для цитирования: Хаммадов Н.И. Генетические маркеры вируса ящура крупного рогатого скота, геномный анализ. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 2:111–116. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-111-116

N.I. Khammadoov

Genetic Markers of the Cattle Foot and Mouth Disease Virus: Genomic Analysis*Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation*

Abstract. Objective of this work was to search for genome loci of various types of foot and mouth disease (FMD) virus, characterized by the lowest variability, to be used as genetic markers in the PCR-indication of the virus. **Materials and methods.** The resources of the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and BLAST and Vector NTI 9.1.0 software utilities were employed in the research. Plasmid DNA with marker insertion was utilized for PCR amplification. **Results and discussion.** The nucleotide sequences of FMD virus genomes, the types *A*, *Asia-1*, *C*, *O* and *SAT* (1, 2 and 3), were analyzed. In the process of aligning of isolate genomes of each type, potentially conservative sites were identified. The comparison between these loci has revealed one most conserved locus, and the subsequent BLAST analysis has established its high specificity to FMD virus genome. Primers and a probe were selected for this locus. In addition, the oligonucleotide primers were selected for the three genes included in the cattle genome that are least homologous to the specific oligonucleotides. The primers/probe were used as internal control of amplification. To control the progress of amplification, a positive control has been developed that has a nucleotide sequence of the marker region of FMD virus genome. It was found out that genomes of certain virus isolates show high level of polymorphism in relation to PCR-probe (12 isolates by *A*, *Asia-1*, *SAT1*, and *SAT2* serotypes). However, modifications of the PCR-probe (Pas FMDV and Psat FMDV) allow for elimination of the effect of such variability on the number of virus isolates identification. Nucleotide sequences of the primers, probes and positive controls are presented in the tables.

Key words: Foot and mouth disease virus (FMDV), type, strain, genome polymorphism, PCR.

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

Corresponding author: Nail I. Khammadoov, e-mail: nikhammadov@mail.ru. ORCID: 0000-0001-5669-1486.

Citation: Khammadoov N.I. Genetic Markers of the Cattle Foot and Mouth Disease Virus: Genomic Analysis. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 2:111–116. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-111-116

Received 04.02.19. *Revised* 05.03.19. *Accepted* 13.03.19.

Вирус ящура представляет собой РНК-содержащий вирус, принадлежащий роду *Aphthovirus*, семейству *Picornaviridae*; включает серотипы: *A*, *Азия-1*, *C*, *O* и *SAT* (1, 2 и 3) [1]. Предположить на-

личие данной вирусной патологии можно при наличии изъязвлений (везикул) на слизистых оболочках языка, ротовой полости, носовом зеркале, копытах (копытцах) и вымени. Одно заболевшее животное

становится причиной быстрого заражения большого количества соседствующих животных. Вирус начинает выделяться во время инкубационного периода с выдыхаемым воздухом, молоком, мочой, калом, спермой, слюной и содержимым кожных дефектов [2, 3]. На примере данных с 2000 по 2008 год показано, что на территории доминирования вируса серотипа *O* (Непал) летальность составила от 0,6 до 2,3 % [4].

Вирус ящура патогенен более чем для 100 видов животных, которые представлены как домашним скотом, так и дикими животными [5], и представляет особую актуальность в связи с возможностью заражения человека [6]. В большинстве случаев заражение происходит при употреблении в пищу инфицированной продукции животноводства, при этом вирус попадает в организм человека через слизистые оболочки. Во время инкубационного периода, который может длиться до семи дней, происходит первичная репродукция вируса на месте его проникновения. По истечению инкубационного периода возбудитель по кровотоку распространяется по организму (губы, рот, кожа на пальцах рук и ног). В местах проникновения вируса образуются афты, которые впоследствии лопаются, образуя язвы. Проявления ящура у детей интенсивнее, у них афт гораздо больше и болевые ощущения намного сильнее, клиническая картина иногда напоминает отравление [7].

