

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
Журнал индексируется в Scopus*

Выпуск 4

2020

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
и Scopus

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
Е.Ю. Лашкова, В.В. Россошанская
Технический редактор *Т.К. Меркулова*
Перевод на английский
А.П. Ножкиной, Т.Б. Караваевой

Проблемы особо опасных инфекций.
2020. Вып. 4. 150 с.

Подписано в печать 25.12.2020
Формат 60×84 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 18,75
Гарнитура Таймс. Заказ 308-21/29011

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

© Федеральное казенное учреждение
здравоохранения «Российский научно-
исследовательский противочумный
институт «Микроб», 2020

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)
Кейта С., канд. мед. наук (Конакри, Гвинейская Республика)
Мотин В.Л., профессор (Галвестон, США)
Скурник М., профессор (Хельсинки, Финляндия)
Титов Л.П., докт. мед. наук, профессор, член-корр. НАН Беларуси,
иностраннный член РАН (Минск, Беларусь)
Цогбадрах Нямдорж, канд. мед. наук (Улаанбаатар, Монголия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Альховский С.В., докт. биол. наук (Москва, Россия)
Андаев Е.И., докт. мед. наук (Иркутск, Россия)
Бугоркова С.А., докт. мед. наук (Саратов, Россия)
Викторов Д.В., докт. биол. наук (Волгоград, Россия)
Гулий О.И., докт. биол. наук (Саратов, Россия)
Ерошенко Г.А., докт. биол. наук (Саратов, Россия)
Жарникова И.В., докт. биол. наук (Ставрополь, Россия)
Карпунина Л.В., докт. биол. наук, профессор (Саратов, Россия)
Кругликов В.Д., докт. мед. наук, с. н. с. (Ростов-на-Дону, Россия)
Малецкая О.В., докт. мед. наук, профессор (Ставрополь, Россия)
Микеров А.Н., докт. биол. наук (Саратов, Россия)
Пеньевская Н.А., докт. мед. наук, доцент (Омск, Россия)
Попов Н.В., 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)

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Красько А.Г., канд. мед. наук, доцент (Минск, Беларусь)
Магассубо Н., канд. биол. наук (Гвинейская Республика)
Мека-Меченко Т.В., докт. мед. наук (Алматы, Казахстан)
Усенбаев Н.Т., канд. мед. наук (Бишкек, Кыргызстан)
Цэрэнноров Дамдиндорж, канд. мед. наук (Улаанбаатар, Монголия)

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

2020, Issue 4

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

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

Editor-in-Chief: *Kutyrev V.V.*, 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)
Keita S., Ph. D, Conakry, Republic of Guinea
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)
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 Namdorj, Ph. D. (Ulaanbaatar, Mongolia)

Editorial Board

Alkhovsky S.V., Doctor of Biological Science (Moscow, Russia)
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)
Magassouba N., Ph. D, Conakry, Republic of Guinea
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)
Pen'evskaya N.A., Doctor of Medical Science, Associate Professor (Omsk, Russia)
Popov N.V., 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)
Shemyakin I.G., Doctor of Biological Science, Professor (Obolensk, Russia)
Shcherbakova S.A., Doctor of Biological Science (Saratov, Russia)
Toporkov V.P., Doctor of Medical Science, Professor (Saratov, Russia)
Tserennorov Damdindorj, Ph. D. (Ulaanbaatar, Mongolia)
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

- Комиссаров А.В., Морозов К.М., Перепелица А.И., Ульянов А.Ю., Волох О.А., Никифоров А.К. Обеззараживание биологических аэрозолей в удаляемом газе при проведении стадии ферментации биотехнологического процесса 6

- Полещук Е.М., Сидоров Г.Н. Анализ особенностей эпизоотолого-эпидемической ситуации и риск заражения бешенством в Российской Федерации в начале XXI века 16

- Шарова И.Н., Красовская Т.Ю., Казорина Е.В., Казанцев А.В., Проскурякова М.В., Куклев В.Е., Щербакова С.А., Кутырев В.В., Адилев Р.И., Булычева Е.В., Троицкая А.А., Агапов Б.Л., Акимов И.С., Балган О.Л., Чумакова Н.А., Ткаченко В.А., Глушков Э.А., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Мищенко А.И., Мухтургин Г.Б. Опыт и перспективы использования мобильных лабораторий при проведении эпидемиологического надзора за чумой, другими особо опасными, природно-очаговыми, зоонозными инфекционными болезнями 26

Оригинальные статьи

- Балахонov С.В., Чеснокова М.В., Пережогин А.Н., Никитин А.Я., Каверзина С.В., Бренева Н.В., Дугаржапова З.Ф., Савиных Д.Ф., Поталицина Н.Е., Гаврилова Т.А., Лиханова Н.А., Чумаченко И.Г., Хакимова М.И. Эпидемиологическая ситуация по COVID-19 в Иркутской области и прогноз ее распространения 34

- Борисевич Г.В., Кириллова С.Л., Сидорова О.Н., Лебедев В.Н., Петров А.А., Овчинников А.В., Шатохина И.В., Сизикова Т.Е., Сазонов В.Е., Мухачева Е.С., Борисевич С.В. Анализ показателей клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов 41

- Волкова Н.В., Иванова А.В., Исаева А.А., Полежаева О.А., Зайковская А.В., Щербаков Д.Н., Казачинская Е.И. Получение рекомбинантных антигенов для проведения биологической диагностики лихорадки Марбург 47

- Германчук В.Г., Семакова А.П., Лобовикова О.А., Гордеева М.В., Шавина Н.Ю., Морозов К.М., Девдариани З.Л., Миронова Н.П. Эффективность установки СВЧ-излучения «Стериус 60» для обеззараживания объектов, загрязненных ПБА I–IV групп, при работе с инфицированными биомоделями 53

- Ерошенко Г.А., Балькова А.Н., Краснов Я.М., Нарышкина Е.А., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Денисов А.В., Оглодин Е.Г., Шавина Н.Ю., Марцоха К.С., Кутырев В.В. Сравнительный генетический анализ штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на плато Укок и других территориях Горного Алтая 59

- Кравцов А.Л., Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Девдариани З.Л., Кожевников В.А. Формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек при моделировании чумной инфекции у мышей, иммунизированных *Yersinia pestis* EV НИИЭГ 70

- Малецкая О.В., Таран Т.В., Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Волынкина А.С., Семенко О.В., Василенко Н.Ф., Тарасов М.А., Цапко Н.В. Природно-очаговые вирусные лихорадки на юге европейской части России. Крымская геморрагическая лихорадка 75

Reviews

- Komissarov A.V., Morozov K.M., Perepelitsa A.I., Ul'yanov A.Yu., Volokh O.A., Nikiforov A.K. Disinfection of Biological Aerosols in the Removed Gas During the Fermentation Stage of the Biotechnological Process

- Poleshchuk E.M., Sidorov G.N. Comparative Analysis of Features of Epizootiological and Epidemic Situation and Risk of Rabies Infection in the Russian Federation in Early XXI Century

- Sharova I.N., Krasovskaya T.Yu., Kazorina E.V., Kazantsev A.V., Proskuryakova M.V., Kuklev V.E., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V., Adilov R.I., Bulychева E.V., Troitskaya A.A., Agapov B.L., Akimov I.S., Balgan O.L., Chumakova N.A., Tkachenko V.A., Glushkov E.A., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Mishchenko A.I., Mukhturgin G.B. Lessons Learned from and Prospects of Using Mobile Laboratories for Epidemiological Surveillance over Plague, Other Particularly Dangerous, Natural-Focal, Zoonotic Infectious Diseases

Original articles

- Balakhonov S.V., Chesnokova M.V., Perezhogin A.N., Nikitin A.Ya., Kaverzina S.V., Breneva N.V., Dugarzhapova Z.F., Savinykh D.F., Potalitsina N.E., Gavrilova T.A., Likhanova N.A., Chumachenko I.G., Khakimova M.I. Epidemiological Situation on COVID-19 in Irkutsk Region and Forecast for its Spread

- Borisevich G.V., Kirillova S.L., Sidorova O.N., Lebedev V.N., Petrov A.A., Ovchinnikov A.V., Shatikhina I.V., Sizikova T.E., Sazonov V.E., Mukhacheva E.S., Borisevich S.V. Analysis of Cellular Component Indicators of Immune Status of Rhesus Macaques

- Volkova N.V., Ivanova A.V., Isaeva A.A., Polezhaeva O.A., Zaykovskaya A.V., Shcherbakov D.N., Kazachinskaya E.I. Obtaining Recombinant Antigens for the Development of Serological Diagnosis of Marburg Fever

- Germanchuk V.G., Semakova A.P., Lobovikova O.A., Gordееva M.V., Shavina N.Yu., Morozov K.M., Devdariani Z.L., Mironova N.P. Effectiveness of the “Sterius 60” SHF Radiation Installation for Disinfection of Objects Contaminated with PBA of Groups I–IV, when Working with Infected Biomodels

- Eroshenko G.A., Balykova A.N., Krasnov Ya.M., Naryshkina E.A., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Denisov A.V., Oglozin E.G., Shavina N.Yu., Martsokha K.S., Kutyrev V.V. Comparative Genetic Analysis of *Yersinia pestis* Strains Isolated on the Ukok Plateau and other Territories of the Altai Mountains

- Kravtsov A.L., Goncharova A.Yu., Bugorkova S.A., Devdariani Z.L., Kozhevnikov V.A. Formation of Neutrophil Extracellular Traps when Modeling Plague Infection in Mice Immunized with *Yersinia pestis* EV NIIEG

- Maletskaya O.V., Taran T.V., Prislegina D.A., Dubyansky V.M., Volynkina A.S., Semenko O.V., Vasilenko N.F., Tarasov M.A., Tsapko N.V. Natural-Focal Viral Fevers in the South of the European Part of Russia. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever

- Николаева И.В., Михайлова О.С., Ткачева С.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Зиятдинов В.Б., Алешкин В.А., Лютов А.Г. Клинико-лабораторная эффективность иммунозаместительной терапии геморрагической лихорадки с почечным синдромом..... 81
- Полежаева О.А., Зыбкина А.В., Зайковская А.В., Пьянков О.В., Пьянков С.А., Семенова А.В., Кочнева Г.В., Щербаков Д.Н. Получение иммуноглобулинов класса Y, нейтрализующих вирус Марбург..... 86
- Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Рязанова А.Г., Кузнецова И.В., Гнусарева О.А., Михайлова М.Е., Сирица Ю.В., Манин Е.А., Портенко С.А., Красовская Т.Ю., Куклев В.Е., Казакова Е.С., Данилевская М.М., Сафонова М.В., Тельнова Н.В., Иванова С.М., Лопатин А.А. Мобильные комплексы СПЭБ Роспотребнадзора как действенный инструмент при реализации мероприятий по противодействию новой коронавирусной инфекции COVID-19..... 92
- Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Чемисова О.С., Твердохлебова Т.И., Павлович Н.В., Водопьянов С.О., Цимбалистова М.В., Гаевская Н.Е., Воловикова С.Ф., Стенина С.И., Гудуева Е.Н., Сагакянц М.М., Алешкина А.В., Слиш С.С. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19..... 99
- Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Кутырев В.В., Кожанова О.И., Черкасская Т.С., Лялина В.И., Смирнов В.С., Бугоркова С.А., Портенко С.А., Найденкова Е.В., Щербакова С.А., Ломоносова В.И., Тотолян А.А. Характеристика популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 у жителей Саратова и Саратовской области в период эпидемии COVID-19..... 106
- Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Носков А.К., Ковалев Е.В., Карпушенко Г.В., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Чемисова О.С., Тришина А.В., Березняк Е.А., Воловикова С.В., Стенина С.И., Янович Е.Г., Мелоян М.Г., Асмолова Н.Ю., Усова А.А., Слиш С.С., Тотолян А.А. Оценка популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 на территории Ростовской области..... 117
- Раичич С.Р., Сабурова С.А., Шабейкин А.А., Симонова Е.Г. Оценка ситуации по сибирской язве на основе ранжирования территорий по степени риска..... 125
- Фролов Д.М., Тетерятникова Н.Н., Bui T.L.A., Захарова И.Б., Храпова Н.П. Разработка теста латекс-агглютинации для выявления патогенных буркхолдерий и его апробация в эндемичных регионах Вьетнама..... 133
- Шаров Д.А., Лешенко А.А., Багин С.В., Логвинов С.В., Мохов Д.А., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Крупин В.В., Косенков И.В. Усовершенствование технологии концентрирования микробных клеток в производстве вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания..... 139
- Nikolaeva I.V., Mikhailova O.S., Tkacheva S.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Ziatdinov V.B., Aleshkin V.A., Lyutov A.G. Clinical-Laboratory Effectiveness of Immune-Replacement Therapy of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome..... 81
- Polezhaeva O.A., Zybikina A.V., Zaikovskaya A.V., P'yankov O.V., P'yankov S.A., Semenova A.V., Kochneva G.V., Shcherbakov D.N. Preparation of Class Y Immunoglobulins that Neutralize the Marburg Virus..... 86
- Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Ryazanova A.G., Kuznetsova I.V., Gnosareva O.A., Mikhailova M.E., Siritsa Yu.V., Manin E.A., Portenko S.A., Krasovskaya T.Yu., Kuklev V.E., Kazakova E.S., Danilevskaya M.M., Safonova M.V., Tel'nova N.V., Ivanova S.M., Lopatin A.A. Mobile Complexes of the Specialized Anti-Epidemic Teams (SAET) of the Rospotrebnadzor as an Effective Tool in the Implementation of Measures to Counter New Coronavirus Infection COVID-19..... 92
- Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Noskov A.K., Kovalev E.V., Chemisova O.S., Tverdokhlebova T.I., Pavlovich N.V., Vodopyanov S.O., Tsimbalistova M.V., Gaevskaya N.E., Volovikova S.V., Stenina S.I., Gudueva E.N., Sagakyants M.M., Aleshukina A.V., Slis' S.S. Features of Etiology of Community-Acquired Pneumonia Associated with COVID-19..... 99
- Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Kuttyrev V.V., Kozhanova O.I., Cherkasskaya T.S., Lyalina V.I., Smirnov V.S., Bugorkova S.A., Portenko S.A., Naydenova E.V., Shcherbakova S.A., Lomonosova V.I., Totolyan A.A. Characteristics of the Herd Immunity to SARS-CoV-2 in Residents of the Saratov Region under COVID-19 Epidemic..... 106
- Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Noskov A.K., Kovalev E.V., Karpushchenko G.V., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Chemisova O.S., Trishina A.V., Berezhnyak E.A., Volovikova S.V., Stenina S.I., Yanovich E.G., Meloyan M.G., Asmolova N.Yu., Usova A.A., Slis' S.S., Totolyan A.A. Assessment of Population Immunity to SARS-CoV-2 Virus in the Rostov Region..... 117
- Raichich S.R., Saburova S.A., Shabeikin A.A., Simonova E.G. Assessment of the Situation on Anthrax Based on Ranking Territories by the Degree of Risk..... 125
- Frolov D.M., Teteryatnikova N.N., Bui T.L.A., Zakharova I.B., Khrapova N.P. Development of a Latex Agglutination Test for Detecting Pathogenic Burkholderia and its Approbation in the Endemic Regions of Vietnam..... 133
- Sharov D.A., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Logvinov S.V., Mokhov D.A., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Krupin V.V., Kosenkov I.V. Improvement of Microbial Cell Concentration Technology in the Production of Live Plague Vaccine in the Form of Orodispersible Tablets..... 139

Юбилеи

- К юбилею Геннадия Григорьевича Онищенко..... 146
- К юбилею Анны Юрьевны Поповой..... 147
- К юбилею Нины Ивановны Смирновой..... 148
- К юбилею Андрея Владимировича Топоркова..... 148
- К юбилею Алима Масгутовича Айкимбаева..... 149

Anniversaris

- To the Anniversary of Gennady G. Onishchenko..... 146
- To the Anniversary of Anna Yu. Popova..... 147
- To the Anniversary of Nina I. Smirnova..... 148
- To the Anniversary of Andrey V. Toporkov..... 148
- To the Anniversary of Alim M. Aikimbaev..... 149

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-6-15

УДК 615.28

А.В. Комиссаров, К.М. Морозов, А.И. Перепелица, А.Ю. Ульянов, О.А. Волох, А.К. Никифоров

ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ АЭРОЗОЛЕЙ В УДАЛЯЕМОМ ГАЗЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ СТАДИИ ФЕРМЕНТАЦИИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА

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

Основной целью данного обзора является рассмотрение литературных сведений по методическим приемам и инженерным решениям обеззараживания выводимых из оборудования газов, содержащих микроорганизмы, в процессе культивирования. Рассмотрены методические подходы и инженерные решения удаления или инактивации микроорганизмов, содержащихся в биологическом аэрозоле. На ряде примеров показаны преимущества и недостатки применяемых систем очистки биологических аэрозолей. Представлены данные о современных, не впитывающих влагу, мембранных фильтрах, анонсируемых производителями как элементы, позволяющие осуществлять стерилизацию воздуха, подаваемого для насыщения кислородом культуральной среды в биореакторах, и обезвреживание выводимого из них газа. Подробно рассмотрена сконструированная специалистами РосНИПЧИ «Микроб» система очистки отходящих из биореактора газов, в которой основным элементом являются гидрофобные фильтры на основе спеченной массы порошков никеля. Сформулированы требования для конструирования систем обезвреживания микроорганизмов в газах, выводимых от оборудования, в котором протекают биотехнологические процессы. Проведенный анализ данных литературы позволяет учесть отрицательные и положительные стороны описанных в обзоре решений при разработке методических приемов и инженерных решений обеззараживания выводимых из оборудования газов.

Ключевые слова: биологический аэрозоль, биотехнологические процессы, методические подходы, инженерные решения, удаление и инактивация микроорганизмов.

Корреспондирующий автор: Комиссаров Александр Владимирович, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Комиссаров А.В., Морозов К.М., Перепелица А.И., Ульянов А.Ю., Волох О.А., Никифоров А.К. Обеззараживание биологических аэрозолей в удаляемом газе при проведении стадии ферментации биотехнологического процесса. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:6–15. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-6-15

Поступила 03.07.19. Отправлена на доработку 27.11.19. Принята к публ. 18.09.20.

A.V. Komissarov, K.M. Morozov, A.I. Perepelitsa, A.Yu. Ul'yanov, O.A. Volokh, A.K. Nikiforov

Disinfection of Biological Aerosols in the Removed Gas During the Fermentation Stage of the Biotechnological Process

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

Abstract. The aim of this review is to consider the literature data on methods and engineering solutions for decontamination of gases vented from equipment, containing microorganisms, during the cultivation process. Methodological approaches and engineering solutions for the removal or inactivation of microorganisms contained in a biological aerosol are addressed. A number of examples demonstrate the advantages and disadvantages of biological aerosol decontamination systems used. Presented is the information about modern, non-moisture-absorbing membrane filters, announced by manufacturers as elements that allow for sterilization of air supplied for oxygen saturation of the culture medium in bioreactors and neutralization of the gas removed from them. Discussed in detail are designed by specialists of the Institute "Microbe" system for purification of exhaust gases from the bioreactor, where hydrophobic filters based on sintered mass of nickel powders are the main element. Requirements for the construction of systems for the neutralization of microorganisms in gases drawn off from equipment in which biotechnological processes take place are formulated.

Key words: biological aerosol, biotechnological processes, the removal or inactivation of microorganisms, methodological approaches and engineering solutions.

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

Corresponding author: Alexander V. Komissarov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Komissarov A.V., Morozov K.M., Perepelitsa A.I., Ul'yanov A.Yu., Volokh O.A., Nikiforov A.K. Disinfection of Biological Aerosols in the Removed Gas During the Fermentation Stage of the Biotechnological Process. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:6–15. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-6-15

Received 03.07.19. Revised 27.11.19. Accepted 18.09.20.

Komissarov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1609-0384>

Morozov K.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5727-0042>

Ul'yanov A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6933-8278>

Volokh O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>

Nikiforov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1130-3504>

Одной из важнейших задач производства иммунобиологических препаратов, особенно при работе с микроорганизмами I–II групп патогенности, является обеспечение биологической безопасности персонала и окружающей среды. В ряде биотехнологических процессов используются микроорганизмы различной патогенности. В частности, в производственном процессе получения холерной химической таблетированной вакцины, на технологическом этапе культивирования *Vibrio cholerae*, применяются вирулентные штаммы, относящиеся ко II группе патогенности. В процессе аэробного глубинного культивирования микроорганизмов в биореакторе неизбежно образуется аэрозоль, содержащий выращиваемые микроорганизмы. Это обуславливает ужесточение мер биологической безопасности. Вышеназванное определяет актуальность критического рассмотрения литературных сведений по методическим приемам и инженерным решениям обеззараживания выводимых из оборудования газов, содержащих микроорганизмы, при протекании биотехнологических процессов, и формулирование требований для конструирования систем обезвреживания микроорганизмов в газах, выводимых от оборудования, в котором протекают биотехнологические процессы.

Методические подходы и инженерные решения удаления или инактивации микроорганизмов, содержащихся в биологическом аэрозоле. Обзор сведений, имеющихся в научной литературе, патентах на изобретение и нормативных документах, выявил многообразие методических подходов и инженерных решений удаления или инактивации микроорганизмов, содержащихся в биологическом аэрозоле.

В нормативном документе (Методические указания МУ 1.3.2411-08), определяющем требования биологической безопасности при глубинном аппаратном культивировании микроорганизмов I–II групп патогенности, изложены технические решения для обеззараживания биоаэрозоля, отводимого из культурального сосуда (емкость 0,4 дм³) при выращивании бактерий I–II групп патогенности. Для предохранения от выхода биоаэрозолей в окружающую среду биореактор снабжен двумя уровнями защиты, состоящими из соединенных между собой скрубберов, заполненных 2,5 % раствором формалина, а также тканевого фильтра. Необходимым условием для работы является установка биореактора и оборудования для обеззараживания отводимого биоаэрозоля в бокс биологической безопасности. Кроме того, рекомендуется устранять чрезмерное образование пены применением синтетических антивспенивателей.

В известном из литературных данных [1–3] аппарате для выращивания микроорганизмов обеззараживание биоаэрозоля осуществляют его пропусканием через дезинфицирующие растворы, помещенные в герметичные сосуды. Работа с патогенными микробами предусматривает помещение культурального сосуда и емкостей с дезинфектантом в бокс биологи-

ческой безопасности. Пропускание биоаэрозоля через растворы дезинфектантов уменьшает концентрацию активного вещества, и возникает вероятность неполной инактивации микробов и, следовательно, проникновения их в окружающую среду. Также вызывает сомнение возможность применения боксирующего устройства в условиях производственного культивирования.

Конструктивное решение системы обеззараживания выводимых газов из лабораторной машины для проведения процесса культивирования микроорганизмов включает рубашку-конденсатосборник (для осушивания биоаэрозоля) и систему его стерилизующей фильтрации [4]. Близкая по техническим решениям система [5–6] включает два теплообменника, сборник конденсата и также систему стерилизующей фильтрации. В один из теплообменников подается пар для нагревания газов, в другой – холодная вода для их охлаждения. К несовершенству названных решений можно отнести вероятность впитывания влаги фильтрами системы стерилизующей фильтрации в случае отсутствия названных теплоносителей и, как следствие, реальную угрозу проникновения биоаэрозоля в окружающую среду.

Принцип стерилизующей фильтрации газов был использован Г.К. Малкольмом при разработке мембранной оболочки, предназначенной для выращивания биологических объектов. Данная оболочка, по мнению автора, не мешает прохождению света и газов из окружающей среды. Вместе с тем она препятствует проникновению микроорганизмов как из внешней среды, так и в нее [7]. Похожее техническое решение использовано в исследовательских аппаратах выращивания микроорганизмов на борту околоземных станций [8, 9].

На рис. 1 изображена конструкция устройства культивирования культур клеток. Согласно принятым техническим решениям, газы, образующиеся в процессе размножения клеток, проходят последовательно через имеющийся зазор между трубой 11 и стаканом 16, попадают в канал 12 через отверстие 14 и, очищаясь на фильтре 20, попадают в окружающую среду [10].