Для индикации вируса ящура активно используются серологические и молекулярно-генетические методы диагностики. Для серологической диагностики используется метод иммуноферментного анализа [8, 9]. Молекулярно-генетические методы диагностики основаны на принципах полимеразной цепной реакции, при которой в качестве маркерной последовательности не всегда применяют достаточно консервативные локусы [10, 11, 12], а публикации, в которых есть упоминания об индикации всех серотипов, не подтверждены достаточной доказательной базой и не позволяют проверить данные самостоятельно [13].

Цель исследования направлена на поиск универсальных консервативных локусов генома, имеющих у всех типов вируса ящура, для использования их в качестве генетических маркеров при ПЦР индикации вируса.

Материалы и методы

Использованная в данной работе методология биоинформационного анализа геномов различных изолятов FMDV (от foot and mouth disease virus) всех серотипов с последующим дизайном праймеров и зонда имеет общие принципы, которые используются и для других микроорганизмов [14, 15]. Нуклеотидные последовательности искомого вируса определены путем поисковых запросов баз данных ресурсов Национального центра биологической информатизации (National Center for Biotechnological Information, NCBI). Видовое (штаммовое) разнообра-

зие выявляемых организмов, с применением анализируемого генетического маркера, определено в программной утилите «nBLAST», а дизайн нуклеотидных последовательностей праймеров и зондов проведен с использованием программы «Vector NTI 9.1.0» (Invitrogen Corporation). При дизайне олигонуклеотидных затравок учитывалась возможность амплификации целевых ДНК-маркеров (для индикации вируса ящура) и ДНК-маркеров внутреннего контроля амплификации (ДНК восприимчивого животного) в одной реакции.

Для ПЦР-амплификации использовалась плазмидная ДНК положительного контроля. ПЦР осуществляли на амплификаторе C1000 с оптическим блоком CFX96 (BioRad). Методика проведения ПЦР-амплификации аналогична описанной ранее [15] со следующими модификациями: зонд для ПЦР, прямой и обратный праймеры, разработанные в рамках данной работы; температура отжига праймеров составляла 58,5 °C, детекция результата ПЦР (флуоресценции) происходила на каждом цикле ПЦР при 58,5 °C по каналам Rox и Cy5.

Результаты и обсуждение

Проведен анализ вариабельности нуклеотидных последовательностей различных изолятов FMDV по каждому из серотипов вируса. Для удобства ориентирования в нуклеотидной последовательности геномов различных изолятов вируса ящура серотипа *A* позиции указаны относительно изолята *Zambia/90* (GenBank ID MH053307). Для изолятов вируса ящура серотипа *Asia-1* позиции указаны относительно изолята *BAN/TA/Ma-167/2013* (GenBank ID MF782478). Для изолятов вируса ящура серотипа *C* позиции указаны относительно штамма *C-S8p200* (GenBank ID FJ824812). Для изолятов вируса ящура серотипа *O* позиции указаны относительно изолята *UGA/3/2002* (GenBank ID MH053318). Для изолятов вируса ящура серотипов *SAT* (1, 2, 3) позиции указаны относительно серотипа *SAT 3* изолята *ZIM/P27/90(DSA-31)* (GenBank ID MH053352). Позиции в нуклеотидной последовательности геномов различных серотипов вируса ящура, при анализе нуклеотидной последовательности, кодирующей фактор патогенности вируса, указаны относительно генома изолята *4235* серотипа *A* (GenBank ID JN099688). Анализ геномов всех серотипов направлен на выявление универсального, консервативного для всех серотипов вируса, имеющего минимальную вариабельность локуса, размером не более 200 bp (base pair или пар нуклеотидов), имеющегося у всех изолятов вируса.

Выявление гомологий среди различных типов вируса в пределах локуса, кодирующего фактор патогенности «VP1», направлено на определение локуса, при амплификации которого будет выявляться максимальное количество изолятов (или все изоляты) во всех серотипах вируса ящура. Данная нуклеотидная последовательность входит в состав нуклеотидной

последовательности, кодирующей вирусный капсид. Нуклеотидная последовательность локализуется в геноме вируса на участке от 2703 до 3353 bp. Каких-либо существенных гомологий в данном локусе не выявлено (гомология 40,5 %), особенно ярко выражены отличия в нуклеотидной последовательности серотипа *SAT 2*.

Дальнейший анализ направлен на выявление гомологий среди изолятов наиболее многочисленного серотипа вируса, а именно типа *O* (179 штаммов/изолятов). При анализе производился отбор последовательностей, у которых в каждой области генерации олигонуклеотидных затравок (по различным изолятам) встречается не более двух замен нуклеотидов. Первый из трех локусов, где имелась возможность произвести дизайн олигонуклеотидных затравок, локализуется на участке от 4132 до 4292 bp, при этом максимальная вариабельность отмечена у штамма с ID HQ412603 и изолята с ID AY593813. Второй локус локализуется на участке от 7810 до 7908 bp, при этом максимальная вариабельность отмечена у изолята с ID KF985189. И третий локализуется на участке от 7913 до 8043 bp, в нуклеотидной последовательности локуса существенно вариабельных штаммов/изолятов не выявлено.

Дальнейшее выявление гомологий проводилось среди следующего по многочисленности штаммов/изолятов вируса – типа *A* (117 штаммов/изолятов). Выявление гомологий проводилось по трем локусам, которые, исходя из результатов анализа вируса типа *O*, имели возможность произвести дизайн олигонуклеотидных затравок. Анализируя первый локус, который локализуется на участке от 4151 до 4310 bp, выявлен один изолят с тремя нуклеотидными заменами в области генерации обратного праймера (AY593793). Анализ второго локуса, локализованного на участке от 7829 до 7926 bp, выявил три вариабельных изолята (KC588943, KY322678, KY404934). Анализ третьего локуса, локализованного на участке от 7933 до 8061 bp, выявил один изолят (MG725874) с тремя нуклеотидными заменами в области генерации олигонуклеотидного зонда.

Выявление гомологий среди изолятов вируса типа *Asia-1* (59 штаммов/изолятов) продолжили по тем же трем локусам. Анализируя первый локус, локализованный на участке от 4162 до 4321 bp, выявили один изолят (JN006720) с тремя нуклеотидными заменами в области генерации олигонуклеотидного зонда. Второй локус, локализованный на участке от 7840 до 7937 bp, характеризовался вариабельностью трех нуклеотидов в области генерации олигонуклеотидного зонда у одного штамма (EF149009). При анализе третьего локуса, локализованного на участке от 7944 до 8072 bp, обнаружен полиморфизм в области генерации олигонуклеотидного зонда у двух изолятов вируса (DQ989310, DQ989311).

Дальнейшему анализу на выявление гомологий подвергли изоляты вируса типа *C* (23 штамма/изолята). Первый локус локализуется на участке от

4100 до 4259 bp, при этом максимальная вариабельность отмечена у шести изолятов вируса (AY593804, AY593810, KM268897, MH053308, MH053309, MH053310). Второй локус локализуется на участке от 7778 до 7875 bp, при этом максимальная вариабельность отмечена у трех изолятов вируса (AY593810, MH053308, MH053310). И третий локус локализуется на участке от 7882 до 8010 bp, в его нуклеотидной последовательности существенно вариабельных штаммов/изолятов не выявлено.