По нашему мнению, вызывает сомнение гарантированное обеспечение очистки от микроорганизмов выводимых из аппарата газов в силу ряда обстоятельств: вероятность впитывания фильтром 20 влаги в случае сильного образования пены, а при неуправляемом увеличении уровня среды выращивания, содержащей микроорганизмы, их проникновение через канал 12 и фильтр 20 в атмосферу.

На рис. 2 показана конструкция системы очистки от микроорганизмов, содержащихся в воздушной среде, отводимой из установок культивирования и высушивания. Биоаэрозоль частично очищается от микроорганизмов в камере орошения 2 за счет их уноса с водой, подаваемой через распылитель 5. В камеру стерилизации 3 встроены зигзагообразные пластины, в полость которых подается пар.

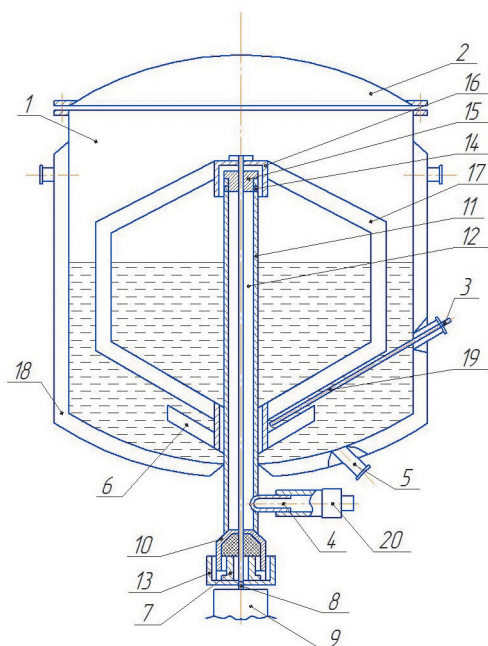


Рис. 1. Конструкция устройства культивирования культур клеток

Fig. 1. Design of the unit for cell culture cultivation

Микроорганизмы биоаэрозоля, после их частичного удаления в камере орошения, проходят в стерилизационной камере температурную инактивацию за счет нагрева пластин паром [11]. Орошение водой биоаэрозоля вызывает попадание микроорганизмов в отработанную жидкость и, как следствие, необходимость ее обеззараживания. Это приводит к увеличению эксплуатационных расходов. Кроме того, отсутствие пара предполагает невозможность применения данной системы очистки.

Для удаления микроорганизмов из биоаэрозоля при производстве дрожжей похожие технические решения предложены А.А. Туром с соавт. Удаление дрожжей осуществляется в силу их инерционного уноса с промывными жидкостями [12–14]. Эти установки не гарантируют полного удаления микроорганизмов из газовой среды. В силу этого их использо-

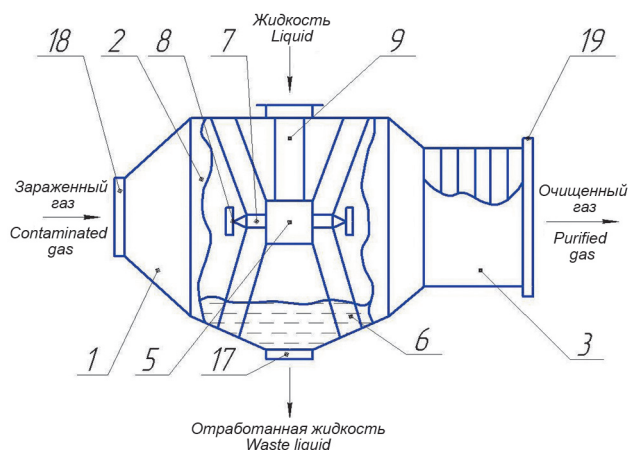


Рис. 2. Конструкция системы очистки от микроорганизмов

Fig. 2. Design of the system for the removal of microorganisms

вание при культивировании патогенных микроорганизмов вряд ли целесообразно.

На рис. 3 показана конструкция устройства для удаления микроорганизмов из газа, отводимого от культиватора [15]. Согласно описанию, выводимый газ через патрубок входа 2 поступает в камеру смешения 4 и далее попадает в сепаратор 5, где биоаэрозоль проходит неполную очистку от пены, а также приобретает вращательно-поступательное движение. Далее газ проходит по внешней площади подогревателя 7, аккумулируя тепло. Поступая в диффузор 9, газ, за счет смены направления движения на 180°, проходит в сопло 12, далее перемещается по поверхности оребренной конденсатора 16, образуя конденсат, сливающийся в культиватор по следующему пути: щель 17, конус 18 и водосток 19. Далее биоаэрозоль проходит через конденсатор 20, где также конденсируется. Затем через узел 21 он нагревается, проходя через подогреватель 7, и конденсирует влагу на сепараторах и диффузорах 22. Завершающая очистка биоаэрозоля происходит на фильтре 23. Охлаждающим агентом в конденсаторах является водопроводная холодная вода, с одним существенным ограничением – температура не может превышать 14 °С. По нашему мнению, обратный отвод в культиватор конденсата биоаэрозоля влечет вероятность контаминации посторонней микрофлорой среды культивирования. Также не всегда имеется возможность применения воды для охлаждения с температурой, не превышающей 14 °С.

В работе Е.Р. Валашека дано описание технических решений обеззараживания газовой смеси, выходящей из культиватора. Система очистки включает конденсатор, предназначенный для конденсации

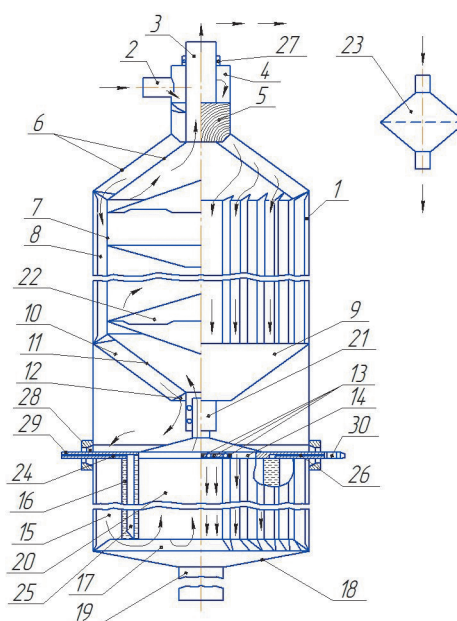


Рис. 3. Схема устройства для удаления микроорганизмов из газа, отводимого от культиватора

Fig. 3. The scheme of the unit for the removal of microorganisms from gas exhausted from cultivator

пара и возврата конденсата в биореактор. Затем газовая смесь попадает в сепаратор ударно-инерционного действия, в котором осуществляется очистка газа от жидкости, возвращаемой обратно в культиватор. Применение в конструкции системы очистки нагревателя позволяет уменьшить относительную влажность газовой смеси за счет увеличения ее температуры на 10–15 °С. Перед выбросом в окружающую среду газовая смесь очищается от микроорганизмов, проходя через стерилизующие фильтр-элементы [16]. Конструкция для инактивации микроорганизмов в аэрозоле, отводимом из ферментера, представляет теплообменник «труба в трубе». Через внутреннюю трубу проходит биоаэрозоль, а в наружную поступает пар. Инаktivация микроорганизмов производится за счет нагрева газа паром через стенку внутренней трубы [17]. Похожая система применена Ю.В. Редикульцевым с соавт. для обеззараживания газов, выводимых из биореактора. Кроме того, газы, до их нагрева, следуют первоначально через конденсатор, в который поступает холодная вода [18]. Недостатком названных технических решений является постоянная потребность в паре. Также применение пара является причиной дополнительных теплопоступлений на рабочее место персонала.

Исследователями выявлена возможность применения ультрафиолетового облучения для уничтожения небольшого количества микробов в воздушных аэрозолях. Вместе с тем они обращали внимание на существенный недостаток – необходимость регулярной очистки и проверки бактерицидных ламп [19]. Определенный интерес представляли сведения о конструктивных решениях, реализующих энергию ультрафиолетового облучения для инактивации микроорганизмов. Так, устройство для обеззараживания воздуха состоит из корпуса, содержащего приемник газа с фильтрующим элементом и отсек вывода газа. Между этими отсеками имеется облучающая ультрафиолетом камера с экранирующими перегородками [20, 21]. Имеются данные об устройстве для дезинфекции веществ во всех трех агрегатных состояниях, включающем в себя продуктопровод и расположенные по обеим его сторонам источники ультрафиолетового излучения. При этом продуктопровод выполнен из материалов, пропускающих ультрафиолетовые лучи [22].

Между тем действенность облучения ультрафиолетовыми лучами в целях безоговорочной полной инактивации микроорганизмов внушает опасения. Выводы, сделанные G.R. Nicholas, являются доказательством этому. Он констатировал, что эффективность ультрафиолетового облучения для дезинфекции воздуха «остается неясной и основывается на исторических традициях, а не на фактических доказательствах» [23].

Имеются данные о способе обеззараживания жидких и газовых неэлектропроводных потоков, в которых присутствуют микроорганизмы, и осуществляющем его техническом средстве. Принцип рабо-

ты устройства состоит в следующем: микроорганизмы проходят через конструкцию, представляющую собой плоские параллельно расположенные друг от друга на расстоянии 0,2–0,6 см электроды, при этом к ним подается напряжение от 5000 до 25000 В. Знак заряда пары электродов чередуется от отрицательного к положительному. За счет разных по знаку электрических зарядов между микроорганизмами и парами электродов происходит микроразряд и осуществляется тепловыделение, под воздействием которого микробы (вирусы, риккетсии) инактивируются [24]. Кроме того, в разных литературных источниках приведено описание приспособлений, реализующих деструкцию микроорганизмов, имеющих в газовой среде, за счет ее ионизации в электрическом поле с высокой напряженностью [25–29].

С.Г. Дроздовым с соавт. предложено устройство установки термической инактивации биоаэрозоля (рис. 4), в которой используется нагревание биоаэрозоля электрическими элементами до температуры 400 °С [30]. Основными конструктивными элементами данного агрегата являются термозатвор 1 и теплообменник-охладитель 2. В свою очередь в состав термозатвора, являющегося цилиндрическим сосудом, входят смонтированные внутри теплообменник-подогреватель, а также отсек нагрева с электрическими элементами 3 и керамическим или металлическим наполнителем 4. Теплообменник-подогреватель обеспечивает первоначальный нагрев биоаэрозоля теплом, отводимым из установки обеззараженного газа. Достижение необходимой температуры биоаэрозоля в термозатворе контролируется датчиком 5.

Специалистами американского биологического центра «Кэмп-Детрик» предложен электрический инактиватор биоаэрозоля, выводимого от оборудования (рис. 5), основным элементом которого является электронагревательная спираль. Выявлено, что полная инаktivация клеток *Bacillus globigii* происходит от 3 до 24 с при температурах от 302 до 218 °С соответственно [31].

Коллективом авторов для инактивации микробов, содержащихся в газах, отводимых из небольших культиваторов, разработан электрический воздушный стерилизатор. Его применение, как констатируют разработчики, делает возможным инаktivацию микробов *Bacillus subtilis* при их содержании до 10^8 м.к./см³ с максимальной скоростью газовой смеси 1,5 м³/ч. Авторами выявлена необходимость поддержания температуры газовой смеси на выходе из воздушного стерилизатора не менее 480 °С [32]. Похожее решение предложено R. Elsworth *et al.* Авторами выявлено, что полная инаktivация клеток *B. subtilis*, при их содержании в биоаэрозоле $0,5 \cdot 10^8$ м.к./см³, возможна при нахождении в температурной зоне 300 °С не менее 0,14 с [33]. К главному недостатку примененных технических решений можно отнести малую концентрацию уничтожаемых микробов *B. subtilis*.

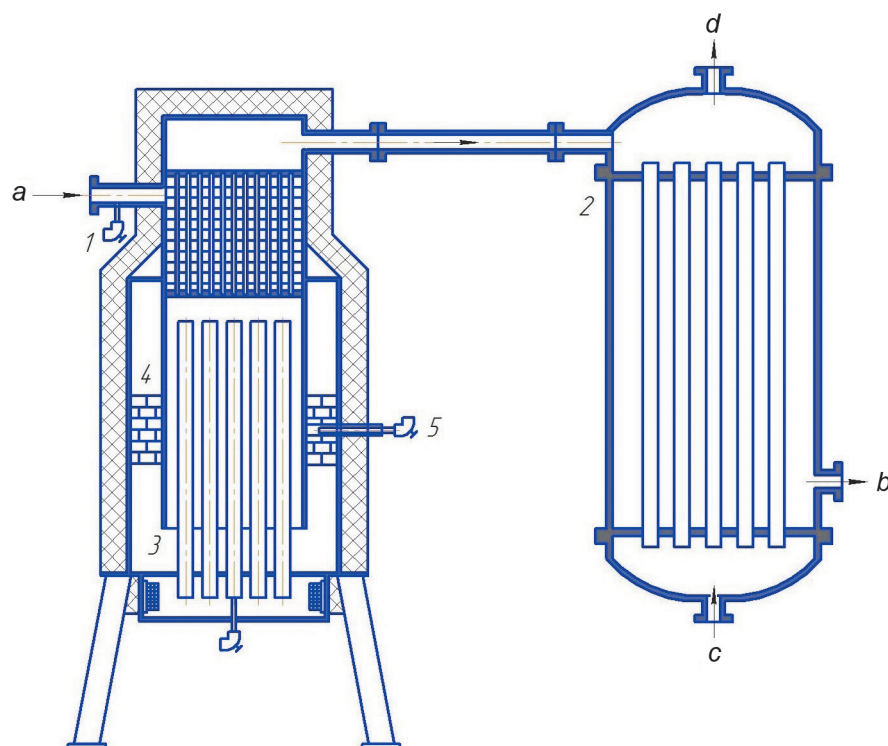


Рис. 4. Устройство установки термической инактивации биоаэрозоля:

a и *b* – вход биоаэрозоля и выход обеззараженного газа соответственно; *c* и *d* – подача и выход хладагента соответственно

Fig. 4. Structure of the apparatus for thermal inactivation of bio-aerosol:

a and *b* – input of bio-aerosol and output of decontaminated gas, respectively; *c* and *d* – supply and discharge of the cooling agent, respectively

Существенными изъянами конструктивных решений обеззараживания биоаэрозолей с применением электрической энергии представляются невозможность их эксплуатации при ее отсутствии, а также высокая энергоемкость процесса.

Исследователи определили возможность применения энергии сгорания мазута для инактивации микробных клеток *B. subtilis*, содержащихся в газах,

отходящих из технологических установок. Процесс обеззараживания протекал в изолированной камере воздушного сгорания. Выявлено достижение деструкции спор микроорганизма (от 10^{10} до 10^{12} м.к./см³) при температуре от 270 до 370 °С при скоростях биоаэрозоля, вводимого в отсек сжигания, 1700–3700 м³/ч [34]. Американскими учеными при замене мазута на природный газ показано обеззараживание

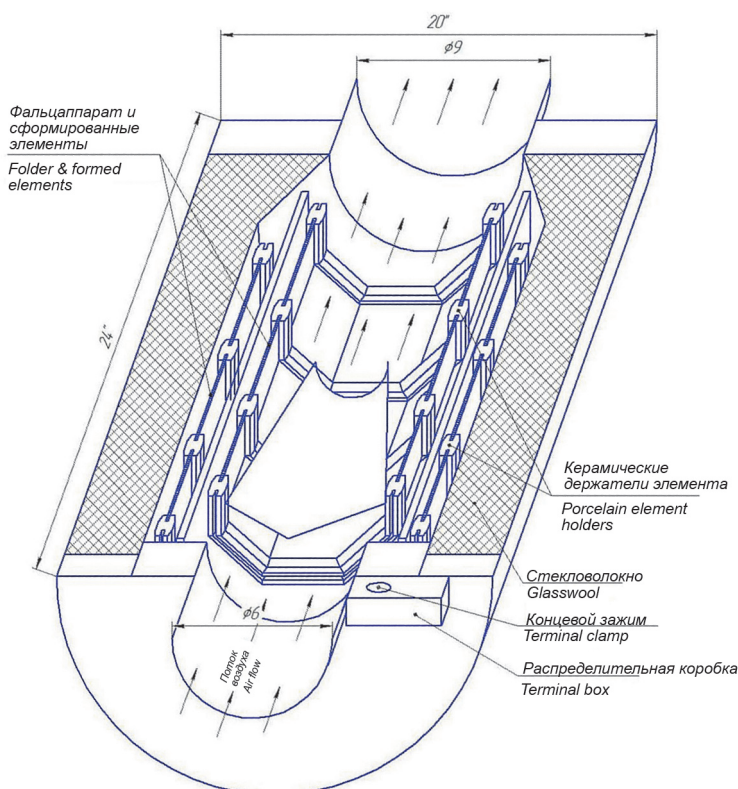


Рис. 5. Электрический инактиватор

Fig. 5. Electrical inactivator

спор *B. subtilis* (10^8 м.к./см³) при температуре в камере сжигания 450 °С и скорости биоаэрозоля от 1000 до 2000 м³/ч [35–36].

Очевидно, что тепловая инаktivация микроорганизмов, находящихся в выводимых от технологического оборудования газах, является довольно действенным методом. Между тем преградой его применению, по утверждению С.Г. Дроздова с соавт., служат большая цена агрегатного и приборного оснащения и значительные эксплуатационные затраты [30]. Проведенный анализ дат выхода в печать работ об использовании термических методов для обезвреживания биоаэрозолей позволил установить, что в текущем столетии не имеется публикаций по данной тематике. По всей видимости, высокая затратность сдерживает применение этого метода.

В работе Y. Chisti имеется ряд предложений по обеззараживанию газов, выводимых из культиватора:

- применение не впитывающих влагу фильтрующих элементов с порогом отсека 0,2 мкм;
- подогрев данных элементов с целью предупреждения конденсации водяных паров;
- применение устройств-пеносборников и теплообменников-охладителей, установленных до фильтра;
- использование, если есть возможность, тепловой инаktivации биоаэрозолей [37]. Кроме того, этим же исследователем делается акцент на необходимости использования процедур и устройств, позволяющих избегать сильного пенообразования при выращивании микроорганизмов, в частности применяя химические антипенники, а также механические способы разрушения пены [38].

Стерилизующая фильтрация биоаэрозолей.

С целью проведения стерилизующей фильтрации биоаэрозолей повсеместно биофармацевтическими предприятиями используются фильтрующие элементы, изготовленные с применением волокнистых материалов, обладающие большой площадью фильтрации. Предприятиями нашей страны производились фильтры тонкой очистки, обладающие пропускной способностью по воздуху до 1000 м³/ч. Так, в ФЭТО-750 в качестве фильтрующего материала использовалось пентахлорфеноловое волокно (ткань Петрянова). Данный фильтр, обладающий производительностью 750 м³/ч, использовался для стерилизующей фильтрации воздуха в системах вентиляции. В ФТО-60 применены волокна линейного полимера акрилонитрила. Этот фильтр, обладающий пропускной способностью по воздуху до 60 м³/ч, устанавливается, как правило, на линиях вывода от технологического оборудования газов. Несомненными плюсами вышеназванных фильтрующих элементов представляются высокая задерживающая способность микроорганизмов (значения коэффициента проскока по частицам 0,3 мкм составляют менее 0,001 %), а также достаточно малое сопротивление движению газовой среды (при потоке воздуха с расходом

0,05 м/с перепад давления составляет 0,1 МПа). К минусам фильтра относятся: гидрофильность и, как следствие этого, отсутствие возможности подвергать их обработке паром, а также низкая прочность фильтрующего материала [30].

На данный момент массово используются фильтры HEPA и ULPA. По классификации ГОСТ Р ЕН 1822-1-2010 они относятся к высокоэффективным и сверхвысокоэффективным соответственно и обладают значениями коэффициента проскока от 0,025 до 0,0001 %. Фильтрующий материал, уложенный «гармошкой», изготовлен из гидрофильных волокон толщиной 0,65–6,5 микрона, расположенных на расстоянии друг от друга порядка 10–40 микрон. Фильтрам HEPA и ULPA присущи те же недостатки, что и вышеназванным.

Привлекают к себе внимание не впитывающие влагу мембранные фильтры, анонсируемые производителями как элементы, позволяющие осуществлять стерилизацию воздуха, подаваемого для насыщения кислородом культуральной среды в биореакторах, и обезвреживание выводимого из них газа [39].

Для стерилизующей фильтрации воздуха американский концерн 3M Purification Inc. производит мембранные фильтры с порогом отсека 0,2 микрона из фторопласта торговой марки Microfluor. Фильтровальное оборудование представлено неразборными капсулами, а также сменными фильтрующими элементами. Компания позиционирует обеспечение стерилизующей способности при двухсотразовой паровой обработке с температурой 145 °С продолжительностью 0,5 ч. Следует отметить, что для обработки паром в линии могут использоваться исключительно сменные фильтрующие элементы [40]. Немецкий производитель Sartorius позиционирует сохранение эксплуатационных характеристик съемных фильтрующих картриджей марки Sartofluor, изготовленных из фторопласта при стопятидесятиразовой обработке паром со следующими температурно-временными параметрами: 145 °С, 0,5 ч [41]. НПП «Технофильтр» (Россия) и Amazon Filters (Великобритания) производятся почти полные аналоги Microfluor, правда, обеспечивающие сохранение свойств максимум после 100 паровых обработок [42, 43]. Американская компания Pall анонсирует неизменность характеристик мембранных сменных элементов марки Fluorodyne, предназначенных для стерилизующей фильтрации воздуха, до тридцатипятиразовой паровой стерилизации продолжительностью 1,0 ч с температурой 125 °С и десятиразовой – при 140 °С [44]. Для стерилизации технологического воздуха германский производитель Donaldson Ultrafilter создал глубинный фильтроэлемент, изготовленный на основе аксинитных нитей с невпитывающим влагу покрытием. Компания позиционировала возможность применения фильтра максимально после 100 паровых стерилизаций [45].

Между тем большая цена одной единицы названных фильтров (от 1000 до 2000 долларов США),

а также малый производственный ресурс, по нашему мнению, представляются препятствиями их применению.

Специалистами РосНИПЧИ «Микроб» успешно применены с целью очистки от микроорганизмов воздуха, вводимого в культиватор для снабжения кислородом растущей культуры холерного вибриона, российские фильтры, выпускаемые Уральским электротехническим комбинатом (АО «УЭХК», Новоуральск) [5, 6]. Фильтрующим материалом является спеченная масса порошков никеля. Производителем данная продукция позиционируется для ультратонкой фильтрации газов и имеет гигиенический сертификат Роспотребнадзора.

С использованием данных фильтров сконструирована система очистки отходящих из биореактора газов, принципиальная схема которой представлена на рис. 6 [46].

Система очистки 2 состоит из следующих элементов, соединенных трубопроводами: каплеуловителя 3, каскада фильтров (4 – фильтр ФП-5,0-КС-1-254/П-280, 5 – фильтр ФП-1,0-КС-1-254/П-280, 6 – два фильтра ФС-КС-1-254/А3-280), водокольцевого вакуумного насоса 7. Для контроля и регулирования процесса предусмотрены запорная арматура и контрольно-измерительные приборы.

Каплеуловитель предназначен для защиты каскада фильтров от избыточной влаги при пенообразовании и представляет собой емкость закрытого типа с рубашкой и технологическими патрубками. Каскад фильтров состоит из четырех фильтров предварительной, тонкой и сверхтонкой очистки, выполненных из никеля: фильтр ФП-5,0-КС-1-254/П-280 предназначен для очистки водяного пара от механических примесей. Размер проникающих частиц – не более 5,0 мкм; фильтр ФП-1,0-КС-1-254/П-280 предназначен для очистки водяного пара от механических примесей. Размер проникающих частиц – не более 1,0 мкм. Фильтры ФП-5,0-КС-1-254/П-280 и ФП-1,0-КС-1-254/П-280 обеспечивают осушку насыщенного водяного пара при стерилизации системы очистки отходящих газов; два фильтра ФС-КС-1-254/А3-280 предназначены для сверхтонкого и сте-

рилизирующего фильтрования воздуха и других газов. Эффективность очистки от частиц с размером более 0,01 мкм – более 99,999 %. Все перечисленные фильтры обладают требуемой эффективностью очистки, простотой обслуживания и надежностью в работе.