Выявление гомологий среди изолятов вируса типа *SAT* проводили сразу по всем трем вариантам (*SAT1*, *SAT2*, *SAT3*), всего 74 штамма/изолята. Первый локус локализуется на участке от 4137 до 4296 bp, при этом максимальная вариабельность отмечена более чем у двадцати одного штамма/изолята вируса. Второй локус локализуется на участке от 7812 до 7909 bp, при этом максимальная вариабельность отмечена у двадцати трех штаммов/изолятов вируса. Третий локус локализуется на участке от 7916 до 8044 bp, при этом максимальная вариабельность отмечена у девяти изолятов вируса (FY461346, YX014255, YX014256, KC440884, MF678823, MF678824, MF678825, MF678826, MH053324). Однако критические нуклеотидные замены встречались в одних и тех же местах. Применение дополнительного зонда, с учетом трех замен, минимизирует вариабельность в нуклеотидной последовательности этих изолятов.

Таким образом, выявление гомологий среди штаммов/изолятов всех типов вируса позволило определить локус с минимальной вариабельностью. Кроме того, в ходе анализа установлены оптимальные участки для генерации олигонуклеотидных затравок, ориентация в геноме по изоляту *UGA/3/2002*, серотип *O* (GenBank ID MH053318), прямой праймер с 7913 по 7934 bp, обратный праймер с 8026 по 8043 bp и зонд в различных модификациях с 7988 по 8024 bp.

Все олигонуклеотидные затравки подвергались анализу на специфичность в программной утилите «nBLAST». В результате анализа установлена высокая специфичность анализируемых нуклеотидных последовательностей к геному вируса ящура. При более детальном анализе, исключив в параметрах поиска нуклеотидные последовательности генома вируса ящура, удалось обнаружить комплементарность прямого и обратного праймеров только к одному геному – *Triticum aestivum* (пшеница мягкая), а точнее к ее второй хромосоме (GenBank ID LS480641.1), при этом рассматривались организмы, покрытие последовательности в которых составило более 80 %. Однако амплификация генома *Triticum aestivum* с праймерами для индикации генома вируса ящура невозможна, так как в данном случае расстояние между посадкой прямого и обратного праймера составляет более 5 млн нуклеотидов. Олигонуклеотидные зонды во всех модификациях каких-либо гомологий по нуклеотидной последовательности с гетерологичными организмами не имели.

Таблица 1 / Table 1

Нуклеотидная последовательность праймеров и зондов для ПЦР

Nucleotide sequence of primers and probes for PCR assay

Определяемый патоген / VNTR маркер Certain pathogen / VNTR marker	Обозначение праймера/зонда Designation of primer/probe	Нуклеотидная последовательность 5' → 3' Nucleotide sequence 5' → 3'
FMDV	Fp FMDV	atctccgtggcaggactcgc
	Rp FMDV	tgggtgaacgccgtgtgc
	P FMDV	Rox-ttgagattccaagctacagatcactttacctgc-BHQ2
	Pas FMDV	Rox-ttcgagataccaagctacagatcgtctacctgc-BHQ2
	Psat FMDV	Rox-ttgagatccctagctacagatcactttacctgc-BHQ2
CSN3	Fp kappa	ttggcaggcacagtatttgaca
	Rp kappa	attactaccaacagaaccagttgca
	P kappa	Cy5-ttgaagaatttgggcaggtgacctaacgt-RTQ3
DGAT	Fp DGAT	cctcttctcaagctgtctctctac
	Rp DGAT	cctcaccagccttggcctt
	P DGAT	Cy5-acgtcaacctctgtgcccagagc-RTQ3

Кроме специфичных олигонуклеотидных затравок произведен дизайн олигонуклеотидных затравок для контроля реакции амплификации, в этом случае ДНК маркерами служили гены крупного рогатого скота, а именно CSN3, кодирующий белковомолочность, и DGAT, кодирующий жирномолочность крупного рогатого скота.

В пределах представленных выше локусов для индикации генома вируса ящура и ДНК-маркеров крупного рогатого скота произведен дизайн праймеров и зондов для ПЦР (табл. 1), при этом предъявлялись следующие требования: одинаковая температура плавления праймеров ($\pm 0,5$ °C); минимум димеров и вторичных структур; минимум GC на 3'-конце; для зонда – отсутствие G на 5'-конце (первый нуклеотид), а самое главное – минимальная вариабельность нуклеотидной последовательности (максимум две) в последовательности каждой олигонуклеотидной затравки.