Предложенная система очистки работает следующим образом. При культивировании микроорганизмов отходящие из биореактора 1 газы за счет отрицательного давления, создаваемого вакуумным насосом 7, проходят последовательно через каплеуловитель 3, в котором происходит сбор пены, возникающей при выращивании микроорганизмов, и далее, очищаясь на каскаде фильтров (4, 5, 6), попадают в атмосферу. После культивирования проводят стерилизацию ферментера, каплеуловителя и каскада фильтров.

Стерилизация системы очистки выводимого газа осуществляется после стерилизации биореактора. Для этого с помощью вакуумного насоса 7 в полости каплеуловителя 3 создают отрицательное давление (минус 0,8 кгс/см²) и подают пар в рубашку каплеуловителя 3. При достижении в полости каплеуловителя температуры 98 °С закрывают краны на выходе газа из биореактора и выключают вакуумный насос. При достижении температуры в полости каплеуловителя 132 °С приоткрывают краны на выходе из биореактора. Регулируя расход паровоздушной смеси, поступающей из полости каплеуловителя, краном на выходе из биореактора, устанавливают значение температуры на выходе с каскада фильтров 132 °С. Время стерилизации – 90 мин. После истечения времени экспозиции прекращают подачу пара в рубашку каплеуловителя. По достижении системой очистки газов температуры 60 °С, включают вакуумный насос, открывают краны на входе и выходе газа из каплеуловителя для продувки каскада фильтров. Эффективность работы предложенной системы очистки проверена в производственных условиях при культивировании *V. cholerae* в течение более чем шести лет.

Анализ данных научной периодики, патентов на изобретения и нормативных документов позволил предъявить следующие основные требования к

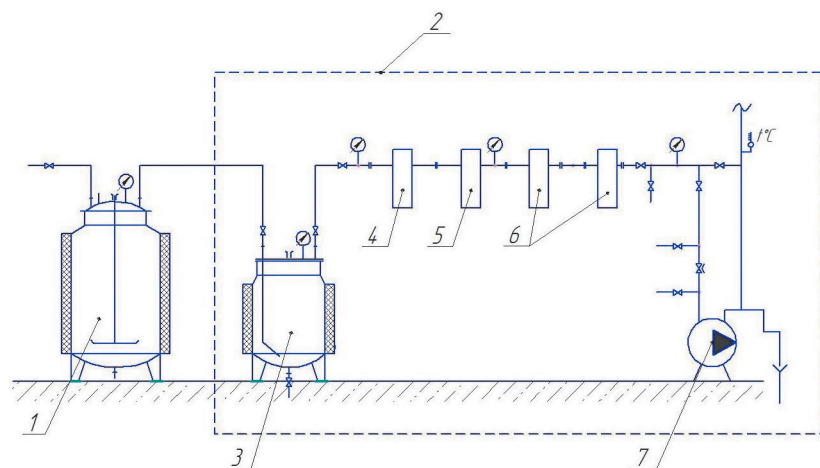


Рис. 6. Принципиальная схема системы очистки (пояснения в тексте)

Fig. 6. General layout of decontamination system (see explanations in text)

техническому и технологическому решению обеззараживания газовой смеси, выходящей из оборудования:

- техническое решение системы обеззараживания должно гарантировать не только невозможность проникновения микробного аэрозоля в окружающую среду, но и соблюдение требований асептики при работе с микроорганизмами;

- вывод микробного аэрозоля из оборудования необходимо проводить воздухом с отрицательным давлением;

- необходима разработка комплекса мероприятий, дающих возможность уменьшить уровень пены, неизбежно возникающей в процессе культивирования микроорганизмов;

- необходима установка сосуда с целью отделения пены из потока газов, выводимых из биореактора;

- необходимо использование не впитывающих влагу и выдерживающих паровую обработку фильтрующих элементов, обладающих высокой (сверх-высокой) эффективностью удержания микроорганизмов, как заключительной составляющей системы обеззараживания;

- необходимо устранение попадания неочищенного пара в фильтр высокой эффективности;

- необходимо изготовление элементов системы обеззараживания из веществ, устойчивых к воздействию агрессивных паров и жидкостей;

- нецелесообразно применение пара и воды с пониженной температурой для обеспечения функционирования системы обеззараживания непосредственно при выращивании микроорганизмов;

- необходимо отсутствие в конструкции системы обеззараживания мест, недоступных для проникновения пара.

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

Список литературы

1. Владимцева И.В., Самыгин В.М., Жога Л.К., Гришкина Т.А., Потапова Л.В. Установка для культивирования микроорганизмов. Патент РФ № 2292387, опублик. 27.01.2007. Бюл. № 3.
2. Самыгин В.М., Владимцева И.В., Гришкина Т.А., Александров А.Ю., Редкозубов С.В. Конструкция установки для глубинного культивирования аэробных патогенов. *Биотехнология*. 2008; 2:65–8.
3. Самыгин В.М., Гришкина Т.А., Жога Л.К., Александров А.Ю., Редкозубов С.В., Нгуен Тхи Нгок Минь. Система защиты окружающей среды от бактериальных аэрозолей в установках для культивирования микроорганизмов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 100:22–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-2(100)-22-26.
4. Фролов А.И., Орлов Ю.Н., Ворожцов А.С., Юдин В.Г. Малая ферментационная установка (варианты). Патент РФ № 2142995, опублик. 20.12.1999. Бюл. № 36.
5. Никифоров А.К., Васин Ю.Г., Щербаков Д.А., Ульянов А.Ю., Строганов В.В., Еремин С.А. Ферментационная установка для культивирования микроорганизмов. Патент РФ № 86184, опублик. 27.08.2009. Бюл. № 24.
6. Ульянов А.Ю., Никифоров А.К., Еремин С.А., Щербаков Д.А., Васин Ю.Г., Комиссаров А.В. Разработка биореактора и оценка возможности его использования в производстве холерной вакцины. *Вестник Саратовского госагроуниверситета им. Н.И. Вавилова*. 2011; 1:39–43.
7. Малкольм Г.К. Оболочка для выращивания биологических объектов. Патент СССР № 1836419, опублик. 23.08.1993. Бюл. № 31.

8. Марквичев Н.С., Манаков М.Н., Коростелев В.В., Зайко М.Л., Арсентьев А.В., Митичкин О.В., Простова Г.А., Зеленщиков Д.Б., Кривошеин Ю.С., Мельниченко Е.Г. Установка для культивирования животных, растительных или микробных клеток. Патент СССР № 1838401, опублик. 30.08.1993. Бюл. № 32.
9. Марквичев Н.С., Коростелев В.В., Манаков М.Н., Хлебников А.В., Арсентьев А.В., Зеленщиков Д.Б., Простова Г.А., Митичкин О.В. Установка для культивирования клеток или микроорганизмов. Патент РФ № 2005778, опублик. 15.01.1994. Бюл. № 1.
10. Бондаренко А.Ф., Родичкин В.И. Аппарат для суспензионного выращивания культур клеток. Патент РФ № 1405296, опублик. 09.07.1995. Бюл. № 19.
11. Мандрыка Е.А., Цетович А.Н., Молочков В.С., Флеров Ю.Л., Шитиков Е.С. Газопромыватель отходящих газовых потоков при культивировании и сушке микроорганизмов. Авторское свидетельство СССР № 1590114, опублик. 07.09.1990. Бюл. № 33.
12. Тур А.А., Киселева И.И., Кузнецов А.М. Устройство для очистки отработанного воздуха к ферментаторам. Патент РФ № 2060794, опублик. 27.05.1996. Бюл. № 15.
13. Тур А.А., Киселева И.И., Тур Л.А. Барботажный аппарат газоочистки для биотехнологических производств. *Экология и промышленность России*. 2008; 8:10–2.
14. Тур А.А., Киселева И.И., Усов В.В. Современные процессы газоочистки биотехнологических производств. *Вестник Иркутского государственного технического университета*. 2010; 6:125–8.
15. Григорьев В.В. Устройство для очистки отработанного газа из ферментера. Патент РФ № 2032732, опублик. 10.04.1995. Бюл. № 10.
16. Валашек Е.Р. Система очистки отработанного газа из ферментера. *Химико-фармацевтический журнал*. 1988; 5:638–40.
17. Редикульцев Ю.В., Шириков Н.В. Установка для производства биопродукта. Патент РФ № 2123525, опублик. 20.12.1998. Бюл. № 35.
18. Редикульцев Ю.В., Кудряшов В.К., Смолин Б.И., Орлов Д.В. Установка для проведения и исследования микробиологических процессов. Патент РФ № 2031935, опублик. 27.03.1995. Бюл. № 9.
19. Miller O.T., Schmitt R.F., Phillips G.B. Applications of germicidal ultraviolet in infectious disease laboratories. I. Sterilization of small volumes of air by ultraviolet irradiation. *Am. J. Public Health Nations Health*. 1955; 45(11):1420–3. DOI: 10.2105/ajph.45.11.1420.
20. Турченинов В.В., Максименко М.В. Устройство для обеззараживания воздуха. Патент РФ № 2416432, опублик. 20.04.2011. Бюл. № 11.
21. Сизиков В.П. Устройство для обеззараживания воздуха. Патент РФ № 2506501, опублик. 10.02.2014. Бюл. № 4.
22. Жуйков В.А., Климова Е.В. Установка для УФ дезинфекции твердых, жидких и газообразных продуктов. Патент РФ № 2524533, опублик. 27.07.2014. Бюл. № 21.
23. Nicholas G.R. The history of ultraviolet germicidal irradiation for air disinfection. *Public Health Reports*. 2010; 125(1):15–27. DOI: 10.1177/003335491012500105.
24. Копылов Г.А., Ковалёв В.Д. Способ очистки диэлектрических сред от микроорганизмов и устройство для его реализации. Патент РФ № 2430742, опублик. 10.10.2011. Бюл. № 28.
25. Володина Е.В., Наголкин А.В. Устройство для стерилизации и тонкой фильтрации газа. Патент РФ № 2026751, опублик. 20.01.1995. Бюл. № 2.
26. Володин А.М. Устройство для инактивации и тонкой фильтрации вирусов и микроорганизмов в воздушном потоке. Патент РФ № 2344882, опублик. 27.01.2009. Бюл. № 3.
27. Столяров В.П., Скворцов Ю.Ф., Денисов А.К., Кондратов А.П. Устройство для очистки и ионизации воздуха. Патент РФ № 24634, опублик. 20.08.2002. Бюл. № 23.
28. Kishioka T., Daitoo K.K. Air sterilizing and purifying facility which inactivates bacteria caught by a combination of electric dust collector using filter as dust collecting electrode and electronic sterilizer and which exhibits active bactericidal action by releasing superoxide anion radical and minus ion through arranging electronic sterilizer on the blowoff side. Patent Japan 2248808A, publis. 22.05.2001.
29. Herbert J. Arrangement for producing unipolar air ions. Patent USA 3582711A, publis. 01.06.1971.
30. Дроздов С.Г., Гарин Н.С., Джиндоян Л.С., Тарасенко В.М. Основы техники безопасности в микробиологических и вирусологических лабораториях. М.: Медицина; 1987. 256 с.
31. Decker H.M., Citek F.J., Harstad J.B., Gross N.H., Piper F.J. Time temperature studies of spore penetration through an electric air sterilizer. *Appl. Microbiol.* 1954; 2(1):33–6.
32. Gremillion G.G., Miller L.F., Bodmer G.A. An electric incinerator for sterilization of small volumes of air. *Appl. Microbiol.* 1958; 6(4):274–6. DOI:10.1128/AEM.6.4.274-276.1958.

33. Elsworth R., Telling R.C., Ford J.W.S. Sterilization of air by heat. *J. Hyg. (Lond.)* 1955; 53(4):445–57. DOI: 10.1017/S0022172400000954.
34. Barbeito M.S., Taylor L.A., Seiders R.W. Microbiological evaluation of a large-volume air incinerator. *Appl. Microbiol.* 1968; 16(3):490–5.
35. Chatigny M.A., Sarshad A.A., Pike G.F. Design and evaluation of a system for thermal decontamination of process air. *Biotechnol. Bioeng.* 1970; 12(4):483–500. DOI: 10.1002/bit.260120402.
36. Chatigny M.A. Protection against infection in the microbiological laboratory: devices and procedures. *Adv. Appl. Microbiol.* 1961; 3:131–92.
37. Chisti Y. Biosafety. In: Subramanian G., editor. *Bioseparation and bioprocessing: a handbook*. Vol. 2. New York: Wiley-VCH; 1998. P. 379–415.
38. Chisti Y. Build better industrial bioreactors. *Chemical Engineering Progress*. 1992; 88(1):55–8.
39. Справочник технического директора, главного технолога и службы управления качеством фармацевтического предприятия 2008–2009. М.: Издательский дом «Медицинский бизнес»; 2009. 316 с.
40. Стерилизующие фильтры из фторопласта. Microfluor® II Cartridges & Cap. [Электронный ресурс]. URL: http://www.pharmtech.ru/docs/3m/2/steril/3m_microfluor.pdf (дата обращения 05.06.2019).
41. Фильтрующие патроны из ПТФЭ Sartofluor®. Надежные и масштабируемые дыхательные фильтры. [Электронный ресурс]. URL: http://www.sartorius.it/fileadmin/fm-dam/DDM/Bioprocess-Solutions/Filtration Technologies/Sterile Filtration/Sartofluor/Data Sheets/Broch_Sartofluor_SPK1502-r.pdf (дата обращения 07.06.2019).
42. Мембранные фильтры марки ЭПМ.Ф4 на основе гидрофобного фторопласта (PTFE). [Электронный ресурс]. URL: <http://www.technofilter.ru/files/pdf/epmf4.pdf> (дата обращения 05.06.2019).
43. SupraPore TP. Гофрированный мембранный фильтрующий картридж. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.dalva.ru/images/16TPSupraPoreTP.pdf> (дата обращения 11.06.2019).
44. Fluorodyne® II DFL Membrane Filter Cartridges. [Электронный ресурс]. URL: <http://tools.pall.com/ps/PDFGenerator?URL=http://www.pall.com/main/Biopharmaceuticals/PrintPdf.page?lid=gri78lwi> (дата обращения 12.06.2019).
45. Процессная фильтрация. От чистоты до стерильности. (P)-SRF N. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.dalva.ru/images/donaldson/p-srf-n.pdf> (дата обращения 10.06.2019).
46. Перепелица А.И., Васин Ю.Г., Комиссаров А.В., Морозов К.М., Никифоров А.К. Система очистки отходящих газов биореактора от биологического аэрозоля. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 1–1:227.
9. Markvichev N.S., Korostelev V.V., Manakov M.N., Khlebnikov A.V., Arsent'ev A.V., Zelenshchikov D.B., Prostova G.A., Mitichkin O.V. [Installation for cell or microorganism cultivation]. RF Patent No. 2005778, publ. 15.01.1994. Bulletin No. 1.
10. Bondarenko A.F., Rodichkin V.I. [Apparatus for suspension cultivation of cell cultures]. RF Patent No. 1405296, publ. 09.07.1995. Bulletin No. 19.
11. Mandryka E.A., Tsetovich A.N., Molochkov V.S., Flerov Yu.L., Shitikov E.S. [Gas washer of waste gas streams for cultivation and drying of microorganisms]. Certificate of authorship of the USSR No. 1590114, publ. 07.09.1990. Bulletin No. 33.
12. Tur A.A., Kiseleva I.I., Kuznetsov A.M. [Device for cleaning exhaust air to fermenters]. RF Patent No. 2060794, publ. 27.05.1996. Bulletin No. 15.
13. Tur A.A., Kiseleva I.I., Tur L.A. [Bubbling unit for gas purification for biotechnological manufacturing]. *Ekologiya i Promyshlennost' v Rossii [Ecology and Industry in Russia]*. 2008; 8:10–2.
14. Tur A.A., Kiseleva I.I., Usov V.V. [Modern processes of gas purification in biotechnological manufacturing]. *Vestnik Irkutskogo Gosudarstvennogo Tekhnicheskogo Universiteta [Bulletin of Irkutsk State Technical University]*. 2010; 6:125–8.
15. Grigoriev V.V. Device for purifying waste gas from the fermenter. RF Patent No. 2032732, publ. 10.04.1995. Bulletin No. 10.
16. Valashek E.R. [A system for cleansing exhaust gas from the fermenter]. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal [Pharmaceutical Chemistry Journal]*. 1988; 5:638–40.
17. Redikul'tsev Yu.V., Shirshikov N.V. [Installation for manufacturing biological products]. RF Patent No. 2123525, publ. 20.12.1998. Bulletin No. 35.
18. Redikul'tsev Yu.V., Kudryashov V.K., Smolin B.I., Orlov D.V. [Installation for carrying out and studying microbiological processes]. RF Patent No. 2031935, publ. 27.03.1995. Bulletin No. 9.
19. Miller O.T., Schmitt R.F., Phillips G.B. Applications of germicidal ultraviolet in infectious disease laboratories. I. Sterilization of small volumes of air by ultraviolet irradiation. *Am. J. Public Health Nations Health*. 1955; 45(11):1420–3. DOI: 10.2105/ajph.45.11.1420.
20. Turcheni N.V., Maksimenko M.V. [Device for air disinfection]. RF Patent No. 2416432, publ. 20.04.2011. Bulletin No. 11.
21. Sizikov V.P. [Device for air disinfection]. RF Patent No. 2506501, publ. 10.02.2014. Bulletin No. 4.
22. Zhujkov V.A., Klimova E.V. [Installation for UV disinfection of solid, liquid and gaseous products]. RF Patent No. 2524533, publ. 27.07.2014. Bulletin No. 21.
23. Nicholas G.R. The history of ultraviolet germicidal irradiation for air disinfection. *Public Health Reports*. 2010; 125(1):15–27. DOI: 10.1177/003335491012500105.
24. Kopylov G.A., Kovalev V.D. [Method for cleansing dielectric media from microorganisms and the unit for its implementation]. RF Patent No. 2430742, publ. 10.10.2011. Bulletin No. 28.
25. Volodina E.V., Nagolkin A.V. [Device for sterilization and fine filtration of gas]. RF Patent of No. 2026751, publ. 20.01.1995. Bulletin No. 2.
26. Volodin A.M. [Device for inactivation and fine filtration of viruses and microorganisms in the air stream]. RF Patent No. 2344882, publ. 27.01.2009. Bulletin No. 3.
27. Stolyarov V.P., Skvortsov Yu.F., Denisov A.K., Kondratov A.P. [Device for air purification and ionization]. RF Patent No. 24634, publ. 20.08.2002. Bulletin No. 23.
28. Kishioka T., Daitoo K.K. Air sterilizing and purifying facility which inactivates bacteria caught by a combination of electric dust collector using filter as dust collecting electrode and electronic sterilizer and which exhibits active bactericidal action by releasing superoxide anion radical and minus ion through arranging electronic sterilizer on the blowoff side. Patent Japan 2248808A, publ. 22.05.2001.
29. Herbert J. Arrangement for producing unipolar air ions. Patent USA 3582711A, publ. 01.06.1971.
30. Drozdov S.G., Garin N.S., Dzhindoyan L.S., Tarasenko V.M. [Fundamentals of Safety in Microbiological and Virological Laboratories]. M.: Medicine; 1987. 256 p.
31. Decker H.M., Citek F.J., Harstad J.B., Gross N.H., Piper F.J. Time temperature studies of spore penetration through an electric air sterilizer. *Appl. Microbiol.* 1954; 2(1):33–6.
32. Gremillion G.G., Miller L.F., Bodmer G.A. An electric incinerator for sterilization of small volumes of air. *Appl. Microbiol.* 1958; 6(4):274–6. DOI:10.1128/AEM.6.4.274-276.1958.
33. Elsworth R., Telling R.C., Ford J.W.S. Sterilization of air by heat. *J. Hyg. (Lond.)* 1955; 53(4):445–57. DOI: 10.1017/S0022172400000954.
34. Barbeito M.S., Taylor L.A., Seiders R.W. Microbiological evaluation of a large-volume air incinerator. *Appl. Microbiol.* 1968; 16(3):490–5.
35. Chatigny M.A., Sarshad A.A., Pike G.F. Design and evaluation of a system for thermal decontamination of process air. *Biotechnol. Bioeng.* 1970; 12(4):483–500. DOI: 10.1002/bit.260120402.

References

1. Vladimtseva I.V., Samygin V.M., Zhoga L.K., Grishkina T.A., Potapova L.V. [Installation for cultivation of microorganisms]. RF Patent No. 2292387, publ. 27.01.2007. Bulletin No. 3.
2. Samygin V.M., Vladimtseva I.V., Grishkina T.A., Aleksandrov A.Yu., Redkozubov S.V. [Design of the installation for deep cultivation of aerobic pathogens]. *Biotechnologiya [Biotechnology]*. 2008; 2:65–8.
3. Samygin V.M., Grishkina T.A., Zhoga L.K., Aleksandrov A.Yu., Redkozubov S.V., Nguyen Thi Ngoc Minh. [System of environmental protection from bacterial aerosols in propagators for microorganisms cultivation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; 100:22–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-2(100)-22-26.
4. Frolov A.I., Orlov Yu.N., Vorozhtsov A.S., Yudin V.G. [Small fermentation plant (options)]. RF Patent No. 2142995, publ. 20.12.1999. Bulletin No. 36.
5. Nikiforov A.K., Vasin Yu.G., Shcherbakov D.A., Ul'yanov A.Yu., Stroganov V.V., Eremin S.A. [Fermentation plant for the cultivation of microorganisms]. RF Patent No. 86184, publ. 27.08.2009. Bulletin No. 24.
6. Ul'yanov A.Yu., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Shcherbakov D.A., Vasin Yu.G., Komissarov A.V. [Development of a bioreactor and assessment of possibility of its use in the production of cholera vaccine]. *Vestnik Saratovskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta imeni N.I. Vavilova [Bulletin of the Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov]*. 2011; 1:39–43.
7. Malcolm G. K. [Shell for growing biological objects]. USSR Patent No. 1836419, publ. 23.08.1993. Bulletin No. 31.
8. Markvichev N.S., Manakov M.N., Korostelev V.V., Zaiko M.L., Arsent'ev A.V., Mitichkin O.V., Prostova G.A., Zelenshchikov D.B., Krivoshein Yu.S., Mel'nichenko E.G. [Installation for the cultivation of animal, plant or microbial cells]. USSR Patent No. 1838401, publ. 30.08.1993. Bulletin No. 32.

36. Chatigny M.A. Protection against infection in the microbiological laboratory: devices and procedures. *Adv. Appl. Microbiol.* 1961; 3:131–92.
37. Chisti Y. Biosafety. In: Subramanian G., editor. *Bioseparation and bioprocessing: a handbook*. Vol. 2. New York: Wiley-VCH; 1998. P. 379–415.
38. Chisti Y. Build better industrial bioreactors. *Chemical Engineering Progress*. 1992; 88(1):55–8.
39. [Directory of the technical director, chief technologist and quality management service of a pharmaceutical enterprise 2008–2009]. M.: publishing house “Medical business”; 2009. 316 p.
40. [Sterilizing filters made of fluoroplast. Microfluor ® II Cartridges & Cap]. (Cited 05 June 2019). [Internet]. Available from: http://www.pharmtech.ru/docs/3m/2/steril/3m_microfluor.pdf.
41. Sartofluor ® PTFE Filter cartridges. Reliable and scalable respiratory filters. (Cited 07 June 2019). [Internet]. Available from: <http://www.sartorius.it/fileadmin/fm-dam/DDM/Bioprocess-Solutions/Filtration Technologies/Sterile Filtration/Sartofluor/Data Sheets/Broch Sartofluor SPK1502-r.pdf>.
42. [Membrane filters EPM.F4 on the basis of hydrophobic polytetrafluoroethylene (PTFE)]. (Cited 05 June 2019). [Internet]. Available from: <http://www.technofilter.ru/files/pdf/epmf4.pdf>.
43. [SupaPore TP. Corrugated membrane filter cartridge]. (Cited 11 June 2019). [Internet]. Available from: <http://www.dalva.ru/images/16TPSupaPoreTP.pdf>.
44. Fluorodyne ® II DFL Membrane Filter Cartridges. (Cited 12 June 2019). [Internet]. Available from: <http://tools.pall.com/ps/PDFGenerator?URL=http://www.pall.com/main/Biopharmaceuticals/PrintPdf.page?lid=gri78lwi>.
45. [Process filtration. From the cleanliness to the sterility]. (P)-SRF N. (Cited 10 June 2019). [Internet]. Available from: <http://www.dalva.ru/images/donaldson/p-srf-n.pdf>.
46. Perepelitsa A.I., Vasin Yu.G., Komissarov A.V., Morozov K.M., Nikiforov A.K. [System for cleaning bioreactor waste gases from biological aerosol]. *Modern Problems of Science and Education [Sovremennye Problemy Nauki i Obrazovaniya]*. 2015; 1–1:227.

Authors:

Komissarov A.V., Morozov K.M., Perepelitsa A.I., Ul'yanov A.Yu., Volokh O.A., Nikiforov A.K. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Комиссаров А.В., Морозов К.М., Перепелица А.И., Ульянов А.Ю., Волох О.А., Никифоров А.К. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-16-25

УДК 616.98:578.824.11

Е.М. Полещук¹, Г.Н. Сидоров^{1,2}**АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭПИЗООТОЛОГО-ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ И РИСК ЗАРАЖЕНИЯ БЕШЕНСТВОМ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В НАЧАЛЕ XXI ВЕКА**¹ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», Омск, Российская Федерация;²ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет», Омск, Российская Федерация

В обзоре представлен анализ современной эпидемической ситуации по бешенству в Российской Федерации и охарактеризована динамика эпизоотических показателей, таких как индекс эпизоотичности и плотность инфекции. Изучены риск заражения бешенством и особенности эпизоотического процесса в различных регионах страны. В 2012–2018 гг. в сравнении с 2000–2011 гг., отмечено снижение активности эпизоотического процесса в 1,5 раза, несмотря на расширение ареала вируса. Выявлено уменьшение заболевания людей гидрофобией относительно среднесуточных показателей в 3–5 раз. Установлено увеличение значения собаки, кошки и енотовидной собаки в заражении людей и снижение в этом процессе роли лисицы. Риск заражения бешенством сохранялся почти во всех регионах страны. В течение 2012–2018 гг. благополучными были Архангельская, Мурманская, Иркутская, Сахалинская области и Камчатский край. В Калининградской области заболевания животных прекратились с 2013 г. благодаря успешному применению оральной вакцинации диких хищников как эффективного метода борьбы с природными очагами бешенства. В 2019 г. зарегистрировано три случая гибели людей от лиссавирусной инфекции: два после укусов летучих мышей в Амурской области и Приморском крае и один на территории Московской области, завозной из Таджикистана после укуса собаки. Типичных случаев бешенства на территории России, связанных с наземными млекопитающими, в 2019 г. не выявлено.

Ключевые слова: бешенство, Российская Федерация, эпидемиология, эпизоотология, риск заражения бешенством.

Корреспондирующий автор: Полещук Елена Михайловна, e-mail: e-poleschuk@yandex.ru.

Для цитирования: Полещук Е.М., Сидоров Г.Н. Анализ особенностей эпизоотолого-эпидемической ситуации и риск заражения бешенством в Российской Федерации в начале XXI века. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:16–25. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-16-25

Поступила 27.03.20. Отправлена на доработку 01.06.20. Принята к публ. 16.06.20.

Е.М. Poleshchuk¹, G.N. Sidorov^{1,2}**Comparative Analysis of Features of Epizootiological and Epidemic Situation and Risk of Rabies Infection in the Russian Federation in Early XXI Century**¹Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Omsk, Russian Federation;²Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russian Federation

Abstract. The review provides an analysis of the current rabies epidemic situation in the Russian Federation and describes the dynamics of epizootic indicators, such as the epizootic index and infection density. The risk of rabies infection and the characteristics of the epizootic process in various regions of the country were studied. In 2012–2018 in comparison with 2000–2011, a 1.5-fold decrease in the activity of the epizootic process was noted, despite the expansion of the virus areal. The decrease in human hydrophobia morbidity in reference to the long-term average of 3–5 times was revealed. An increase in the value of the dog, cat and raccoon dog in human infection and a decrease of the fox role in this process have been established. The risk of rabies infection remained in almost all regions of the country. During 2012–2018 safe regions were the Arkhangelsk, Murmansk, Irkutsk, Sakhalin, Kamchatka Territory. In the Kaliningrad Region, animal cases have stopped since 2013 due to the successful use of oral vaccination of wild predators as an effective method of combating natural foci of rabies. In 2019, 3 lethal cases of lissavirus infection were recorded: two after bat bites in the Amur Region and Primorsky Territory, and one in the Moscow Region imported from Tajikistan after a dog bite. Typical cases of rabies in Russia associated with terrestrial mammals were not detected in 2019.

Key words: rabies, Russian Federation, epidemiology, epizootiology, risk of rabies infection.

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

Corresponding author: Elena M. Poleshchuk, e-mail: e-poleschuk@yandex.ru.

Citation: Poleshchuk E.M., Sidorov G.N. Comparative Analysis of Features of Epizootiological and Epidemic Situation and Risk of Rabies Infection in the Russian Federation in Early XXI Century. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:16–25. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-16-25

Received 27.03.20. Revised 01.06.20. Accepted 16.06.20.

Poleshchuk E.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8217-5159>

Sidorov G.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8344-7726>

В мире от бешенства ежегодно погибало около 60 тыс. людей. Более 95 % всех заражений регистрировалось в Юго-Восточной Азии и Африке [1–3]. При этом 99 % случаев заболеваний человека были

обусловлены контактом с собаками. На Азию приходилось около 34 тыс. смертей [4]. В Африке от гидрофобии ежегодно умирало 21,5 тыс. человек. Страны Латинской Америки характеризовались

средним/высоким риском заражения человека бешенством. Вероятность заражения людей в Западной Европе в настоящее время минимальна [1, 2, 4, 5]. В Австралии, США и Канаде случаи бешенства людей, опосредованные контактом с домашними или дикими животными (кроме рукокрылых), в последние годы не регистрировались. Отсутствовали случаи бешенства у людей в Японии и Новой Зеландии [1–3].

Отличительной особенностью эпизоотического и эпидемического процессов в России во второй половине XX – начале XXI в. является циркуляция вируса бешенства в популяциях диких псовых в природных очагах инфекции [6–11]. По оценке ВОЗ, Российская Федерация относится к группе стран со средним уровнем риска заражения человека. В 1960–2018 гг. в России в среднем ежегодно регистрировали 12 случаев гибели людей от гидрофобии [11, 12].

Цель работы – выполнить сравнительный анализ эпизоотолого-эпидемической ситуации и оценить риск заражения бешенством в различных регионах России в современных условиях.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ статистических данных по регистрации заболеваний гидрофобией людей в Российской Федерации (РФ) за 1975–2018 гг., заболевания бешенством животных проанализированы за 1960–2018 гг. Эти материалы предоставлены Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), управлениями Роспотребнадзора в субъектах РФ, Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор), ФГБУ «Центр ветеринарии» Минсельхоза России, управлениями ветеринарии и службами по ветеринарному надзору в субъектах РФ. Данные по численности диких хищников получены в ФГБУ «Центрохотконтроль». Использованы материалы из формируемого с 1967 г. архива лаборатории бешенства Омского НИИ природно-очаговых инфекций. На базе этой лаборатории создан референс-центр по мониторингу за бешенством в Российской Федерации.

В работе использованы эпидемиологический и статистический методы исследования [13, 14]. Для всех субъектов РФ выполнена оценка состояния следующих факторов риска заражения бешенством за 2007–2018 гг.:

- индекса эпизоотичности (ИЭ) (отношение числа неблагоприятных лет по бешенству к числу лет наблюдения за активностью эпизоотического процесса);
- плотности инфекции (ПИ) (среднегодовое число случаев бешенства животных на единицу площади – 1000 кв. км);
- среднегодового количества случаев гидрофобии (на 100 тыс. населения);
- суммарного показателя плотности диких хищ-

ников (лисицы, корсака, волка, енотовидной собаки, песца, барсука) на 1 тыс. кв. км. Районирование Российской Федерации по степени риска заражения бешенством выполнено путем ранжирования значений эпизоотолого-эпидемиологических и экологических факторов риска, их анализа, использования балльной оценки, определения итогового значения баллов для региона [10, 15, 16]. В результате районирования территория страны была разделена на зоны потенциальной и реальной (низкой, средней, высокой, очень высокой и чрезвычайно высокой) степени риска заражения бешенством.

Визуализация полученных результатов выполнена в программе QGIS 3.4.4. Статистическая обработка и графическое оформление осуществлено с помощью Microsoft Office 2013 (Word, Excel) и STATISTICA 6.0.

С 1975 по 2018 год на территории Российской Федерации зарегистрировано 508 случаев гидрофобии у людей и 119 тыс. случаев бешенства у животных. Среднегодовые показатели за указанный период соответственно составили 12 и 2770 случаев ежегодно.

В 2000–2018 гг. в России зарегистрировали 193 погибших, в среднем 10 человек в год. С 2000 г. отмечали рост случаев бешенства среди людей, а с 2012-го – их снижение. Так, в 2000–2011 гг. в среднем ежегодно регистрировали по 14 случаев гидрофобии, а в 2012–2018 гг. этот показатель сократился в 3,5 раза (4 случая) и стал самым низким в России за статистически обозримый период 1886–2018 гг. [11, 12, 17–19] (рис. 1). За 2012–2018 гг. зарегистрировано всего 28 случаев бешенства у человека, против 67 в 2007–2011 гг. В 2017 и 2018 гг. заболеваемость людей бешенством в стране была минимальной и составила 0,001 на 100 тыс. населения (по два случая в год).

В 1975–1989 гг. установлено, что заболеваемость людей гидрофобией в высокой степени зависела от заболеваемости животных ($r=0,79$; $p<0,001$) [7].

В период перепромысла в стране лисицы, корсака и енотовидной собаки (1990–1999 гг.) и повсеместного снижения активности эпизоотического

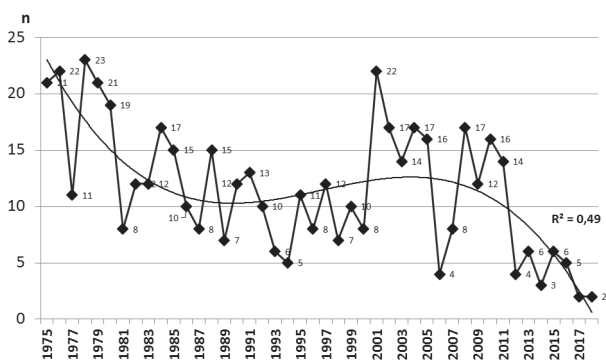


Рис. 1. Показатели заболевания людей гидрофобией на территории России в 1975–2018 гг. (линия тренда – полином 3-го порядка)

Fig. 1. Indicators of human hydrophobia in Russia in 1975–2018 (the trend line is a polynomial of the third orders)

процесса в России достоверную корреляцию между анализируемыми показателями не выявляли ($r=0,24$; $p>0,05$) [17]. Не установили ее и в 2000–2018 гг. ($r=0,43$; $p>0,05$), что указывает на значимую роль в эпидемическом процессе социальных факторов, таких как осведомленность населения об опасности бешенства, высокий уровень вакцинации обратившихся за медицинской помощью, реализация программ по оральной вакцинации диких хищников и интенсификация добычи диких животных в период активизации эпизоотий в природных очагах инфекции [11, 12].

В XXI в. продолжалось изменение видовой структуры источников гидрофобии в стране. В эпидемическом процессе возрастала роль собаки, кошки и енотовидной собаки и уменьшалась роль лисицы [11, 12, 20, 21].

Удельный вес случаев гибели людей от бешенства в результате контактов с собаками и кошками постоянно достоверно возрастал и соответственно составлял: в 1975–1989 гг. – 30,3 и 12,7 %, в 1990–1999 гг. – 34,7 и 14,7 %, в 2000–2018 гг. – 41,5 и 17,6 % случаев. Енотовидная собака была источником бешенства в 1975–1989 гг. в 5,0 %, в 2000–

2018 гг. – в 9,8 % случаев. В этот же период значение лисицы как источника гидрофобии постоянно достоверно снижалось: в 1975–1989 гг. – 37,7 %, в 1990–1999 гг. – 24,2 %, в 2000–2018 гг. – 16,6 % ($t=2,5-2,9$; $p<0,01$). Указанные закономерности эпидемического процесса характеризуют и период 2012–2018 гг., в течение которого в 53,6 % случаев люди погибали после контактов с домашними плотоядными – собаками (39,3 %) и кошками (14,3 %). В 42,9 % случаев источниками заболевания людей становились дикие плотоядные, из которых на лисицу приходилось 17,9 % (рис. 2).

Сравнительный анализ особенностей современного эпидемического процесса бешенства 2012–2018 гг. в сравнении с 2007–2011 гг. и предыдущими временными периодами имеет специфические особенности:

- в 2012–2018 гг. выявлены случаи бешенства у людей после контактов с песком (последний случай в России в 1982 г.) и хорьком (последние случаи в 1994 и 1998 гг.) (рис. 2);

- доля лисицы в заражении людей гидрофобией с 20,9 % в 2007–2011 гг. сократилась до 17,9 % (рис. 2);

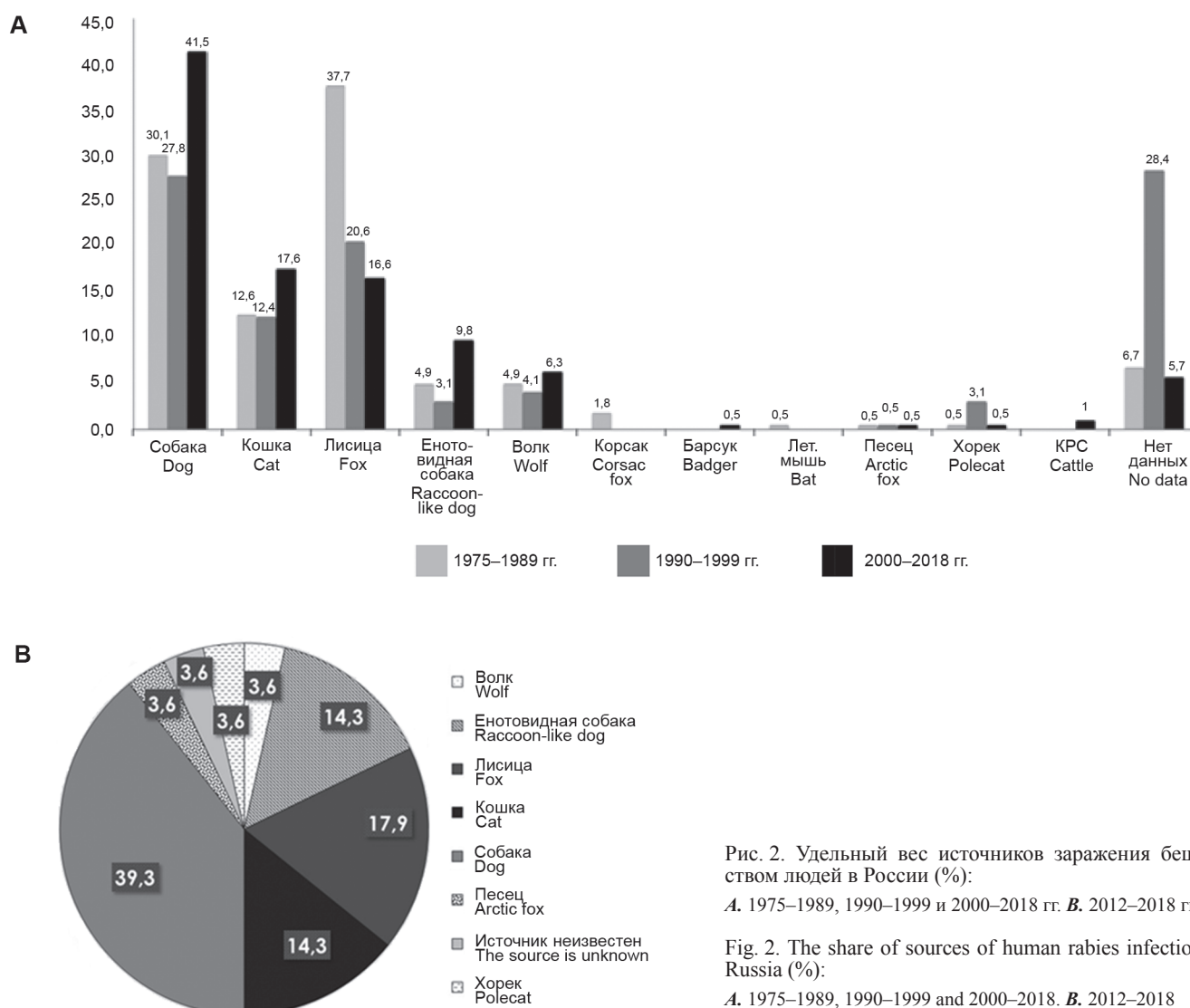


Рис. 2. Удельный вес источников заражения бешенством людей в России (%):

А. 1975–1989, 1990–1999 и 2000–2018 гг. Б. 2012–2018 гг.

Fig. 2. The share of sources of human rabies infection in Russia (%):

A. 1975–1989, 1990–1999 and 2000–2018. B. 2012–2018

- удельный вес енотовидной собаки в заражении человека составил 14,3 % и остался на уровне 2007–2011 гг. (14,9 %) (рис. 2);

- зарегистрированы два случая гибели людей в результате опосредованных контактов с источником инфекции: через домашних птиц, обслуженных бешеными хорьком и собакой.

Из 28 случаев гидрофобии, зарегистрированных в 2012–2018 гг., в 92,9 % люди заразились на территории России (в 2007–2011 гг. – 92,5 %). Два случая заражения от собак являлись завозными из других стран. В 2012 г. мужчина, погибший на территории Московской области, заразился в Республике Таджикистан. Это второй случай заражения в этой республике за последние 19 лет (первый – в 2003 г.). Другой мужчина, погибший в Республике Татарстан, был укушен собакой в провинции Гоа в Индии. Это второй случай заражения гражданина России в этой провинции (первый – в 2011 г.) [17].

В 2012–2018 гг. заболевания гидрофобией фиксировали (по месту регистрации) на территории шести федеральных округов (ФО) (против 8 в 2007–2011 гг.): в Центральном ФО – 50 % всех случаев по России (в 2007–2011 гг. – 36 %), Приволжском – 25 % (в 2007–

2011 гг. – 16 %), Южном – 7,1 % (19 %), Уральском – 10,7 % (4,0 %), Северо-Западном – 3,6 % (1,0 %), Северо-Кавказском – 3,6 % (13 %). В Сибирском и Дальневосточном ФО в 2012–2018 гг. не зарегистрировано ни одного случая бешенства у людей, в отличие от 2007–2011 гг. (по 4 % соответственно).

Количество случаев бешенства у людей хотя и снизилось, но продолжало регистрироваться как на тех же административных территориях России, что и в начале XXI в., так и на новых, ранее относительно благополучных. Об этом свидетельствует сравнительный анализ заболеваний в 2012–2018 гг. (числитель) и 2000–2011 гг. (знаменатель): Башкортостан (1/2 случая), Владимирская (4/1), Волгоградская (1/4) области, Коми (1/0), Крым (1/0), Курская (1/4), Липецкая (2/0), Московская (2/18), Нижегородская (1/5), Пензенская (1/0) области, Пермский край (1/0), Самарская (1/3), Свердловская (1/0) области, Ставропольский край (1/2), Татарстан (1/2), Тверская (4/10), Ульяновская (1/1), Челябинская (2/5), Ярославская (1/2 случая) области.

Бешенство у людей в 2012–2018 гг. зарегистрировали в 19 субъектах Российской Федерации против 32 в 2007–2011 гг. и против 42 субъектов в 2000–

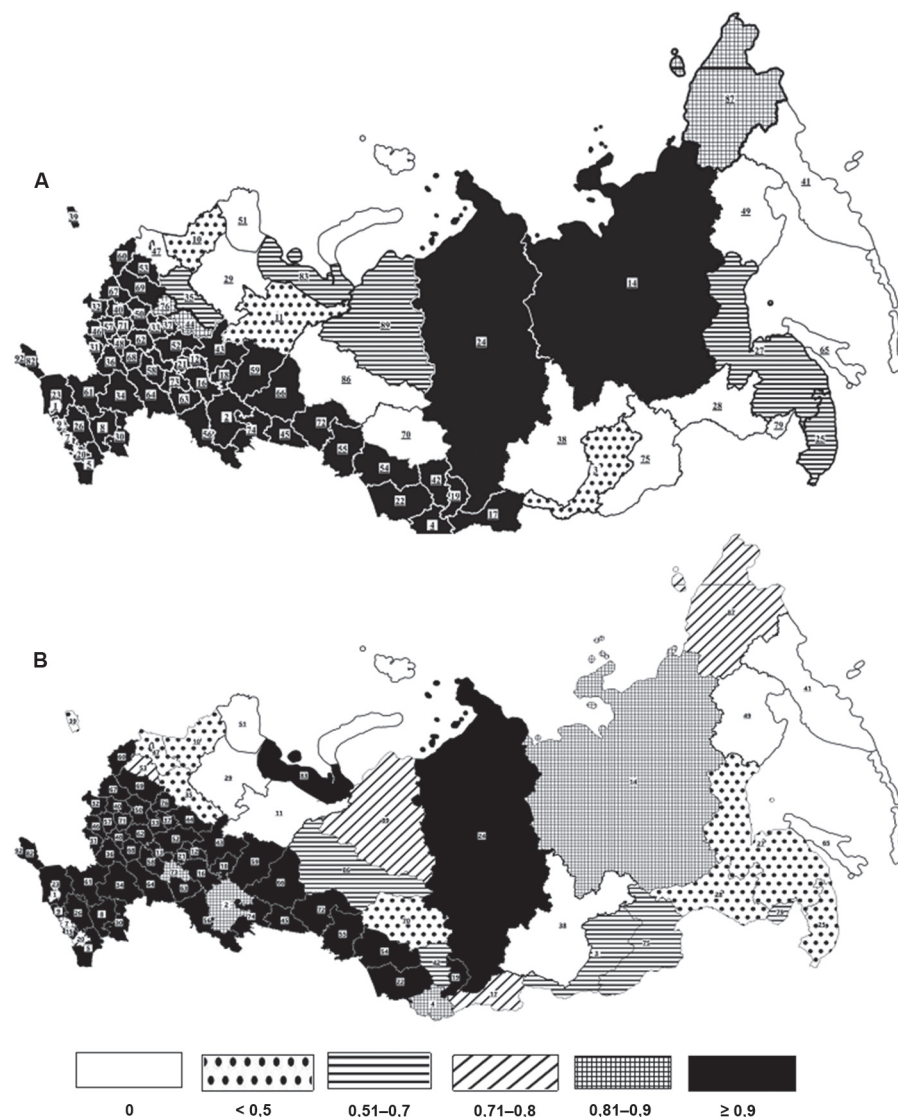


Рис. 3. Индекс эпизоотичности бешенства в России в 2007–2011 гг. (А) и 2012–2018 гг. (В) (по [12, 17]):

0 – отсутствие регистрации; < 0,5 – низкий; 0,51–0,7 – средний; 0,71–0,8 – высокий; 0,81–0,9 – очень высокий; ≥ 0,9 – чрезвычайно высокий

Fig. 3. Epizootic index of rabies in the regions of Russia in 2007–2011 (A) and 2012–2018 (B) (according to [12, 17]):

0 – no cases; < 0,5 – low; 0,51–0,7 – medium; 0,71–0,8 – high; 0,81–0,9 – very high; ≥ 0,9 – extremely high

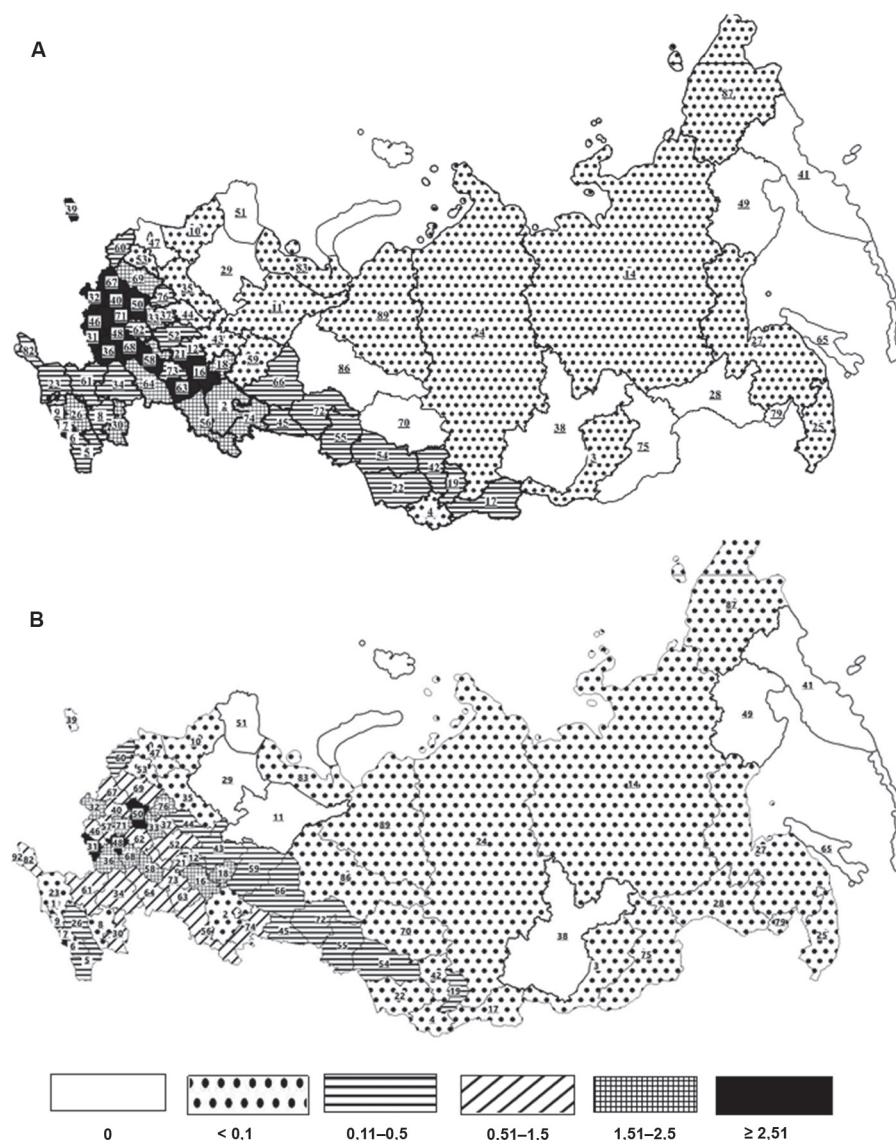


Рис. 4. Плотность инфекции бешенства в России в 2007–2011 гг. (А) и 2012–2018 гг. (В) (по [12, 17]):

0 – отсутствие регистрации; < 0,1 – низкий; 0,11–0,5 – средний; 0,51–1,5 – высокий; 1,51–2,5 – очень высокий; ≥ 2,51 – чрезвычайно высокий

Fig. 4. Density of rabies infection in the regions of Russia in 2007–2011 (A) and 2012–2018 (B) (according to [12, 17]):

0 – no cases; < 0,1 – low; 0,11–0,5 – medium; 0,51–1,5 – high; 1,51–2,5 – very high; ≥ 2,51 – extremely high

2011 гг. Следовательно, распространение случаев гидрофобии по территории страны в 2012–2018 гг. сократилось в 1,7–2,2 раза по сравнению с другими периодами начала XXI в.