Результат дизайна олигонуклеотидных затравок как специфических, так и для контроля амплификации представлен в табл. 1.

Таким образом, индикация всех штаммов/изолятов всех серотипов вируса ящура достигается с использованием трех модификаций олигонуклеотидного зонда. Первый зонд (P FMDV) служит для

выявления основного количества штаммов/изолятов вируса. Вторая модификация зонда (Pas FMDV) позволяет выявлять не выявленные предыдущим зондом два изолята вирусов серотипа *Asia-1*, а особенности полиморфизма девяти изолятов серотипов *SAT1* и *SAT2* и одного изолята серотипа *A* при их индикации учитывает третий зонд (Psat FMDV).

Анализ сочетаемости специфичных и контролирующих ПЦР олигонуклеотидных затравок представлен в табл. 2.

Для контроля амплификации выбран локус в рамках гена, кодирующего белковомолочность крупного рогатого скота, так как его олигонуклеотидные затравки характеризуются отсутствием гомологий с целевыми праймерами для индикации вируса ящура, и, как следствие, оказывают минимальное влияние на амплификацию со специфичными праймерами.

Разработанные праймеры для индикации вируса ящура имеют температуру плавления ($58,6 \pm 0,1$) °C, а праймеры для контроля амплификации – ($55,45 \pm 0,15$) °C, такая разница температур подразумевает более благоприятные условия амплификации специфичных праймеров (при температуре отжига 58,5 °C) и минимизирует влияние олигонуклеотидов для контроля амплификации на ход реакции.

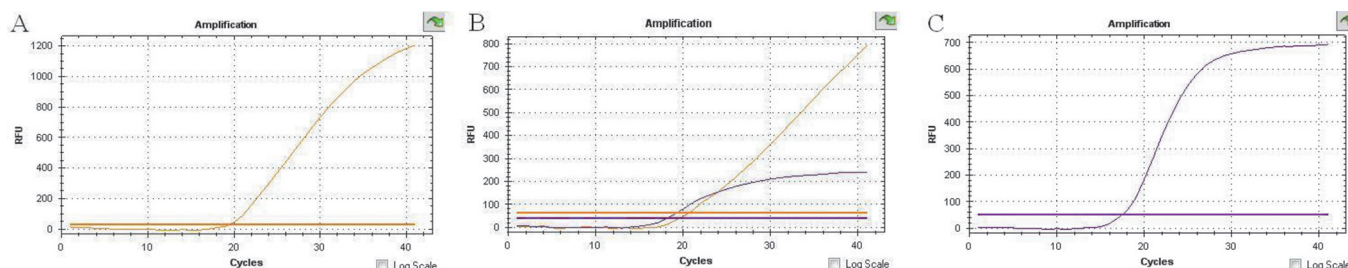
Для контроля результата амплификации создан

Таблица 2 / Table 2

Гомология целевых олигонуклеотидов с тестовыми олигонуклеотидами для контроля амплификации

Homology of target oligonucleotides with test oligonucleotides for control of amplification process

Анализируемые олигонуклеотиды Nucleotides under study	Fp FMDV (%)	Rp FMDV (%)	P FMDV (%)	Pas FMDV (%)	Psat FMDV (%)
Fp kappa	-	-	-	-	-
Rp kappa	-	-	51,9	-	51,9
P kappa	-	-	-	-	-
Fp DGAT	-	-	-	-	-
Rp DGAT	-	-	23,2	-	-
P DGAT	-	31,3	-	-	-



Амплификация маркерного локуса для индикации вируса ящура:

A – амплификация плазмидного контроля; B – амплификация плазмидного контроля и ДНК крупного рогатого скота; C – амплификация ДНК крупного рогатого скота

Amplification of marker locus for indication of FMD virus:

A – amplification of plasmid control; B – amplification of plasmid control and cattle DNA; C – amplification of cattle DNA

положительный контроль со специфической вставкой маркерной последовательности (5'atctcgtggcag gactcgccgtccactctggacgtgacgagtagccggcgtctctttgagcccttc cagggtctctttgagattccaagctacagatcactttacgtgcgttggtgaac gcsgtgc3') для индикации вируса ящура в плазмидной ДНК. Вставку маркерной последовательности в плазмиду «pAL2-T» заказали в ЗАО «Евроген». Для проверки работоспособности разработанных олигонуклеотидных затравок и плазмидного контроля амплифицировали ДНК крупного рогатого скота и плазмидного контроля с разработанными выше праймерами и зондами (специфическими и для контроля амплификации). Результат амплификации изображен на рисунке.

Амплификация с олигонуклеотидными затравками для индикации вируса ящура была результативной как в отдельной ПЦР с положительным плазмидным контролем, так и в сочетании с ДНК крупного рогатого скота. Во всех случаях в реакционной смеси присутствовали праймеры/зонды для индикации вируса и внутреннего контроля амплификации, а концентрация плазмидной ДНК составила $1 \cdot 10^8$ ДНК копий/мкл (рис. А и В). При отдельной амплификации с ДНК крупного рогатого скота перекрестных реакций с праймерами/зондами для индикации и вируса ящура не проявлялось. Индикация амплификации с олигонуклеотидными затравками для выявления вируса ящура осуществлялась по каналу Rox, а индикация внутреннего контроля амплификации осуществлялась по каналу Cy5.

Таким образом, анализ варибельности нуклеотидных последовательностей геномов различных серотипов и штаммов/изолятов внутри каждого серотипа позволил выявить locus, характеризующийся максимальной консервативностью. Однако в геномах некоторых изолятов вируса обнаружен высокий уровень полиморфизма относительно ПЦР-зонда (у 12 изолятов по серотипам A, Asia1, SAT1 и SAT2). Устранить влияние такой варибельности на количество выявляемых изолятов вируса позволяют модификации ПЦР-зонда (Pas FMDV и Psat FMDV).

Теоретическую проверку возможности специфической амплификации представленных праймеров/зондов с геномом может любой специалист в об-

ласти генетического анализа, а испытать на практике и использовать для индикации генома вируса ящура в повседневной работе могут сотрудники специализированных ПЦР-лабораторий, аттестованных для работы с вирусами II группы патогенности.