На фоне этого сокращения в таких субъектах РФ, как Владимирская, Ярославская области, республики Ингушетия, Кабардино-Балкария, Удмуртия, Коми, Крым, заболевания людей начали регистрировать впервые за анализируемый период (с 1975 г.).

В 2012–2018 гг. основной причиной гибели людей оставалось обращение за медицинской помощью (67,8 %). Обратились вовремя, но самовольно прекратили прививки или нарушили схему вакцинации 17,9 %. По вине медицинских работников погиб один человек (3,6 %). На фоне правильно проводимого лечения из-за укусов опасной локализации и короткого инкубационного периода умерли два человека – 7,1 %. Информация о причинах смерти еще одного человека отсутствует (3,6 %) [12].

Из 19 человек, не обратившихся за медицинской помощью, погибли 13 (68,4 %) мужчин и 6 (31,5 %) женщин. Из них 9 человек (47,3 %) контактировали с собаками, 2 (10,5 %) с кошками, 7 (36,8 %) с дикими животными, в одном случае (5,3 %) источник не установлен. Из 9 человек, заразившихся бешенством от собак, в одном случае этот источник инфекции явился опосредованным. Из 7 человек, заразившихся от диких животных, 6 заболели бешенством, не обратив внимания на опасность укусов, нанесенных дикими животными.

Характерной особенностью эпизоотий бешенства начала XXI в. является продвижение ареала вируса в северо-восточном направлении и формирование новых природно-очаговых регионов инфекции. В 2012–2018 гг. практически вся территория России являлась неблагополучной по бешенству, а индекс эпизоотичности на 2/3 территории страны составлял 0,91 и более (рис. 3).

Несмотря на это, рост заболевания животных бешенством, отмечаемый в 2000–2007 гг., с 2008 г. сменился спадом. В среднем за период 2008–2018 гг. ежегодно регистрировали по 3200 бешеных животных – на уровне среднеевропейских показателей за 19 лет (2000–2018 гг. – 3300 случаев). Наибольший показатель (4200 случаев в год), отмечавшийся в 2008–2011 гг., в 2012–2018 гг. уменьшился в 1,5 раза

(2780), а за 2014–2018 гг. – в 1,6 раза, составив 2800 и 2650 случаев соответственно.

Сравнение эпизоотологических показателей риска заражения бешенством за периоды 2007–2011 и 2012–2018 гг. выявило следующие особенности (рис. 3, 4).

Центральный ФО. Территории всех областей округа в 2012–2018 гг. оставались неблагополучными, как и в 2007–2011 гг. Во всех 18 субъектах округа случаи бешенства регистрировали ежегодно. ИЭ в Ярославской и Костромской областях поднялся до максимального значения – 1,0, хотя в предыдущий период 2007–2011 гг. этот показатель составлял 0,7 и 0,6 соответственно.

Несмотря на увеличение экстенсивности эпизоотий, их интенсивность в целом по округу сократилась почти в 1,5 раза. ПИ в 2012–2018 гг. составляла здесь 1,7, против 2,5 случаев на 1 тыс. кв. км в 2007–2011 гг. Этот показатель снизился в большинстве областей округа. Плотность инфекции возросла только во Владимирской, Ярославской, Костромской, Московской областях и в г. Москве. Неблагополучие по бешенству на этих территориях нарастало давно. Владимирская область ежегодно неблагополучна по бешенству с 1998 г., Ярославская – с 2004 г., Костромская – с 2011 г., г. Москва – с 2012 г. Московская область стала ежегодно неблагополучна (за единичным исключением) с 1976 г. В Центральном ФО, как и в прошлый период, продолжали регистрировать самые высокие показатели плотности инфекции в России: Брянская область – 5,9, Липецкая область – 5,6, Москва – 4,7, Московская область – 4,6. Брянская и Липецкая области практически ежегодно были неблагополучны по бешенству животных как минимум с 1960 г.

Северо-Западный ФО. В 2012–2018 гг., по сравнению с периодом 2007–2011 гг., и без того низкая плотность инфекции по округу снизилась с показателя 0,07 до 0,03. Благополучными по бешенству оставались Архангельская, Мурманская области и Санкт-Петербург. Официально не зарегистрировано бешенство у животных в Республике Коми. В результате оральная вакцинация диких хищников с 2013 по 2018 год прекратились случаи бешенства в Калининградской области.

Стойкое эпизоотическое неблагополучие продолжали регистрировать в Псковской области (ИЭ – 1,0; ПИ – 0,3) и в Ненецком автономном округе (АО) (ИЭ – 1,0; ПИ – 0,1). В Псковской области бешенство ежегодно фиксировали с 1976 г., в Ненецком АО – с перерывами с 1998 г. Новгородская область (ИЭ – 0,71; ПИ – 0,08) неблагополучна с 1986 г. В Ленинградской области (ИЭ – 0,14; ПИ – 0,002) в 2017 г., после 15 лет благополучия, было зарегистрировано бешенство лисицы.

В Южном и Северо-Кавказском ФО эпизоотическая обстановка на протяжении 2012–2018 гг. продолжала повсеместно оставаться неблагополучной. Тем не менее плотность инфекции сократилась в Южном ФО в 2012–2018 гг. до 0,4 (против 0,8 в 2007–

2011 гг.), а в Северо-Кавказском ФО до 0,5 (против 1,1). Бешенство кошек, КРС и куницы регистрировали в Республике Ингушетия (ИЭ – 0,71; ПИ – 0,5). Самая сложная обстановка отмечалась в Северной Осетии (ИЭ – 1,0; ПИ – 3,9). Неблагополучие на этой территории фиксируют с 1960 г., а бешенство среди диких животных единично выявляли в 1990–1991 гг., а также почти ежегодно с 2001 г.

Случаи бешенства у всех категорий животных непрерывно отмечали как минимум с 1960 г. (ИЭ – 1,0) в Республике Калмыкия (ПИ в 2012–2018 гг. – 0,1) Краснодарском (ПИ – 0,1), Ставропольском (ПИ – 0,4) краях, в Астраханской (ПИ – 0,6), Волгоградской (ПИ – 0,6) и Ростовской областях (ПИ – 0,6), Республике Дагестан (ПИ – 0,2). Чеченская (ПИ – 0,3) и Кабардино-Балкарская (ПИ – 0,7) республики так же почти ежегодно неблагополучны по бешенству с 1960 г. Это объясняется тем, что на территории этих регионов активны Северокавказский и Нижневолжский природно-очаговые регионы бешенства [6]. Кроме того, на Северном Кавказе наблюдается активность антропургических очагов бешенства среди собак и кошек [11, 17].

В Республике Крым с 1970-х до начала 1990-х годов регистрировали в среднем ежегодно 46 случаев бешенства животных. В 2012–2018 гг. плотность инфекции составляла 0,7 (против 0,4 в 2007–2011 гг.). Индекс эпизоотичности на протяжении того и другого периодов был равен 1,0. В 2011–2018 гг. третья часть выявленных случаев бешенства приходилась на кошек (34,8 %). Заболевания среди собак выявлялись в 25,9 %, КРС и МРС – в 2–4 %. Удельный вес лисиц в заболевании животных в 2011–2018 гг. составлял 27,7 %, что в 1,7 раза меньше, чем в предыдущие десять лет. В 2017 г. в Бахчисарайском районе от бешенства погибла женщина, оцарапанная котом. Это первый случай гидрофобии среди людей на Крымском полуострове после 1961 г. [12]. Севастополь с 1971 по 2015 год был благополучен по бешенству. В 2016–2018 гг. в городе ежегодно регистрировали от 1 до 7 случаев заболеваний среди собак, кошек и лисиц.

Приволжский ФО. Вся территория округа на протяжении 2012–2018 гг. практически ежегодно была неблагополучна по бешенству (ИЭ – 0,86–1,0). Однако интенсивность эпизоотического процесса (ПИ) в этом регионе, как и на других территориях страны, сократилась, составив в 2012–2018 гг. 0,8 (против 1,3 в 2007–2011 гг.). Самыми неблагополучными регионами в этом округе непрерывно с 1960 г. были Пензенская (ПИ в 2012–2018 гг. – 1,9) и Саратовская (ПИ – 1,4) области и почти непрерывно Республика Татарстан (ПИ – 2,2).

Крайне неблагополучны в последние семь лет Удмуртская (ПИ – 1,9) и Чувашская (ПИ – 1,1) республики. На фоне общего снижения интенсивности эпизоотического процесса в 2012–2018 гг. осложнение обстановки наблюдалось в Кировской области (ПИ – 0,4) и Пермском крае (ПИ – 0,11). На этих территориях эпизоотии бешенства активизирова-

лись с 2005–2007 гг. Стойкое эпизоотическое неблагополучие Приволжского ФО объясняется активностью в регионе Нижневолжского и Средневолжского природно-очаговых регионов бешенства [6, 10].

В **Уральском ФО** ИЭ в 2012–2018 гг. сократился по сравнению с 2007–2011 гг. до 0,1 против 0,2. Однако экстенсивность эпизоотического процесса увеличилась – неблагополучным по бешенству стал Ханты-Мансийский АО (ИЭ – 0,57; ПИ – 0,005). Несмотря на такие относительно невысокие показатели, рассчитанные на площадь всего округа, около г. Ханты-Мансийска начали болеть лисицы, заражать собак, а бешеные собаки начали травмировать людей.

В Свердловской области интенсивность эпизоотического процесса за два последних сравниваемых периода не изменилась (ПИ – 0,3), в Тюменской области снизилась незначительно. В Курганской области этот показатель сократился в 3 раза – плотность инфекции в 2012–2018 гг. составила 0,3 против 0,9 в 2007–2011 гг.

В **Сибирском ФО** в целом за последний анализируемый период эпизоотическая обстановка по бешенству почти повсеместно (кроме Хакасии и Томской области) улучшилась. В 2007–2011 гг. ПИ – 0,08, в 2012–2018 гг. ПИ – 0,03.

Эпизоотическая обстановка на территории обширного Сибирского региона очень неоднозначна [8]. Одни территории были неблагополучны в течение всего периода наблюдений, тогда как в Кемеровской области, в республиках Алтай и Тыва бешенство регистрировали периодически.

В 2018 г., на фоне улучшения обстановки в Омской и Новосибирской областях, осложнилась ситуация в Хакасии, Тыве, Республике Алтай и в Красноярском крае. Заболевания животных в Тыве, Хакасии и на юге Красноярского края связаны с заносом инфекции с территории Монголии. В Красноярском крае и Хакасии природный очаг бешенства, связанный с лисицами, впервые активизировался в 2002–2003 гг. До этого Хакасия как минимум с 1960 г. была благополучна по этой инфекции, а регистрация болезни в Красноярском крае с 1975 по 2003 год носила спорадический характер [17].

Вспышки бешенства среди лисиц, собак и КРС в 2018 г. были зарегистрированы даже в Томской области, где за 1960–2018 гг. (59 лет) единичные случаи болезни фиксировались только 7 лет.

Иркутская область оставалась свободной от бешенства с 1989 по 2018 год. На этой территории почти нет условий для укоренения стойких природных очагов бешенства, кроме Иркутско-Балаганских степей [22]. Хотя занос и временное укоренение инфекции среди собак и кошек никогда не исключались, что вынуждает считать территорию этой области потенциально опасной по бешенству.

Дальневосточный ФО – единственный федеральный округ России, где обстановка по бешенству в 2012–2018 гг. почти повсеместно (кроме Приморского края) осложнилась. В 2007–2011 гг. ПИ составила 0,002, в 2012–2018 гг. – 0,007.

С ноября 2018 г. в этот округ включены Республика Бурятия и Забайкальский край, ранее входившие в Сибирский федеральный округ. В Республике Бурятия с 1960 по 1980 год случаи бешенства далеко не каждый год регистрировались только у собак и сельскохозяйственных животных. С 1981 по 2010 год эта территория была благополучна. С 2011 г. здесь начались эпизоотии диких животных, связанные с заносом инфекции с территории Монголии [23–25]. В 2017–2018 гг. обстановка стала очень опасной, с признаками проявления типичного полигостального природного очага инфекции, поскольку в эпизоотический процесс включились не только лисицы, но и волки с корсаками.

В Забайкальском крае природные и антропоургические очаги прекратили свою многолетнюю активность в 1984 г. Восточное Забайкалье считалось благополучным по бешенству до 2013 г. С 2014 г. эпизоотии бешенства среди диких и домашних животных в этом регионе вновь активизировались, что, вероятнее всего, связано с заносом инфекции с территории Монголии [12, 26, 27].

На протяжении всей второй половины XX и начала XXI в. остаются неблагополучными по рабической инфекции Республика Якутия и Хабаровский край.

Амурская область была благополучна по бешенству 44 года – с 1973 по 2017 год. Активные вирусологические поиски природных очагов бешенства на этой территории, проводимые здесь в 1975–1977 гг., результатов не дали [28, 29]. В 2018 г. в Амурской области впервые зарегистрировали бешенство у диких животных – лисиц и енотовидных собак. Наличие условий для циркуляции вируса бешенства на территории этого региона установлено почти 40 лет назад [22]. Бешенство выявили у 9 лисиц, 3 енотовидных собак, 2 КРС и 1 лошади.

В 2012–2018 гг. по сравнению с 2007–2011 гг. осложнилась обстановка в Еврейской автономной области и Чукотском АО.

Свободными от бешенства в 2012–2018 гг. оставались Архангельская, Мурманская, Иркутская, Сахалинская области, Камчатский край. Калининградская область стала благополучна с 2013 г. благодаря оральной вакцинации диких хищников.

В соответствии с риск-ориентированным подходом к профилактике выполнен анализ и ранжирование эпизоотологических (ИЭ и ПИ), эпидемиологических показателей (среднегодовое за исследуемый период число гибели людей от бешенства в регионе на 1 млн населения), а также плотности популяций диких хищников на 1 тыс. кв. км. В результате районирования Российской Федерации территория страны разделена на зоны потенциальной и реальной степени риска заражения бешенством: низкой, средней, высокой, очень высокой и чрезвычайно высокой [15].

Установлено, что зонами наибольшей степени риска заражения человека и животных бешенством продолжают оставаться территории Северо-

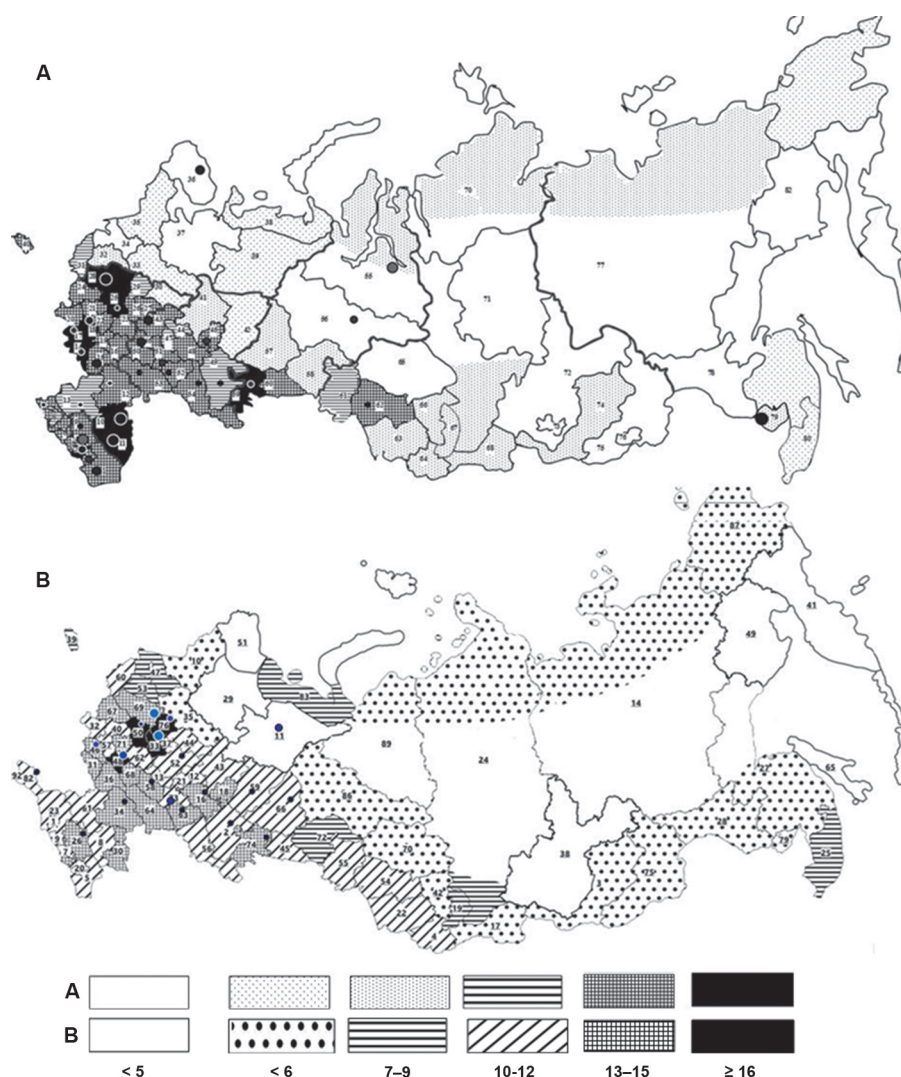


Рис. 5. Риск заражения бешенством в России в 2007–2011 гг. (А) и 2012–2018 гг. (В) (по [12, 17]):

< 5 – потенциальный; < 6 – низкий; 7–9 – средний; 10–12 – высокий; 13–15 – очень высокий; ≥ 16 – чрезвычайно высокий

Fig. 5. The risk of rabies infection in the regions of Russia in 2007–2011 (А) and 2012–2018 (В) (according to [12, 17]):

< 5 – potential; < 6 – low; 7–9 – medium; 10–12 – high; 13–15 – very high; ≥ 16 – extremely high

Среднегодовые показатели заболеваемости гидрофобией на 100 тыс. населения:
Long-term average annual morbidity rates of hydrophobia per 100 thousand of the population:
< 0,1 (●), 0,11–0,20 (●), 0,21–0,35 (●), 0,36–0,55 (●), ≥ 0,55 (●)

Кавказского, Южного, Центрального и Приволжского ФО, юг Уральского, Сибирского и Дальневосточного ФО (рис. 5).

Регионами с чрезвычайно высоким риском заражения бешенством являлись Липецкая, Владимирская, Московская и Ярославская области. Очень высокий и высокий риск инфицирования бешенством выявлен на территории всех регионов Северо-Кавказского, Южного, Центрального и Приволжского ФО, а также на юге Урала и Западной Сибири.

Существует опасность заражения человека бешенством в Арктическом природно-очаговом регионе. Эпидемическая опасность по бешенству западной части региона установлена в 2015 г., когда в Ненецком АО после укуса песком бешенством заразился и погиб в 2016 г. житель Республики Коми, работавший в указанном регионе вахтовым методом.

Таким образом, в 2012–2018 гг. по сравнению с 2000–2011 гг. на территории России отмечали снижение активности эпизоотического процесса в 1,5 раза, несмотря на расширение ареала вируса бешенства. Выявлено уменьшение среднегодового числа заболеваний людей гидрофобией в 3–5 раз относительно

среднеголетних показателей. В эпидемическом процессе установлено увеличение доли собаки, кошки, енотовидной собаки и продолжающееся уменьшение доли лисицы. Риск заражения населения бешенством сохранялся практически во всех регионах страны. В течение 2012–2018 гг. оставались свободными от бешенства Архангельская, Мурманская, Иркутская, Сахалинская области, Камчатский край. Калининградская область является зоной средней эпидемиологической опасности бешенства за счет наличия природных условий для активизации эпизоотического процесса и указывает на успехи применения оральной вакцинации диких хищников как способа купирования природных очагов бешенства.

Дальнейшее снижение эпизоотического процесса наблюдали в 2019 г. Количество выявленных бешенных животных снизилось до 1274 экз. и стало самым низким в 2000–2019 гг. В 2019 г. зарегистрировано три случая гибели людей от лиссавирусной инфекции: два после укусов летучих мышей в Амурской области и Приморском крае и один на территории Московской области, завозной из Таджикистана после укуса собаки. Типичных случаев бешенства на

территории России, связанных с наземными млекопитающими, в 2019 г. не выявлено. Это особенно ценно с позиции стратегии ВОЗ, которая направлена на сведение к нулю смертности людей от бешенства к 2030 г.

Расширение ареала вируса бешенства на благополучные территории требует проведения мониторинга состояния природных очагов инфекции, что актуально в связи со следующими обстоятельствами:

- современный нозоареал бешенства расширяется в северо-восточном направлении;
- в эпизоотический и эпидемический процессы при бешенстве все активнее включается енотовидная собака;
- популяции диких животных сформировали новые природно-очаговые регионы (Республика Хакасия, юг Красноярского края);
- бешенство среди лисиц, енотовидных собак и волков активизировалось на территориях, где эта инфекция не регистрировалась на протяжении многих лет или десятилетий (республики Тыва и Бурятия, Забайкальский край, Амурская область).

В ряде сопредельных с Россией стран (республики Закавказья, Казахстан, МНР, КНР) эпизоотическая обстановка по бешенству неблагоприятна. Это обстоятельство, на фоне активизации международной торговли и туристических связей, ставит вопросы:

- изучения распространения бешенства на приграничных территориях России;
- анализа современной роли отдельных видов животных в эпизоотическом и эпидемическом процессах;
- выявления спонтанной зараженности вирусом бешенства популяций диких животных;
- изучения молекулярно-биологических свойств вирусов, циркулирующих в природных очагах страны, и путей их эволюции.

При проведении эпидемиологического надзора и планировании профилактических мероприятий необходимо учитывать состояние природных очагов инфекции и региональные особенности эпизоотического процесса, подверженного изменениям в условиях активного воздействия социальных факторов на окружающую природную среду. Вышеприведенные аспекты изучения бешенства входят в задачи референс-центра, созданного на базе Омского НИИ природно-очаговых инфекций приказом Роспотребнадзора от 01.12.2017 № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА».

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

Список литературы

1. Hampson K., Coudeville L., Lembo T., Sambo M., Kieffer A., Attlan M., Barrat J., Blanton J.D., Briggs D.J., Cleaveland S., Costa P., Freuling C.M., Hiby E., Knopf L., Leanes F., Meslin F.-X., Metlin A., Miranda M.E., Müller T., Nel L.H., Recuenco S., Rupprecht C.E., Schumacher C., Taylor L., Antonio M., Vigilato

N., Zinsstag J., Dushoff J. Estimating the global burden of endemic canine rabies. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(4):e0003709. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003709.

2. Global elimination of dog-mediated human rabies: report of the rabies global conference, 10–11 December 2015, Geneva, Switzerland. World Health Organization, 2016. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/publications-detail/WHO-HTM-NTD-NZD-2016.02> (дата обращения 20.12.2019).

3. WHO Expert Consultation on Rabies: third report. WHO technical report series; No. 1012. WHO Press, World Health Organization, 1211 Geneva 27, Switzerland, 2018. 183 p.

4. WHO Expert Consultation on Rabies: second report. WHO technical report series; No. 982. WHO Press, World Health Organization, 1211 Geneva 27, Switzerland, 2013. 139 p.

5. Rabies Bulletin Europe. Rabies Information System of the WHO. [Электронный ресурс]. URL: <https://who-rabies-bulletin.org/> (дата обращения 15.12.2019).

6. Селимов М.А. Бешенство. М.: Медицина; 1978. 334 с.

7. Черкасский Б.Л. Эпидемиология и профилактика бешенства. М.: Медицина; 1985. 287 с.

8. Кузьмин И.В., Сидоров Г.Н., Ботвинов А.Д., Рехов Е.И. Эпизоотическая ситуация и перспективы борьбы с бешенством диких животных на юге Западной Сибири. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2001; 3:28–35.

9. Макаров В.В., Гулюкин А.М., Гулюкин М.И. Бешенство: естественная история на рубеже столетий. М.: ЗооВетКнига; 2015. 121 с.

10. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Сидорова Д.Г., Колычев Н.М. Бешенство в Российской Федерации. Информационно-аналитический бюллетень. Омск; 2009. 48 с.

11. Сидоров Г.Н., Полещук Е.М., Сидорова Д.Г. Изменение роли млекопитающих в заражении людей бешенством в России за исторически обозримый период в 16–21 века. *Зоологический журнал*. 2019; 98(4):437–52. DOI: 10.1134/S0044513419040159.

12. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Нашатырева Д.Н., Градобоева Е.А., Пакскина Н.Д., Попова И.В. Бешенство в Российской Федерации. Информационно-аналитический бюллетень. Омск: Полиграфический центр КАН; 2019. 114 с.

13. Брико Н.И., Онищенко Г.Г., Покровский В.И. Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. М.: МИА; 2019. Т. 1. 880 с.

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

15. Методические рекомендации МЗ РСФСР. Организация работы отделов особо опасных инфекций санитарно-эпидемиологических станций по профилактике бешенства. Омск; 1990. 20 с.

16. Методические рекомендации для ветеринарных специалистов и органов местного самоуправления Омской области по профилактике бешенства. Омск: ГП Омская областная типография; 2008. 157 с.

17. Полещук Е.М., Сидоров Г.Н., Березина Е.С. Бешенство в Российской Федерации. Информационно-аналитический бюллетень. Омск: Полиграфический центр КАН; 2013. 65 с.

18. Картавая С.А., Раичич С.Р., Симонова Е.Г. Бешенство в Российской Федерации: современная ситуация и эпидемиологические риски. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2016; 4:4–8.

19. Симонова Е.Г., Сабурова С.А., Левина К.Ю., Шабейкин А.А., Раичич С.Р., Ладный В.И. Современная ситуация и основные направления борьбы и профилактики бешенства в Российской Федерации. *Лечащий врач*. 2019; 6:74–6.

20. Сидорова Д.Г., Сидоров Г.Н., Полещук Е.М., Колычев Н.М. Бешенство в Восточной Сибири в XX – начале XXI веков. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2007; S3(55):168–72.

21. Березина Е.С., Сидоров Г.Н., Полещук Е.М., Сидорова Д.Г. Значение мелких диких псовых в заболеваемости людей бешенством в России. *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные*. 2011; 2:26–9.

22. Сидоров Г.Н., Савицкий В.П., Ботвинкин А.Д. Ландшафтное распределение хищных млекопитающих семейства собачьих (Canidae) как фактор формирования ареала вируса бешенства на юго-востоке СССР. *Зоологический журнал*. 1983; 62(5):761–70.

23. Хангажинов А.С., Балахонов С.В., Адельшин Р.В., Мельникова О.В., Сидорова Е.А., Андаев Е.И., Метлин А.Е., Ботвинкин А.Д. Трансграничный занос бешенства из Монголии в Бурятию. *Журнал инфекционной патологии*. 2011; 18(3–4):27–31.

24. Болошинов А.Б., Ханхарева С.С., Шобоева Р.С., Байронова Л.В., Данчинова Н.В. О бешенстве в Республике Бурятия. *Инфекция и иммунитет*. 2012; 2(1–2):212.

25. Ханхарева С.С., Шобоева Р.С., Байронова Л.В., Амагырова С.Ю. Мероприятия по ликвидации чрезвычайных ситуаций в эпизоотических очагах бешенства Республики Бурятия. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2014; 25:76–7.

26. Мурьева Г.Б., Сарыглар Л.К., Коломыцев А.А. Эколого-эпизоотологическая характеристика бешенства животных на юго-востоке Российской Федерации. *Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова*. 2013; 1(30):20–5.

27. Ботвинкин А.Д., Зарва И.Д., Якович Н.В., Адельшин Р.В., Мельникова О.В., Андаев Е.И., Шульпин М.И., Чупин С.А., Метлин А.Е., Балахонov С.В., Ханхареv С.С., Лапа С.Э., Истомина Т.Ф., Короткова И.А., Шобоева Р.С., Калугин Д.В., Бахлина Н.В., Зверева О.А., Степина В.С., Аблов А.М., Коплик М.Е., Школьников Е.Н., Щепин С.Г. Эпидемиологический анализ вспышек бешенства в Забайкалье после трансграничного заноса инфекции. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2019; 9(3):15–24. DOI: 10.18565/epidem.2019.9.3.15-24.

28. Грибанова Л.Я., Мальков Г.Б., Савицкий В.П., Сидоров Г.Н., Ботвинкин А.Д., Почекунин Д.И., Грехов В.Г., Храмова В.С. Результаты комплексного изучения природных очагов бешенства и оценка риска заболевания гидрофобией в районах новостроев Восточной Сибири и Дальнего Востока. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1980; 57(7):86–90.

29. Ботвинкин А.Д., Савицкий В.П., Сидоров Г.Н., Юдин В.Г. Значение енотовидной собаки в эпидемиологии и эпизоотологии бешенства на Дальнем Востоке. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1981; 58(12):79–82.

References

1. Hampson K., Coudeville L., Lembo T., Sambo M., Kieffer A., Atlan M., Barrat J., Blanton J.D., Briggs D.J., Cleaveland S., Costa P., Freuling C.M., Hibi E., Knopf L., Leanes F., Meslin F.-X., Metlin A., Miranda M.E., Müller T., Nel L.H., Recuenco S., Rupprecht C.E., Schumacher C., Taylor L., Antonio M., Vigilato N., Zinsstag J., Dushoff J. Estimating the global burden of endemic canine rabies. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(4):e0003709. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003709.

2. Global elimination of dog-mediated human rabies: report of the rabies global conference, 10–11 December 2015, Geneva, Switzerland. World Health Organization, 2016. (Cited 20 Dec 2019). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/publications-detail/WHO-HTM-NTD-NZD-2016.02>.

3. WHO Expert Consultation on Rabies: third report. WHO technical report series; No.1012. WHO Press, World Health Organization. 1211 Geneva 27, Switzerland, 2018. 183 p.

4. WHO Expert Consultation on Rabies: second report. WHO technical report series; No. 982. WHO Press, World Health Organization. 1211 Geneva 27, Switzerland, 2013. 139 p.

5. Rabies Bulletin Europe. Rabies Information System of the WHO. (Cited 15 Dec 2019). [Internet]. Available from: <https://who-rabies-bulletin.org/>.

6. Selimov M.A. [Rabies]. M.: Medicine; 1978. 334 p.

7. Cherkassky B.L. [Rabies Epidemiology and Prevention]. M.: Medicine; 1985. 287 p.

8. Kuzmin I.V., Sidorov G.N., Botvinov A.D., Rekhov E.I. [Epizootic situation and prospects of rabies control among wild animals in the south of Western Siberia]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2001; 3:28–35.

9. Makarov V.V., Gulyukin A.M., Gulyukin M.I. [Rabies: A Natural History at the Turn of the Century]. M.: ZooVetKniga; 2015. 121 p.

10. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N., Sidorova D.G., Kolychev N.M. [Rabies in the Russian Federation. Information and Analytical bulletin]. Omsk; 2009. 48 p.

11. Sidorov G.N., Poleshchuk E.M., Sidorova D.G. [Changes in the role of mammals in the infection of humans with rabies in Russia over the historically foreseeable period in the 16–21 centuries]. *Zoologicheskii Zhurnal* [Zoological Journal]. 2019; 98(4):437–52. DOI: 10.1134/S0044513419040159.

12. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N., Nashatyreva D.N., Gradoboeva E.A., Pakskina N.D., Popova I.V. [Rabies in the Russian Federation. Information and Analytical Bulletin]. Omsk: KAN Polygraphic Center; 2019. 114 p.

13. Briko N.I., Onishchenko G.G., Pokrovsky V.I. [Guidelines for the Epidemiology of Infectious Diseases]. M.: MIA; 2019. Vol. 1. 880 p.

14. Savilov E.D., Astafiev V.A., Zhdanova S.N., Zarudnev E.A. [Epidemiological Analysis: Methods for Statistical Processing of the Material]. Novosibirsk: Science Center; 2011. 156 p.

15. Methodical recommendations of the Ministry of Health of the RSFSR. [Organization of Work of the Departments of Especially Dangerous Infections of Sanitary-Epidemiological Stations for the Prevention of Rabies]. Omsk; 1990. 20 p.

16. [Methodical Recommendations for Veterinary Specialists and Local Authorities of the Omsk Region on the Prevention of Rabies]. Omsk: State Enterprise Omsk Regional Printing House; 2008. 157 p.

17. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N., Berezina E.S. [Rabies in the Russian Federation. Information and Analytical Bulletin]. Omsk: KAN Polygraphic Center; 2013. 65 p.

18. Kartavaya S.A., Raichich S.R., Simonova E.G. Rabies in the Russian Federation: current situation and epidemiological risks. *Epidemiologiya i Infektsionnyye Bolezni. Aktual'nyye Voprosy* [Epidemiology and Infectious Diseases. Topical Issues]. 2016; 4:4–8.

19. Simonova E.G., Saburova S.A., Levina K.Yu., Shabeikin A.A., Raichich S.R., Ladny V.I. The current situation and the main directions of the fight and prevention of rabies in the Russian Federation. *Lechashchiy Vrach* [Attending Doctor]. 2019; 6:74–6.

20. Sidorova D.G., Sidorov G.N., Poleshchuk E.M., Kolychev N.M. Rabies in Eastern Siberia in the XX – early XXI centuries. *Byulleten' Vostochno-Sibirskogo Nauchnogo Tsentra Sibirskogo Otdeleniya Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk* [Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2007; S3(55):168–72.

21. Berezina E.S., Sidorov G.N., Poleshchuk E.M., Sidorova D.G. The importance of small wild canines in the incidence of rabies in humans in Russia. *Rossiyskiy Veterinarnyy Zhurnal. Melkiye Domashniye i Dikiye Zhivotnyye* [Russian Veterinary Journal. Small Domestic and Wild Animals]. 2011; 2:26–9.

22. Sidorov G.N., Savitsky V.P., Botvinkin A.D. Landscape distribution of canine carnivorous mammals (Canidae) as a factor in the formation of the rabies virus area in the south-east of the USSR. *Zoologicheskii Zhurnal* [Zoological Journal]. 1983; 62(5):761–70.

23. Khangazhinov A.S., Balakhonov S.V., Adelshin R.V., Melnikova O.V., Sidorova E.A., Andaev E.I., Metlin A.E., Botvinkin A.D. Transboundary importation of rabies from Mongolia to Buryatia. *Zhurnal Infektsionnoy Patologii* [Journal of Infectious Pathology]. 2011; 18(3–4):27–31.

24. Boloshinov A.B., Khankhareev S.S., Shoboeva R.S., Bayronova L.V., Danchinova N.V. About rabies in the Republic of Buryatia. *Infektsiya i Immunitet* [Infection and Immunity]. 2012; 2(1–2):212.

25. Khankhareev S.S., Shoboeva R.S., Bayronova L.V., Amagirova S.Yu. Measures to eliminate emergency situations in epizootic foci of rabies in the Republic of Buryatia. *Dal'nevostochnyy Zhurnal Infektsionnoy Patologii* [Far Eastern Journal of Infectious Pathology]. 2014; 25:76–7.

26. Murueva G.B., Saryglar L.K., Kolomytsev A.A. Ecological and epizootological characteristics of animal rabies in the south-east of the Russian Federation. *Vestnik Buryatskoy Gosudarstvennoy Sel'skokhozyaystvennoy Akademii im. V.R. Filippova* [Bulletin of the Buryat State Agricultural Academy named after V.R. Filippov]. 2013; 1(30):20–5.

27. Botvinkin A.D., Zharva I.D., Yakovchits N.V., Adel'shin R.V., Melnikova O.V., Andaev E.I., Shulpin M.I., Chupin S.A., Metlin A.E., Balakhonov S.V., Khankhareev S.S., Lapa S.E., Istomina T.F., Korotkova I.A., Shoboeva R.S., Kalugin D.V., Bakhlina N.V., Zvereva O.A., Stepina V.S., Ablov A.M., Koplik M.E., Shkolnikova E.N., Shchepin S.G. Epidemiological analysis of rabies outbreaks in Transbaikalia after transboundary introduction of infection. *Epidemiologiya i Infektsionnyye Bolezni. Aktual'nyye Voprosy* [Epidemiology and Infectious Diseases. Topical Issues]. 2019; 9(3):15–24. DOI: 10.18565/epidem.2019.9.3.15-24.

28. Griбанова Л.Я., Мальков Г.Б., Савицкий В.П., Сидоров Г.Н., Ботвинкин А.Д., Почекунин Д.И., Грехов В.Г., Храмова В.С. Results of a comprehensive study of natural foci of rabies and an assessment of the risk of hydrophobia in the areas of new buildings in Eastern Siberia and the Far East. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 1980; 57(7):86–90.

29. Botvinkin A.D., Savitsky V.P., Sidorov G.N., Yudin V.G. The value of the raccoon dog in the epidemiology and epizootiology of rabies in the Far East. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 1981; 58(12):79–82.

Authors:

Poleshchuk E.M. Omsk Research Institute of Natural Focal Infections. 7, Mira Avenue, Omsk, 644080, Russian Federation. E-mail: e-poleschuk@yandex.ru.

Sidorov G.N. Omsk Research Institute of Natural Focal Infections; 7, Mira Avenue, Omsk, 644080, Russian Federation; e-mail: g.n.sidorov@mail.ru. Omsk State Pedagogical University; Omsk, Russian Federation.

Об авторах:

Полещук Е.М. Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций. Российская Федерация, 644080, Омск, пр. Мира, 7. E-mail: e-poleschuk@yandex.ru.

Сидоров Г.Н. Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций; Российская Федерация, 644080, Омск, пр. Мира, 7; e-mail: g.n.sidorov@mail.ru. Омский государственный педагогический университет; Российская Федерация, Омск.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-26-33

УДК 616.9:614.446

И.Н. Шарова¹, Т.Ю. Красовская¹, Е.В. Казорина¹, А.В. Казанцев¹, М.В. Проскурякова¹, В.Е. Куклев¹,
С.А. Щербакова¹, В.В. Кутырев¹, Р.И. Адилев², Е.В. Булычева², А.А. Троицкая², Б.Л. Агапов²,
И.С. Акимов³, О.Л. Балган³, Н.А. Чумакова³, В.А. Ткаченко³, Э.А. Глушков³, Е.Н. Рождественский⁴,
Г.Х. Базарова⁴, А.И. Мищенко⁴, Г.Б. Мухтургин⁵

ОПЫТ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОБИЛЬНЫХ ЛАБОРАТОРИЙ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА ЗА ЧУМОЙ, ДРУГИМИ ОСОБО ОПАСНЫМИ, ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫМИ, ЗООНОЗНЫМИ ИНФЕКЦИОННЫМИ БОЛЕЗНЯМИ

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Астраханская противочумная станция», Астрахань, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Тувинская противочумная станция», Кызыл, Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», Горно-Алтайск, Российская Федерация;

⁵ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация

Представлены материалы по использованию мобильных лабораторий, разработанных в РФ, в рамках четырех направлений: мониторинг территорий с целью выявления циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней; мониторинг территорий в период обострения эпизоотической ситуации; участие в ликвидации вспышек инфекционных болезней; мониторинг территории с целью контроля и прогноза эпидемиологической и эпизоотологической ситуации при подготовке к проведению массовых мероприятий. Рассмотрены тактико-технические характеристики и порядок организации работ мобильной лаборатории мониторинга и диагностики, размещенной на базе автомобиля КамАЗ. Отличительной особенностью лаборатории от имеющихся российских и зарубежных аналогов является наличие необходимых условий для проведения исследований с использованием бактериологического анализа, методов экспресс- и ускоренной диагностики, выполнения полного цикла работ – от подготовительного этапа до деструкции инфицированного материала. Высокотехнологичное оборудование позволяет использовать две схемы проведения исследования: первая – бактериологический анализ совместно с постановкой ПЦР, что обеспечивает высокую достоверность полученных результатов; вторая – проведение на первом этапе ПЦР, а при выявлении генетических маркеров возбудителя – выполнение бактериологического анализа положительных проб с целью выделения культуры возбудителя и ее последующей идентификации. Вторая схема позволит сократить объем бактериологических исследований, внести изменения в тактику эпизоотологического обследования. Испытания мобильной лаборатории показали эффективность ее использования при эпизоотологическом обследовании природных очагов чумы, в том числе трансграничных. Благодаря применению мобильной лаборатории в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы выявлен новый эпизоотический участок, расположенный на отдаленной территории, используемый населением в качестве летнего пастбища для выпаса домашних животных. Применение мобильных лабораторий обеспечит усиление лабораторной базы учреждений, осуществляющих мониторинг особо опасных, природно-очаговых и других опасных инфекционных болезней, будет способствовать приближению современных диагностических технологий непосредственно к природному очагу, снижению риска развития эпидемических осложнений по чуме и другим особо опасным инфекциям в трансграничных природных очагах.

Ключевые слова: мобильная лаборатория, индикация, бактериологический анализ, ПЦР, ИФА, ИХА, эпидемиологический надзор, эпизоотологический мониторинг, обеспечение биологической безопасности.

Корреспондирующий автор: Шарова Ирина Николаевна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Шарова И.Н., Красовская Т.Ю., Казорина Е.В., Казанцев А.В., Проскурякова М.В., Куклев В.Е., Щербакова С.А., Кутырев В.В., Адилев Р.И., Булычева Е.В., Троицкая А.А., Агапов Б.Л., Акимов И.С., Балган О.Л., Чумакова Н.А., Ткаченко В.А., Глушков Э.А., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Мищенко А.И., Мухтургин Г.Б. Опыт и перспективы использования мобильных лабораторий при проведении эпидемиологического надзора за чумой, другими особо опасными, природно-очаговыми, зоонозными инфекционными болезнями. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:26–33. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-26-33

Поступила 13.12.18. Отправлена на доработку 18.01.19. Принята к публ. 11.09.20.

I.N. Sharova¹, T.Yu. Krasovskaya¹, E.V. Kazorina¹, A.V. Kazantsev¹, M.V. Proskuryakova¹,
V.E. Kuklev¹, S.A. Shcherbakova¹, V.V. Kutyrev¹, R.I. Adilov², E.V. Bulycheva², A.A. Troitskaya²,
B.L. Agapov², I.S. Akimov³, O.L. Balgan³, N.A. Chumakova³, V.A. Tkachenko³, E.A. Glushkov³,
E.N. Rozhdestvensky⁴, G.Kh. Bazarova⁴, A.I. Mishchenko⁴, G.B. Mukhturgin⁵

Lessons Learned from and Prospects of Using Mobile Laboratories for Epidemiological Surveillance over Plague, Other Particularly Dangerous, Natural-Focal, Zoonotic Infectious Diseases

¹Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

²Astrakhan Plague Control Station, Astrakhan, Russian Federation;

³Tuva Plague Control Station, Kyzyl, Russian Federation;

⁴Altai Plague Control Station, Gorno-Altai, Russian Federation;

⁵Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The review presents the materials on the use of mobile laboratories, developed in the Russian Federation, in the framework of four main areas: monitoring of territories to identify the circulation of pathogens of natural-focal infectious diseases; monitoring of territories during the exacerbation of the epizootic situation; participation in the elimination of outbreaks of infectious diseases; monitoring of territories to control and predict the epidemiological and epizootologic situation in preparation for mass events. The tactical and technical characteristics and the procedure for organizing the operation of the mobile laboratory for monitoring and diagnostics mounted on the platform of the KamAZ chassis are considered. A distinctive feature of the laboratory from the existing Russian and foreign counterparts is the availability of the necessary conditions for conducting research using bacteriological analysis, rapid and accelerated diagnostic methods, and performing a full cycle of works – from the preparatory stage to the destruction of infected material. High-tech equipment allows the realization of two research schemes: the first – bacteriological analysis alongside the PCR, which ensures high reliability of the results; the second – conducting the PCR at the first stage, and when identifying genetic markers of the pathogen – performing bacteriological analysis of positive samples in order to isolate the culture of the pathogen and identify it subsequently. The second scheme will reduce the volume of bacteriological studies; make changes in the tactics of epizootological survey. Tests of the mobile laboratory have demonstrated the effectiveness of its use in the epizootological examination of natural plague foci, including cross-border ones. Owing to the use of a mobile laboratory in the Gorno-Altai high-mountain natural focus of plague, a new epizootic site was identified, located in a remote area, used by the population as a summer pasture for grazing domestic animals. The use of mobile laboratories will strengthen the laboratory base of institutions that monitor particularly dangerous, natural-focal and other dangerous infectious diseases; will help to bring the advanced diagnostic technologies directly to the natural focus, reduce the risk of epidemic complications due to plague and other particularly dangerous infections in cross-border natural foci.

Key words: mobile laboratory, indication, bacteriological analysis, PCR, ELISA, ICA, epidemiological surveillance, epizootological monitoring, provision of biological safety.