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

Список литературы

1. Тимина А.М., Зиняков Н.Г., Щербаков А.В., Лозовой Д.А. Филогенетический анализ изолятов вируса ящура, выявленных на постсоветском пространстве и в Монголии в 2016 году. *Ветеринария сегодня*. 2017; 4:3–8.
2. Мищенко А.В. Особенности клинической диагностики ящура свиней. *Ветеринария Кубани*. 2014; 2:13–4.
3. Мищенко А.В., Мищенко В.А., Шевкопляс В.Н., Кривонос Р.А., Черных О.Ю. Проблема клинической диагностики ящура у овец и коз. *Ветеринария Кубани*. 2016; 6:8–10.
4. Рамешвар Д., Паршин П.А., Сухарев О.И., Макаров В.В. Особенности эпизоотологии ящура в Непале. *Ветеринарная патология*. 2009; 4:96–104.
5. Никифоров В.В., Майорова Т.К., Караулов А.К., Спиридонов А.Н., Саввин А.В. Восприимчивость и роль диких животных при ящуре. *Ветеринария сегодня*. 2014; 1:35–40.
6. Miller R.S., Sweeney S.J., Sloomaker C., Grear D.A., Di Salvo P.A., Kiser D., Shwiff S.A. Cross-species transmission potential between wild pigs, livestock, poultry, wildlife, and humans: implications for disease risk management in North America. *Sci Rep*. 2017; 7(1):7821. DOI: 10.1038/s41598-017-07336-z.
7. Ятусевич А.И., Семенов В.М., Максимович В.В., Карасев Н.Ф., Мироненко В.М., Багрецов В.Ф. Заразные болезни, общие для животных и человека. Справочное пособие «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». Витебск: Учреждение образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»; 2011. 480 с.
8. Турдиев Ш.А., Косумбеков М.И., Джумаев Ш.Н., Зуурбекова О.С., Азизбеков М., Наврузбекова М.Д. Серологические исследования ящура животных в Горно-Бадахшанской автономной области. *Доклады Таджикской академии сельскохозяйственных наук*. 2016; 4:49–51.
9. Яковлева А.С., Каньшина А.В., Щербаков А.В., Орлова Е.С. Разработка и валидация тест-системы ЗАВ-ИФА для обнаружения антител к неструктурным белкам вируса ящура в сыроворотках крови крупного и мелкого рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2015; 4:36–42.
10. Лозовой Д.А., Шишкова А.А., Доронин М.И., Медведева Н.Н., Тимина А.М. Применение ОТ-ПЦР-РВ для определения концентрации 146S компонента вируса ящура типов О/Саудовская Аравия и Asia-1/Shamir в полуфабрикатах вакцин. *Ветеринария*. 2017; 6:57–61.
11. Maree F.F., Blignaut B., de Beer T.A., Rieder E. Analysis of SAT Type Foot-And-Mouth Disease Virus Capsid Proteins and the Identification of Putative Amino Acid Residues Affecting Virus Stability. *PLoS One*. 2013; 8(5):e61612. DOI: 10.1371/journal.pone.0061612.
12. Yang M., Goolia M., Xu W., Bittner H., Clavijo A. Development of a quick and simple detection methodology for foot-and-mouth disease virus serotypes O, A and Asia 1 using a generic RapidAssay Device. *Virol. J*. 2013; 10:125. DOI: 10.1186/1743-

422X-10-125.

13. Тимина А.Н., Щербakov А.В. Определение основных характеристик ОТ-ПЦР в реальном времени, предназначенной для обнаружения вируса ящура всех серотипов. *Труды федерального центра охраны здоровья животных*. 2016; 14:7–19.

14. Ндаишимийе Э.В., Хаммадов Н.И., Осянин К.А., Фаизов Т.Х., Шуралев Э.А., Мукминов М.Н. Биоинформационный анализ олигонуклеотидов для молекулярно-генетической индикации возбудителей аспергиллеза и аскофероза пчел. *Ветеринарный врач*. 2015; 2:3–9.

15. Khammadova A.V., Shuralev E.A., Khammadov N.I., Oumarou B.M., Faizov T.K., Mukminov M.N. Design of primers for identification of honey bee viruses in multiplex-PCR. *Astra Salvensis*. 2017; 1(5):481–90.

References

1. Timina A.M., Zinyakov N.G., Shcherbakov A.V., Lozovoy D.A. Phylogenetic analysis of FMD virus isolates detected in the post-Soviet area and in Mongolia. *Veterinariya segodnya [Veterinary Science Today]* 2017; 4:3–8.

2. Mishchenko A.V. Peculiarities of clinical diagnostics of swine foot and mouth disease. *Veterinariya Kubani [Veterinary Medicine of Kuban]*. 2014; 2:13–4.

3. Mishchenko A.V., Mishchenko V.A., Shevkoptyas V.N., Krivonos R.A., Chernykh O.Yu. Problems of clinical diagnostics of FMD in sheep and goats. *Veterinariya Kubani [Veterinary Medicine of Kuban]*. 2016; 6:8–10.

4. Rameshvar D., Parshin P.A., Suharev O.I., Makarov V.V. Peculiarities of foot and mouth disease epizootiology in Nepal. *Veterinarnaya patologiya [Veterinary Pathology]*. 2009; 4:96–104.