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

Corresponding author: Irina N. Sharova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Sharova I.N., Krasovskaya T.Yu., Kazorina E.V., Kazantsev A.V., Proskuryakova M.V., Kuklev V.E., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V., Adilov R.I., Bulycheva E.V., Troitskaya A.A., Agapov B.L., Akimov I.S., Balgan O.L., Chumakova N.A., Tkachenko V.A., Glushkov E.A., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Mishchenko A.I., Mukhturgin G.B. Lessons Learned from and Prospects of Using Mobile Laboratories for Epidemiological Surveillance over Plague, Other Particularly Dangerous, Natural-Focal, Zoonotic Infectious Diseases. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:26–33. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-26-33

Received 13.12.18. Revised 18.01.19. Accepted 11.09.20.

Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>

Kutyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Важными стратегическими направлениями современной Концепции функционирования системы противочумных учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, принятой до 2020 г., остаются совершенствование эпидемиологического надзора за чумой, другими особо опасными, природно-очаговыми, зоонозными инфекционными болезнями, а также совершенствование системы оперативного реагирования и предупреждения ЧС санитарно-эпидемиологического характера [1–7]. Реализации обоих направлений способствует разработка и внедрение в практику противочумных учреждений мобильных лабораторий, оснащенных высокотехнологичным оборудованием и обеспечивающих проведение диагностических исследований непосредственно в очаге инфекции [8–10]. Эффективность использования мобильных лабораторий не раз доказана при ликвидации вспышек инфекционных болезней, вызванных особо опасными вирусами [11–14].

Опыт использования мобильной лаборатории эпидемиологической разведки и индикации. Первой мобильной лабораторией, в которой не только осуществлялись исследования с использованием современных методов лабораторной диагностики (ПЦР, ИФА, ИХА, МФА), но и обеспечивался необходимый уровень биологической безопасности работ, стала мобильная лаборатория эпидемиологической раз-

ведки и индикации на базе автомашины ГАЗ-2705, разработанная ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» [8].

За время эксплуатации лаборатории с 2007 г. можно выделить четыре основных направления ее использования. Одно из них – мониторинг территорий с целью выявления циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней.

До настоящего времени мобильная лаборатория эпидразведки и индикации используется при проведении эпизоотологического мониторинга природных очагов опасных инфекционных болезней на территории Саратовской области. Районы области контролируются на возможность заноса, распространения и циркуляции возбудителей туляремии, лихорадки Западного Нила, инфекций, передаваемых клещами (иксодового клещевого боррелиоза, клещевого энцефалита, гранулозитарного анаплазмоза человека, моноцитарного эрлихиоза человека), геморрагической лихорадки с почечным синдромом, гриппа птиц и других инфекций.

В 2007, 2011, 2015 гг. лаборатория использовалась с целью мониторинга циркуляции возбудителя чумы на территории Прикаспийского Северо-Западного степного природного очага в Республике Калмыкия и Волго-Уральского степного, Волго-Уральского песчаного и Прикаспийского песчаного природных очагов чумы в Астраханской области [15]. В Ставропольском крае в 2007 г. лаборатория была

задействована для определения мест циркуляции возбудителей КГЛ, ЛЗН, лептоспироза [16].

Второе направление – мониторинг территорий в период обострения эпизоотической ситуации. Для решения этой задачи мобильная лаборатория использовалась в 2007 г. в высокогорных районах Кабардино-Балкарской Республики на территории Центрально-Кавказского природного очага чумы. В период работы на базе мобильной лаборатории методом ПЦР в двух пробах блох (*Citellophilus tesquorum*) с очеса горного суслика и из входов нор выявлена ДНК возбудителя чумы и впервые положительный результат ПЦР подтвержден бактериологическим методом в стационарной лаборатории Былымского эпидотряда [16].

В Астраханской области в 2014–2015 гг. эффективность использования мобильной лаборатории и методов диагностики, применяемых в лаборатории, подтверждены в ходе эпидемиологического надзора за чумой на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы при возникновении разлитой эпизоотии этой инфекции. При проведении эпизоотологического мониторинга ПЦР использовали как на этапе индикации при исследовании нативного материала, так и при идентификации выделенных культур возбудителя чумы. Полученные результаты свидетельствовали о высокой информативности этого метода при работе с полевым материалом и культурами возбудителя. Отмечена высокая информативность ПЦР для поиска эпизоотийных участков. Анализ распределения положительных в ПЦР проб по секторам давал возможность корректировать направление поиска таких участков, повышал вероятность выделения культуры возбудителя. Быстрота получения ответа при использовании ПЦР позволяла координировать работу зоогрупп, осуществляющих эпизоотологический мониторинг, своевременно и оперативно вносить коррективы в календарно-территориальные планы [17]. Установлена высокая корреляция результатов ИФА, направленного на выявление ФІ чумного микроба, с результатами бактериологического анализа. Подтверждена эффективность и быстрота получения ответа при исследовании методом ИХА суспензий органов трупов грызунов.

Третьим направлением использования мобильной лаборатории является участие в ликвидации вспышек инфекционных болезней. В 2008 г. мобильная лаборатория эпидразведки и индикации была использована при проведении эпидемиологического расследования вспышки сибирской язвы в Янаульском районе Республики Башкортостан, что позволило своевременно осуществить комплекс противоэпидемических и профилактических мероприятий и ликвидировать вспышку сибирской язвы в предельно короткие сроки. Зимой того же года мобильная лаборатория была задействована при проведении эколого-эпизоотологического обследования лесных массивов, прилегающих к г. Аткарку Саратовской области, в период вспышки ГЛПС в районе. В 2014 г. мобильная лаборатория исполь-

зовалась при эпидемиологическом расследовании вспышки лептоспироза в д. Полянки Октябрьского района городского округа Саранск Республики Мордовия. Был установлен источник инфекции и фактор передачи, реализован комплекс противоэпидемических и профилактических мероприятий по локализации и ликвидации очага.

Еще одно направление использования мобильной лаборатории – мониторинг территории с целью контроля и прогноза эпидемиологической и эпизоотологической ситуации при подготовке к проведению массовых мероприятий. В рамках этого направления лаборатория была использована в 2013 г. в период подготовки к проведению XXVII Всемирной летней Универсиады в Казани [18, 19]. Осуществлен мониторинг циркуляции возбудителей туляремии, лептоспироза, ГЛПС, ЛЗН и других инфекционных болезней, актуальных для Республики Татарстан.

Современные модификации мобильной лаборатории на базе автошасси, тактико-технические характеристики лабораторий. Опыт конструирования и эксплуатации мобильной лаборатории эпидразведки и индикации использован при создании следующего поколения лабораторий на шасси автомобиля «Газель» – микробиологической лаборатории экспресс-диагностики (МЛЭД). Инженерно-техническое оснащение лаборатории обеспечивало повышение уровня биологической безопасности и улучшение эргономических характеристик.

В октябре 2014 г. вступило в силу распоряжение Правительства Российской Федерации № 1965-р по оказанию в 2015–2016 гг. государствам-участникам СНГ материально-технической и методической поддержки внедрения положений Международных медико-санитарных правил (2005 г.) в целях укрепления национального потенциала в сфере борьбы с инфекционными болезнями. В рамках реализации данного распоряжения создано 10 лабораторий, которые поставлены в пять стран СНГ (Беларусь, Казахстан, Армению, Кыргызстан, Таджикистан). Еще четыре лаборатории поставлены в Казахстан, Узбекистан, Кыргызстан и Монголию в рамках реализации распоряжения Правительства РФ от 26.05.2017 № 1060-р [20].

В 2017 г. в соответствии с двухсторонним соглашением о сотрудничестве ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» (РосНИПЧИ «Микроб») с Республиканским центром карантинных и особо опасных инфекций (РЦКиООИ) Министерства здравоохранения Кыргызской Республики и в ответ на запрос директора Центра, специалистами сезонного противоземического отряда «Манас» совместно со специалистами ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» проведено эпизоотологическое обследование Манасского мезоочага Таласского высокогорного природного очага чумы Кыргызской Республики, в ходе которого задействована микробиологическая лаборатория экспресс-диагностики на базе автошасси [21]. Исследования

методами ПЦР и ИФА осуществляли в мобильной лаборатории, бактериологический анализ – в лаборатории эпидотряда. В 2018 г. лаборатория была использована при проведении эпизоотологического мониторинга Центрального и Южного мезоочагов Аксайского высокогорного очага чумы, долины реки Тарагай, а также в обеспечении эпидемиологического надзора во время проведения III Всемирных игр кочевников в Кыргызской Республике.

В 2019 г. для проведения эпизоотологического обследования приграничного Хархира-Тургенского природного очага чумы на территории Монголии использована мобильная микробиологическая лаборатория экспресс-диагностики, подаренная Российской Федерацией Национальному центру зоонозных инфекций Министерства здравоохранения Монголии. На базе лаборатории для выявления маркеров *Yersinia pestis* российско-монгольскими специалистами исследовано более 200 проб полевого материала [22].

В рамках реализации мер по борьбе с пандемией новой коронавирусной инфекции (COVID-19) использование МЛЭД позволило расширить и укрепить лабораторную сеть в республиках Казахстан, Узбекистан, Кыргызстан, Таджикистан и обеспечить увеличение объема исследований клинического и биологического материала на наличие возбудителя SARS-CoV-2 методом ПЦР [23, 24].

В соответствии с распоряжением Правительства Российской Федерации от 05.09.2016 № 1864-р в 2017 г. создана следующая модификация мобильной лаборатории – мобильная лаборатория мониторинга и диагностики (МЛМД). Ее отличительной особенностью от имеющихся российских и зарубежных аналогов является наличие необходимых условий для проведения исследований с использованием бактериологического анализа, методов экспресс- и ускоренной диагностики, выполнения полного цикла работ – от подготовительного этапа (розлива питательных сред) до деструкции инфицированного материала [25–27].

Лаборатория предназначена для осуществления лабораторной диагностики чумы и других опасных инфекционных болезней бактериальной и вирусной этиологии при проведении эпидемиологического надзора за природными очагами инфекционных болезней, в том числе трансграничными. Функциональные возможности лаборатории позволяют использовать ее для усиления лабораторной базы стационарных лабораторий или как самостоятельную единицу при проведении мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения в случае обострения эпидемической ситуации и/или при проведении массовых мероприятий.

Лаборатория размещена на базе кузова-фургона, установленного на шасси автомобиля КамАЗ, модифицированного с учетом особенностей конструкции лаборатории. Внутри кузов разделен на лаборатор-

ный блок и технический отсек, изолированный от помещений лаборатории.

МЛМД обеспечена холодным и горячим водоснабжением, электричеством, отоплением, оборудована системой приточно-вытяжной вентиляции с автоматическим поддержанием разницы давления между помещениями, оснащенной высокоэффективными фильтрами очистки воздуха класса H14.

Лабораторный блок включает:

- помещение для снятия личной, надевания рабочей и защитной одежды;
- душевую;
- амбур-шлюз (помещение для снятия защитной одежды);
- помещение для микробиологических исследований;
- шлюзовую камеру для приема и передачи материала.

Для осуществления диагностических исследований методами ПЦР, ИФА, МФА, бактериологического анализа, проведения паразитологических работ, деструкции заразного материала лаборатория оснащена:

- боксом микробиологической безопасности БМБ-II «Ламинар-С»-1,5 (БМБ (1,5));
- боксом микробиологической безопасности БМБ-II «Ламинар-С»-1,2 (БМБ (1,2));
- боксом абактериальной воздушной среды для работы с реакционными смесями при проведении ПЦР-диагностики БАВ-ПЦР «Ламинар-С» (ПЦР-бокс);
- 2 лабораторными термостатами;
- 3 автомобильными холодильниками с поддержанием температур от +3 °С до минус 20 °С;
- микроволновой системой обеззараживания медицинских отходов или автоклавом;
- оборудованием, позволяющим осуществлять выделение культур, индикацию и идентификацию возбудителей опасных инфекционных болезней;
- лабораторной мебелью.

Следует отметить, что инженерно-техническое обеспечение мобильной лаборатории позволяет использовать для проведения исследований современное высокотехнологичное оборудование, что приближает передовые диагностические технологии к природному очагу. Объемно-планировочные решения и размещение оборудования лаборатории обеспечивают поточность продвижения ПБА и персонала, соблюдение требований биологической безопасности при выполнении работ. В лаборатории имеются необходимые условия для работы с микроорганизмами I (кроме вирусов) – IV групп патогенности.

Испытания мобильной лаборатории мониторинга и диагностики, порядок организации работ.

Функциональные и технические характеристики мобильной лаборатории определили номенклатуру диагностических исследований, которая включает:

- лабораторные исследования проб биологического материала и объектов окружающей среды, ото-

бранных в ходе эпизоотологического обследования территории природного очага особо опасных и очагов других опасных инфекционных болезней;

- лабораторные исследования проб, в том числе клинического материала, при проведении экстренных противоэпидемических мероприятий по выявлению, локализации и ликвидации очагов опасных инфекционных болезней бактериальной и вирусной этиологии, в том числе возникших вследствие активизации природных очагов инфекций или в период проведения массовых мероприятий.

Тестовые испытания трех из пяти мобильных лабораторий проведены на базе Алтайской, Тувинской ПЧС, а также Яндыковского противочумного отделения и Досангского противоэпидемического отряда Астраханской ПЧС в период эпизоотологического обследования территорий Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы (участки: окрестности озер Каракуль и Зерликоль-Нур, Жумалы, Восточная и Центральная части Курайского хребта), урочищ Кургак, Доргун и Боро-Шивеки Тувинского природного очага чумы, Волго-Уральского песчаного и Прикаспийского песчаного природных очагов чумы соответственно. В мобильных лабораториях в автономном режиме методами бактериологического анализа, ИФА и/или ПЦР исследованы 297 проб суспензий органов млекопитающих (сурок, суслик длиннохвостый, даурская пищуха, полуденная и гребенщикова песчанки, серый хомячок), 94 объединенные пробы суспензий эктопаразитов, счесанных с грызунов и собранных из входов нор. С использованием мобильной лаборатории, работающей в автономном режиме, в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы в августе 2018 г. выявлен новый эпизоотический участок Жумалы, расположенный на отдаленной, труднодоступной территории, используемый населением района в качестве летнего пастбища для выпаса домашних животных. В 2018 г. мобильная лаборатория мониторинга и диагностики Алтайской противочумной станции использована при проведении совместного эпизоотологического обследования монгольской части (Баян-Ульгийский аймак Монголии) трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы на территории, расположенной в непосредственной близости от государственной границы РФ. В ходе обследования на базе лаборатории выделено 47 культур возбудителя чумы [21].

При проведении испытаний определен ряд важных характеристик мобильной лаборатории и порядок организации работ. Для эффективного функционирования МЛМД при осуществлении лабораторной диагностики в рамках профилактических и противоэпидемических мероприятий в природных очагах чумы, сочетанных природных очагах инфекционных болезней бактериальной и вирусной этиологии и обеспечения режима работы в одну смену в штатный состав лаборатории должны входить не менее 4 специалистов лабораторного звена (2 врача, 2 лаборанта или лаборант и медицинский дезинфек-

тор) и зоопаразитолог.

Порядок проведения исследований в мобильной лаборатории предусматривает:

- прием, сортировку и регистрацию зоологопаразитологического или клинического материала;
- первичную подготовку зоологопаразитологического материала к лабораторному исследованию (определение видовой принадлежности млекопитающих и эктопаразитов, показателей, характеризующих генеративное и физиологическое состояние, формирование проб для группового или индивидуального исследования, очес и вскрытие грызунов, разбор гнезд и др.);
- подготовку проб к исследованию (концентрирование материала путем центрифугирования, перевод сухих и плотных материалов в жидкую фазу и др.);
- индикацию возбудителей инфекционных болезней методами ПЦР, ИФА и МФА;
- выявление антител к возбудителям в серологических реакциях;
- выделение культур возбудителей инфекционных болезней бактериальной этиологии;
- идентификацию выделенных культур возбудителей по сокращенной схеме;
- деструкцию инфицированных объектов;
- подготовку дифференциально-диагностических питательных сред и сред накопления.

Для выполнения каждого раздела регламентированных работ определены рабочие места. Проведение подготовительных работ, а также работы с необеззараженным материалом и выделенными культурами микроорганизмов следует осуществлять в БМБ (1,5). Для выделения НК используют БМБ (1,2). После завершения всех работ и проведения текущей дезинфекции боксы можно использовать для розлива питательных сред. Приготовление реакционных смесей для ПЦР выполняют в ПЦР-боксе. Для учета результатов реакций, проведения паразитологических исследований используют соответствующие рабочие места, организованные на лабораторных столах.

С целью повышения эффективности и обеспечения биологической безопасности работ проведение исследований биологического материала и проб объектов окружающей среды, отобранных в ходе эпизоотологического мониторинга природного очага, следует осуществлять в два этапа: первичную подготовку проб, приготовление и посев на питательные среды суспензий эктопаразитов и органов мелких млекопитающих, проб объектов окружающей среды необходимо выполнять до перерыва; исследования методом ПЦР, ИФА, МФА, просмотр посевов на чашках, розлив питательных сред – после проведения текущей дезинфекции, обеззараживания помещения УФ-облучением и перерыва.

Высокая информативность ПЦР при эпизоотологическом мониторинге природных очагов инфекционных болезней позволяет рассматривать возможность применения двух схем исследования полевого

материала: первая – использование бактериологического метода совместно с постановкой ПЦР, что обеспечивает высокую достоверность полученных результатов; вторая – проведение на первом этапе ПЦР, а при выявлении генетических маркеров возбудителя – выполнение бактериологического анализа положительных проб с целью выделения культуры возбудителя и ее последующей идентификации. Использование второй схемы позволит внести изменения в тактику эпизоотологического обследования, сократить объем бактериологических исследований, что важно при работе мобильной лаборатории в автономном режиме на отдаленных территориях или в полевых условиях. Перспективность такого подхода показана при проведении эпизоотологического обследования трансграничных природных очагов чумы Северо-Западной Монголии [22, 28].

Таким образом, использование мобильных лабораторий обеспечит усиление лабораторной базы учреждений, осуществляющих мониторинг особо опасных, природно-очаговых и других опасных инфекционных болезней, будет способствовать приближению современных диагностических технологий непосредственно к природному очагу и совершенствованию эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями в целом, а также реализации научно-практических программ взаимодействия, направленных на снижение риска развития эпидемических осложнений по чуме и другим особо опасным инфекциям в трансграничных природных очагах.

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

Список литературы

1. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Скударева О.Н., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Удовиченко С.К., Шиянова А.Е., Кедрова О.В., Казакова Е.С., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Совершенствование научно-обоснованной модели обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия при массовых мероприятиях на примере чемпионата мира по футболу в России в 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 1:6–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-6-16.
2. Смоленский В.Ю., Удовиченко С.К., Топорков В.П., Кутырев В.В. О рисках возникновения чрезвычайных ситуаций в области биологической безопасности международного значения и их предикторах. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 3:5–11. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-5-11.
3. Попов Н.В., Карнаухов И.Г., Пакскина Н.Д., Ерошенко Г.А., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Поршаков А.М., Куклев Е.В., Иванова А.В., Корзун В.М., Косилко С.А., Зенкевич Е.С., Попов В.П., Лопатин А.А., Аязбаев Т.З., Балахонов С.В., Кутырев В.В. Оценка современной эпидемиологической обстановки в природных очагах чумы мира. Повышение эффективности эпидемиологического надзора в природных очагах чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 1:81–88. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-81-88.
4. Балахонов С.В., Корзун В.М., Косилко С.А., Михайлов Е.П., Щучин Л.В., Мищенко А.И., Зарубин И.В., Рощевский Е.Н., Денисов А.В. Актуальные аспекты обеспечения эпидемиологического благополучия по чуме населения Республики Алтай. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(4):42–8. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-4-42-48.
5. Онищенко Г.Г., Кузькин Б.П., Ракитин И.А., Башкетова Н.С., Коржаев Ю.Н., Гречанинова Т.А., Дятлов И.А., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Щербакова С.А., Казакова Е.С., Шарова И.Н. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита «Группы двадцати» в Санкт-Петербурге

в 2013 г. Сообщение 1. Эпидемиологические риски и основные направления мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки к проведению Саммита. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 4:5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-5-10.

6. Онищенко Г.Г., Кузькин Б.П., Ракитин И.А., Башкетова Н.С., Коржаев Ю.Н., Гречанинова Т.А., Дятлов И.А., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Щербакова С.А., Казакова Е.С., Шарова И.Н. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита «Группы двадцати» в Санкт-Петербурге в 2013 г. Сообщение 2. Организация и приоритетные направления работы в период проведения Саммита. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 4:11–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-11-15.

7. Носков А.К., Акимов И.С., Вержущий Д.Б., Климов В.Т., Чеснокова М.В., Косилко С.А., Балахонов С.В. Обеспечение эпидемиологического благополучия при проведении регионального мероприятия с международным участием. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(2):34–9. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-2-34-39.

8. Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г. Применение мобильных лабораторий для противоэпидемического обеспечения населения в условиях чрезвычайных ситуаций. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2007; 1:27–9.

9. Шарова И.Н., Карнаухов И.Г., Казакова Е.С., Щербаков Д.А., Пчелинцева М.В., Чекашов В.Н., Поршаков А.М., Глазков А.Н., Щербакова С.А., Топорков А.В., Кутырев В.В. Разработка мобильной лаборатории индикации для осуществления эпизоотологического мониторинга природно-очаговых и других опасных инфекционных болезней. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 4:45–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-45-48.

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

11. Grolla A., Jones S.M., Fernando L., Strong J.E., Ströher U., Möller P., Paweska J.T., Burt F., Pablo Palma P., Sprecher A., Formenty P., Roth C., Feldmann H. The use of a mobile laboratory unit in support of patient management and epidemiological surveillance during the 2005 Marburg Outbreak in Angola. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5(5):e1183. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001183.

12. Grolla A., Jones S., Kobinger G., Sprecher A., Girard G., Yao M., Roth C., Artsob H., Feldmann H., Strong J.E. Flexibility of mobile laboratory unit in support of patient management during the 2007 Ebola-Zaire outbreak in the Democratic Republic of Congo. *Zoonoses Public Health*. 2012; 59(Suppl 2):151–7. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2012.01477.x.

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

14. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Ликвидация эпидемии Эбола в Гвинейской Республике: опыт работы специализированной противэпидемической бригады Роспотребнадзора. М.: ООО «Творческий информационно-издательский центр»; 2016. 354 с.

15. Шарова И.Н., Кутырев И.В., Красовская Т.Ю., Чекашов В.Н., Матросов А.Н., Шилов М.М., Удовиков А.И., Дмитриенко В.В., Жуковская А.П., Бачаев Б.М., Тюнников В.Д., Санджиев В.Б., Кулик А.А., Гайворонский И.Н., Подсвилов А.В., Журавлев В.И., Богданова Т.А., Лещук В.А., Кабин В.В., Топорков А.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Полевые испытания мобильной лаборатории эпидразведки и индикации. Сообщение 2. Полевые испытания мобильной лаборатории эпидразведки и индикации на территории Астраханской и Саратовской областей, Республики Калмыкия. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 3:34–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-3(101)-34-38.

16. Шарова И., Сурхаев Д., Бредгауер Л., Горелкина Л., Коржов П., Казаков А., Беппаев Ю., Шинкарева В., Пшихачев Н., Карнаухов И., Топорков А., Щербакова С., Бабий А., Жарникова И., Цыганкова Е., Кутырев И., Куклев В., Красовская Т., Чекашов В., Матросов А., Шилов М., Яковлев С., Куличенко А., Ефременко В., Тихенко Н., Жданова Е., Кутырев В. Полевые испытания мобильной лаборатории эпидразведки и индикации. Сообщение 1. Полевые испытания мобильной лаборатории эпидразведки и индикации на территории Саратовской области, Ставропольского края и Кабардино-Балкарской Республики. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 2:30–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-2(100)-30-37.

17. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Безсмертный В.Е., Топорков В.П., Попов Н.В., Кабин В.В., Яшуков К.Б., Бамматов Д.М., Ковтунов А.И., Санджиев Д.Н., Зенкевич Е.С., Гражданов А.К., Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Шарова И.Н., Лопатин А.А., Григорьев М.П.,

Куличенко А.Н. Обеспечение эпидемиологического благополучия по чуме в условиях обострения эпизоотической обстановки в Прикаспийском песчаном природном очаге в 2014 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 4:22–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-22-29.