5. Nikiforov V.V., Majorova T.K., Karaulov A.K., Spiridonov A.N., Savvin A.V. Susceptibility to and the role of wild animals in foot and mouth disease. *Veterinariya segodnya [Veterinary Science Today]*. 2014; 1:35–40.

6. Miller R.S., Sweeney S.J., Sloomaker C., Grear D.A., Di Salvo P.A., Kiser D., Shwiff S.A. Cross-species transmission potential between wild pigs, livestock, poultry, wildlife, and humans: implications for disease risk management in North America. *Sci Rep*. 2017; 7(1):7821. DOI: 10.1038/s41598-017-07336-z.

7. Yatushevich A.I., Semenov V.M., Maksimovich V.V., Karasev N.F., Mironenko V.M., Bagrecov V.F. Contagious diseases, common for animals and humans. In: [Reference book “Vitebsk State Academy of veterinary medicine”]. Vitebsk; 2011. 480 p.

8. Turdiev Sh.A., Kosumbekov M.I., Dzhumayev Sh.N., Zurbekova O.S., Azizbekov M., Navruzbekova M.D. Serological studies of animal foot and mouth disease in Gorno-Badakhshansk Autonomous Region. [Reports of Tadzhik Academy of Agricultural Science]. 2016; 4(50):49–51.

9. Yakovleva A.S., Kan'shina A.V., Shcherbakov A.V., Orlova E.S. Development and validation of ZAV-EIA test-system for the detection of antibodies to non-structural proteins of FMD virus in blood sera of cattle and small ruminants. *Veterinariya segodnya [Veterinary Science Today]*. 2015; 4(15):36–42.

10. Lozovoy D.A., Shishkova A.A., Doronin M.I., Medvedeva N.N., Timina A.M. [Application of real-time RT-PCR for determination of 146S component concentration of FMD virus types O/Saudi Arabia and Asia-1/Shamir in intermediate vaccines]. *Veterinariya [Veterinary]*. 2017; 6:57–61.

11. Maree F.F., Blignaut B., de Beer T.A., Rieder E. Analysis of SAT Type Foot-And-Mouth Disease Virus Capsid Proteins and the Identification of Putative Amino Acid Residues Affecting Virus Stability. *PLoS One*. 2013; 8(5):e61612. DOI: 10.1371/journal.pone.0061612.

12. Yang M., Goolia M., Xu W., Bittner H., Clavijo A. Development of a quick and simple detection methodology for foot-and-mouth disease virus serotypes O, A and Asia 1 using a generic RapidAssay Device. *Virology*. 2013; 10:125. DOI: 10.1186/1743-422X-10-125.

13. Timina A.N., Shcherbakov A.V. Evaluation of basic characteristics of real-time RT-PCR designed for the detection of foot and mouth disease virus of all serotypes. [Works of the Federal Center for Animal Health Protection]. 2016; 14:7–19.

14. Ndaishimije E.H.V., Hamadov N.I., Oseyanin K.A., Faizov T.H., Shuralev E.A., Mukminov M.N. Bioinformation analysis of oligonucleotides for molecular-genetic indication of bee aspergillosis and ascospherosis agents. *Veterinarny vrach [Veterinary Physician]*. 2015; 2:3–9.

15. Khammadova A.V., Shuralev E.A., Khammadov N.I., Oumarou B.M., Faizov T.K., Mukminov M.N. Design of primers for identification of honey bee viruses in multiplex-PCR. *Astra Salvensis*. 2017; 1(5):481–90.

Authors:

Khammadov N.I. Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Nauchnyy Gorodok-2, Kazan, Tatarstan, 420075, Russian Federation. E-mail: vnivi@mail.ru.

Об авторах:

Хаммадов Н.И. Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности. Российская Федерация, 420075, Татарстан, г. Казань, Научный городок-2. E-mail: vnivi@mail.ru.

Поступила 04.02.18.

Отправлена на доработку 05.03.19.

Принята к публ. 13.03.19.