18. Чекашов В.Н., Пяташина М.А., Яковлев С.А., Красовская Т.Ю., Шилов М.М., Захаров К.С., Шарова И.Н., Попов Н.В., Зиятдинов В.Б., Садреева Л.Ф., Гайнуллин А.А., Сайфуллина Г.Ш. Организация и проведение эпизоотологического обследования в условиях массовых мероприятий (на примере XXVII Всемирной летней универсиады 2013 г. в Казани). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 2:37–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-2-37-40.

19. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. XXVII Всемирная летняя универсиада 2013 года в Казани. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия. Тверь: ООО «Издательство «Триад»; 2013. 528 с.

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

21. Кутырев В.В., Попова А.Ю., редакторы. Обеспечение эпидемиологического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях. Ижевск: ООО «Издательство «Принт»; 2018. 336 с. DOI: 10.23648/PRNT.2445.

22. Холин А.В., Шаракшанов М.Б., Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М., Оргилбаяр Л., Ганхуяг Ц., Гандболд Д., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д., Цэрэндүлам Б., Эрдэнэцэцэг Г., Пагмадулам Н., Бадамцэцэг М., Бужинхам Л., Эрдэнэцэцэг Я., Амарсанаа Г., Алтангэрэл Я., Балахонов С.В. Результаты эпизоотологического обследования приграничной с Россией части Хархир-Тургенского природного очага чумы Монголии в 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:129–34. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-129-134.

23. Саидалиев С.С., Мирзабаев Д.С., Мадаминов М.М. Опыт борьбы с коронавирусной инфекцией в Республике Узбекистан. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:138–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-138-140.

24. Херай С.В., Джапарова А.К., Дуйшеналиева Э.М., Калмырзаев Б., Касымбекова К.Т., Кучук Т.Э., Усенбаев Н.Т., Жунушов А.Д. Молекулярная диагностика коронавирусной инфекции в Кыргызской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:141–3. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-141-143.

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

26. Chen Z.L., Chang G.H., Zhang W.Y., Chen Y., Wang X.S., Yang R.F., Liu C. Mobile laboratory in Sierra Leone during outbreak of Ebola: practices and implications. *Sci. China Life Sci.* 2015; 58:918–21. DOI: 10.1007/s11427-015-4912-6.

27. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухова И.Г., Щербаклова С.А., Казакова Е.С., Щербаклова С.А. Обеспечение модернизации специализированных противозидемических бригад (СПЭБ) на современном этапе. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 3:10–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-3(101)-10-18.

28. 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., Уржик 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.

References

- Popova A.Yu., Ezhlova E.V., Demina Yu.V., Pakskina N.D., Skudareva O.N., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Udovichenko S.K., Shiyanova A.E., Kedrova O.V., Kazakova E.S., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Improvement of the scientifically-substantiated model of sanitary-epidemiological welfare provision during mass events by the example of FIFA World Cup-2018 in Russia]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (1):6–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-6-16
- Smolensky V.Yu., Udovichenko S.K., Toporkov V.P., Kutyrev V.V. [Regarding the risks of occurrence of emergency situations in the sphere of biological safety of international concern and their predictors]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; (3):5–11. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-5-11
- Popov N.V., Karnaukhov I.G., Pakskina N.D., Eroshenko G.A., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Porshakov A.M., Kouklev

E.V., Ivanova A.V., Korzun V.M., Kosilko S.A., Zenkevich E.S., Popov V.P., Lopatin A.A., Ayazbaev T.Z., Balakhonov S.V., Kutyrev V.V. [Analysis of the current epidemiological situation in natural plague foci around the world. Enhancement of the effectiveness of epidemiological surveillance in natural plague foci of the Russian Federation and forecast of their epizootic activity for 2019]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (1):81–88. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-81-88

4. Balakhonov S.V., Korzun V.M., Kosilko S.A., Mikhailov E.P., Shchuchinov L.V., Mishchenko A.I., Zarubin I.V., Rozhdestvensky E.N., Denisov A.V. [Actual aspects of anti-plague epidemiological well-being support for population in Altai Republic]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2016; 15(4):42–8. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-4-42-48

5. Onishchenko G.G., Kuz'kin B.P., Rakitin I.A., Bashketova N.S., Korzhaev Yu.N., Grechaninova T.A., Dyatlov I.A., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Kazakova E.S., Sharova I.N. [Sanitary-epidemiological welfare provision in the preparations to and management of the "G-20" Summit in Saint-Petersburg, 2013. Communication 1. Epidemiological risks and core operations for sanitary-epidemiological welfare provision in the preparations to the Summit]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (4):5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-5-10

6. Onishchenko G.G., Kuz'kin B.P., Rakitin I.A., Bashketova N.S., Korzhaev Yu.N., Grechaninova T.A., Dyatlov I.A., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Kazakova E.S., Sharova I.N. [Sanitary-epidemiological welfare provision in the preparations to and management of the "G-20" Summit in Saint-Petersburg, 2013. Communication 2. Management and priority areas of anti-epidemic activities as regards "G-20" Summit Campaign]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (4):11–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-11-15

7. Noskov A.K., Akimova I.S., Verzhutsky D.B., Klimov V.T., Chesnokova M.V., Kosilko S.A., Balakhonov S.V. [Support of epidemiological well-being during regional event with the international participation]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2016; 15(2):34–9. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-2-34-39

8. Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G. [Application of mobile laboratories for anti-epidemic support of the population under emergency situations]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2007; (1):27–9.

9. Sharova I.N., Karnaukhov I.G., Kazakova E.S., Scherbakov D.A., Pchelintseva M.V., Chekashov V.N., Porshakov A.M., Glazkov A.N., Scherbakova S.A., Toporkov A.V., Kutyrev V.V. [Development of mobile indication laboratory for carrying out the epizootiological monitoring of natural-focal and other dangerous infectious diseases]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; (4):45–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-45-48

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

11. Grolla A., Jones S.M., Fernando L., Strong J.E., Ströher U., Möller P., Paweska J.T., Burt F., Pablo Palma P., Sprecher A., Formenty P., Roth C., Feldmann H. The use of a mobile laboratory unit in support of patient management and epidemiological surveillance during the 2005 Marburg outbreak in Angola. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2011; 5(5):e1183. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001183.

12. Grolla A., Jones S., Kobinger G., Sprecher A., Girard G., Yao M., Roth C., Artsob H., Feldmann H., Strong J.E. Flexibility of mobile laboratory unit in support of patient management during the 2007 Ebola-Zaire outbreak in the Democratic Republic of Congo. *Zoonoses Public Health*. 2012; 59(Suppl 2):151–7. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2012.01477.x.

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

14. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Elimination of the Ebola Epidemic in the Republic of Guinea: Experience of the Specialized Anti-Epidemic Team of the Rospotrebnadzor]. Moscow: "Creative Information and Publishing Center", LLC; 2016. 354 p.

15. Sharova I.N., Kutyrev I.V., Krasovskaya T.Yu., Chekashov V.N., Matrosov A.N., Shilov M.M., Udovikov A.I., Dmitrienko V.V., Zhukovskaya A.P., Bachaev B.M., Tyunnikova V.D., Sandzhiev V.B., Kulik A.A., Gayvoronskiy I.N., Podsvirov A.V., Zhuravlev V.I., Bogdanova T.A., Leschuk V.A., Kabin V.V., Toporkov A.V., Scherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Field trial of mobile laboratory of epidemiologic survey and indication. Communication 2. Field trial of mobile laboratory of epidemiologic survey and indication on the

territory of Astrakhan and Saratov regions, Republic of Kalmykia]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; (3):34–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-3(101)-34-38.

16. Sharova I., Surkhaev D., Bredgauer L., Gorelkina L., Korzhov P., Kazakov A., Beppaev Yu., Shinkareva V., Pshikhachev N., Karnaukhov I., Toporkov A., Scherbakova S., Babiy A., Zhamikova I., Tsygankova E., Kutyrev I., Kouklev V., Krasovskaya T., Chekashov V., Matrosov A., Shilov M., Yakovlev S., Kulichenko A., Efremenko V., Tikhonov N., Zhdanova E., Kutyrev V. [Field trial of mobile laboratory for epidemiologic survey and indication. Communication I. Field trial of mobile laboratory for epidemiologic survey and indication in the territory of Saratov Region, Stavropol Region and Kabardino-Balkaria Republic]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; (2):30–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-2(100)-30-37.

17. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakskina N.D., Bezsmertny V.E., Toporkov V.P., Popov N.V., Kabin V.V., Yashkulov K.B., Bammatov D.M., Kovtunov A.I., Sandzhiev D.N., Zenkevich E.S., Grazhdanov A.K., Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Sharova I.N., Lopatin A.A., Grigor'ev M.P., Kulichenko A.N. [Provision of epidemiological welfare on plague under aggravation of epizootic situation in the Pre-Caspian sandy natural plague focus in 2014]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; (4):22–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-22-29.

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

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

20. Karnaukhov I.G., Sharova I.N., Kazakova E.S., Morozov K.M., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Usage of mobile laboratories of biological expertise abroad and in Russia: present day realities and prospects]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (3):16–24. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-16-24.

21. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., editors. [Provision of Epidemiological Welfare in Natural Foci of Plague in the Territory of the CIS Countries and Mongolia under Current Conditions]. Izhevsk: "Print" Publishing House, LLC; 2018. 336 p. DOI: 10.23648/PRNT.2445.

22. Kholin A.V., Sharakshanov M.B., Verzhutsky D.V., Korzun V.M., Orgilbayar L., Gankhuyag T., Gandbold D., Tsogbadrakh N., Tserennorov D., Tserendulam B., Erdenedelger G., Pagmadulam N., Badamtsetseg M., Buzhinlkhamb L., Erdenetsetseg Y., Amarsanaa G., Altangerel Y., Balakhonov S.V. [Results of epizootiological survey along the border areas of Kharkhira-Turgensky natural plague focus between Russia and Mongolia in 2019]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):129–34. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-129-134.

23. Saidaliev S.S., Mirzabaev D.S., Madaminov M.M. [Lessons Learned from fighting coronavirus disease in the Republic of Uzbekistan]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):138–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-138-140.

24. Khegay S.V., Dzharaparova A.K., Dushenalieva E.M., Kalmyrzaev B., Kasymbekova K.T., Kuchuk T.E., Usenbaev N.T.,

Zhunushov A.T. [Molecular diagnostics of coronavirus infection in the Kyrgyz Republic]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):141–3. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-141-143.

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

26. Chen Z.L., Chang G.H., Zhang W.Y., Chen Y., Wang X.S., Yang R.F., Liu C. Mobile laboratory in Sierra Leone during outbreak of Ebola: practices and implications. *Sci. China Life Sci.* 2015; 58:918–21. DOI: 10.1007/s11427-015-4912-6.

27. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Scherbakov D.A., Kazakova E.S., Scherbakova S.A. [Provision of Specialized Anti-Epidemic Teams (SAET) modernization at the present stage]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; (3):10–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-3(101)-10-18.

28. 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 C., Togoldor N., Makhbal A., Daurenbek H., Tsogbadrakh N., Tserennorov D., Ganbold K. [Mongolian part of the transboundary Saitlegem natural plague focus in 2017. Communication I. Epizootic condition]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (1):79–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-79-84.

Authors:

Sharova I.N., Krasovskaya T.Yu., Kazorina E.V., Kazantsev A.V., Proskuryakova M.V., Kuklev V.E., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Adilov R.I., Bulychева E.V., Troitskaya A.A., Agapov B.L. Astrakhan Plague Control Station. 3, Kubanskaya St., Astrakhan, 414000, Russian Federation. E-mail: antichum@astranet.ru.

Akimov I.S., Balgan O.L., Chumakova N.A., Tkachenko V.A., Glushkov E.A. Tuva Plague Control Station. 13, Moskovskaya St., Kyzyl, 667010, Russian Federation. E-mail: pchs@tuva.ru.

Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Mishchenko A.I. Altai Plague Control Station. 2, Zavodskaya St., Gorno-Altaysk, 649002, Russian Federation. E-mail: chumagorny@mail.ru.

Mukhturgin G.B. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Об авторах:

Шарова И.Н., Красовская Т.Ю., Казорина Е.В., Казанцев А.В., Проскурякова М.В., Куклев В.Е., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Адилов Р.И., Булычева Е.В., Троицкая А.А., Агапов Б.Л. Астраханская противочумная станция. Российская Федерация, 414000, Астрахань, ул. Кубанская, 3. E-mail: antichum@astranet.ru.

Акимов И.С., Балган О.Л., Чумакова Н.А., Ткаченко В.А., Глушков Э.А. Тувинская противочумная станция. Российская Федерация, 667010, Кызыл, ул. Московская, 13. E-mail: pchs@tuva.ru.

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

Мухтургин Г.Б. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-34-40

УДК 616.98:578.2(571.33)

С.В. Балахонов¹, М.В. Чеснокова¹, А.Н. Пережогин¹, А.Я. Никитин¹, С.В. Каверзина¹, Н.В. Бренева¹,
З.Ф. Дугаржапова¹, Д.Ф. Савиных², Н.Е. Поталицина², Т.А. Гаврилова², Н.А. Лиханова²,
И.Г. Чумаченко², М.И. Хакимова³

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО COVID-19 В ИРКУТСКОЙ ОБЛАСТИ И ПРОГНОЗ ЕЕ РАСПРОСТРАНЕНИЯ

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока, Иркутск, Российская Федерация; ²Управление Роспотребнадзора по Иркутской области, Иркутск, Российская Федерация;
³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области», Иркутск, Российская Федерация

Широкое распространение новой коронавирусной инфекции COVID-19 в Российской Федерации определяет актуальность оценки конкретной территории по ее эпидемиологической значимости. **Цель** исследования – выявление эпидемиологических особенностей и установление тенденций эпидемического процесса новой коронавирусной инфекции COVID-19 в Иркутской области и прогнозирование ее распространения. **Материалы и методы.** Проведен оперативный анализ эпидемиологической ситуации по COVID-19 в Иркутской области по состоянию на 16.08.2020, обоснованы ограничительные мероприятия на основании расчета коэффициента распространения инфекции (R_t). **Результаты и обсуждение.** Иркутская область по заболеваемости людей COVID-19 на 16.08.2020 продолжает оставаться одной из неблагополучных территорий в Сибирском федеральном округе и Российской Федерации. Определена постепенная динамика развития эпидемического процесса, которой на первом этапе эпидемии способствовали завозные случаи из неблагополучных стран и регионов Российской Федерации, а в последующем – местная передача. Подъем заболеваемости зафиксирован на два месяца позже по сравнению с центральными регионами РФ, в настоящее время наметилась устойчивая тенденция к снижению заболеваемости. Рост случаев инфицирования превалировал среди лиц, прибывающих на вахтовые и сезонные работы в административный центр и северные районы Иркутской области. Определен характер эпидемического процесса по гендерному, возрастному и социальному проявлениям. Показано, что риск заболеваемости новой коронавирусной инфекцией определяется интенсивностью контакта в семейных очагах, распространением в медицинских организациях и значительной долей бессимптомного носительства. Установлены высокие показатели летальности (0,7 %) и смертности (31,1 ‰) среди лиц старше 65 лет. Наблюдаемый с июня стационарный временной ряд изменения R_t -показателя с колебаниями от 0,92 до 1,01 требует сохранения контроля проводимых ограничительных мероприятий с оперативным принятием управленческих решений, исходя из складывающейся эпидемиологической ситуации в Иркутской области и с учетом оценки рисков ее возможного осложнения.

Ключевые слова: COVID-19, заболеваемость, эпидемиологическая ситуация, прогноз.

Корреспондирующий автор: Чеснокова Маргарита Валентиновна, e-mail: adm@chumir.irkutsk.ru.

Для цитирования: Балахонов С.В., Чеснокова М.В., Пережогин А.Н., Никитин А.Я., Каверзина С.В., Бренева Н.В., Дугаржапова З.Ф., Савиных Д.Ф., Поталицина Н.Е., Гаврилова Т.А., Лиханова Н.А., Чумаченко И.Г., Хакимова М.И. Эпидемиологическая ситуация по COVID-19 в Иркутской области и прогноз ее распространения. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:34–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-34-40

Поступила 27.08.20. Отправлена на доработку 31.08.20. Принята к публ. 02.09.20.

S.V. Balakhonov¹, M.V. Chesnokova¹, A.N. Perezhogin¹, A.Ya. Nikitin¹, S.V. Kaverzina¹, N.V. Breneva¹,
Z.F. Dugarzhapova¹, D.F. Savinykh², N.E. Potaltsina², T.A. Gavrilova², N.A. Likhanova²,
I.G. Chumachenko², M.I. Khakimova³

Epidemiological Situation on COVID-19 in Irkutsk Region and Forecast for its Spread

¹Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

²Rospotrebnadzor Administration in the Irkutsk Region, Irkutsk, Russian Federation;

³Center of Hygiene and Epidemiology in the Irkutsk Region, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. Assessment of a particular territory by its epidemiological significance is very relevant in the light of widespread occurrence of new coronavirus infection, COVID-19, in the Russian Federation. **Objective.** Detection of the epidemiological features and revealing trends in the epidemic process of new coronavirus infection in the Irkutsk Region and forecasting of its spread. **Materials and methods.** An operational analysis of the epidemiological situation on COVID-19 in the Irkutsk Region as of August 16, 2020 was performed. Restrictive measures were substantiated based on the calculation of the infection spread rate (R_t). **Results and discussion.** Irkutsk Region remained one of the adverse territories as regards human COVID-19 incidence in the Siberian Federal District and the Russian Federation as of August 16, 2020. The gradual dynamics of the epidemic process was revealed: at the first stage of the epidemic development it was facilitated by the imported cases from affected countries and regions of the Russian Federation, and subsequently by local transmission. The incidence increase was registered 2 months later than in central regions of the Russian Federation. Currently there is a consistent downward trend. The increase in the cases prevailed among rotation

workers staying for shift and seasonal activities in the administrative center and northern districts of the Irkutsk Region. The epidemic pattern was determined by gender, age and social characteristics. It is demonstrated that the risk of the new coronavirus infection is determined by the intensity of contacts in family foci, the spread of infection in medical organizations and a significant proportion of asymptomatic carriers. High lethality rates (0.7 %) and mortality rates (31.1 %^{попо}) were established among persons over 65 years. The stationary time series observed since June for changing the R_t -indicator with fluctuations ranging from 0.92 to 1.01 requires maintaining control of restrictive measures with prompt management decisions making based on the evolving epidemiological situation in the Irkutsk Region and taking into account the assessment of its possible complication risks.

Key words: COVID-19, incidence, epidemiological situation, forecast.

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

Corresponding author: Margarita V. Chesnokova, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Citation: Balakhonov S.V., Chesnokova M.V., Perezhogin A.N., Nikitin A.Ya., Kaverzina S.V., Breneva N.V., Dugarzhapova Z.F., Savinykh D.F., Potaltsina N.E., Gavrilova T.A., Likhanova N.A., Chumachenko I.G., Khakimova M.I. Epidemiological Situation on COVID-19 in Irkutsk Region and Forecast for its Spread. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; 4:34–40. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-34-40

Received 27.08.20. Revised 31.08.20. Accepted 02.09.20.

Balakhonov S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Chesnokova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5489-9363>

Perezhogin A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5678-468X>

Nikitin A.Ya., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3918-7832>

Breneva N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9207-7536>

Dugarzhapova Z.F., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5315-4797>

Внезапное появление и стремительное распространение новой коронавирусной инфекции COVID-19 вызвало чрезвычайную ситуацию международного характера в области общественного здравоохранения, о чем 30.01.2020 сообщено Всемирной организацией здравоохранения, 11.03.2020 ВОЗ официально признала пандемический потенциал вспышки [1, 2]. На 20.08.2020 в 215 странах мира заболело 22588815 человек, более 57 % случаев приходилось на США, Бразилию, Индию и Россию [3]. В Российской Федерации единичные проявления коронавирусной инфекции выявлялись с 31.01.2020 среди лиц, прибывших из Китайской Народной Республики (КНР) в Тюменскую область и Забайкальский край, к 30.03.2020 Москва, Московская область и Санкт-Петербург определяли практически всю заболеваемость, которая достигла максимального значения к первой декаде мая. В последующем эпидемиологическая ситуация характеризовалась смещением числа выявляемых случаев на другие регионы страны [4]. На 20.08.2020 зарегистрировано 942106 случаев COVID-19 в 85 субъектах РФ [5]. Несмотря на то, что основные эпидемиологические проявления эпидемического процесса COVID-19 в Российской Федерации [3] сопоставимы с данными зарубежных авторов [6–9], безусловно, очень важное значение отводится изучению региональных особенностей этой инфекции. Это позволит оценить конкретную территорию по ее эпидемиологической значимости и определить основные закономерности эпидемического процесса в период развития эпидемии на фоне реализации противоэпидемических мероприятий.

Цель исследования – выявление эпидемиологических особенностей и установление тенденций эпидемического процесса новой коронавирусной инфекции COVID-19 в Иркутской области и прогнозирование ее распространения.

Материалы и методы

Проведен оперативный анализ заболеваемости COVID-19 в Иркутской области с 30 марта по

16 августа 2020 г., включающий данные о 15556 случаях. Сведения об основных проявлениях новой коронавирусной инфекции получали в ежедневном режиме из Управления Роспотребнадзора и Центра гигиены и эпидемиологии Иркутской области. Эпидемиологический анализ включал оценку проявлений COVID-19 (интенсивность, динамика, пространственная характеристика, структура) с использованием общепринятых оценочно-описательных методов [10]. Прогнозирование заболеваемости для обоснования управленческих решений по снятию/продлению ограничительных мероприятий проведено на основании расчета коэффициента распространения инфекции (R_t) согласно МР 3.1.0178-20.3.1. «Определение комплекса мероприятий, а также показателей, являющихся основанием для поэтапного снятия ограничительных мероприятий в условиях эпидемического распространения COVID-19». В качестве периода мы предлагаем брать 7 дней, рассчитывая величину R_t от понедельника до воскресенья включительно. В результате получаем временной ряд, состоящий из усредненных значений R_t по субъекту. Соответственно, и краткосрочный прогноз будет рассчитан на следующую неделю. Усреднение показателя по недельным отрезкам сглаживает ежедневные случайные его колебания и по величине временного интервала удобно для принятия управленческих решений. Экстраполяция данных временных рядов значений R_t проводилась с учетом наличия или отсутствия в них статистически значимого тренда и расчетом 95 % доверительного интервала (ДИ) возможных случайных колебаний этого показателя [11, 12].

Результаты исследования обрабатывали методом вариационной статистики с использованием пакета программ Microsoft Excel (2003).

Результаты и обсуждение

Эпидемиологическая ситуация по коронавирусной инфекции на территории Иркутской области начала развиваться на два месяца позже, чем в централь-

ных регионах Российской Федерации, но по числу зарегистрированных случаев на 16.08.2020 субъект занимает седьмое место после Москвы, Московской области, Санкт-Петербурга, Нижегородской, Свердловской областей и Ханты-Мансийского АО. Первый случай заболевания лабораторно подтвержден в Иркутске 27 марта 2020 г. у женщины (62 года), прибывшей 17 марта из Объединенных Арабских Эмиратов (ОАЭ). В дальнейшем, в период с 27 марта по 16 августа 2020 г., зарегистрировано 15556 случаев COVID-19 (1,56 % от всех случаев заболеваний COVID-19 в России и 18,9 % в Сибирском федеральном округе (СФО)). Показатель заболеваемости составил 650,6 на 100 тыс. населения (по РФ – 676,6 ‰; СФО – 480,0 ‰), в том числе 1580 случаев (10,2±0,2 %) выявлены среди детей до 17 лет. Выздоровело (81,5±0,3) %, показатель госпитализации – 4,9 %.

На территории Иркутской области активизация эпидемического процесса COVID-19 произошла с 14-й (30.03–5.04.2020) по 18-ю (27.04–03.05.2020) календарные недели (к.н.), когда регистрировалось от 7 до 28 подтвержденных случаев заболевания (показатель – от 0,29 до 1,13 на 100 тыс. населения, ‰). С 19 к.н. (04.05–10.05.2020) заболеваемость возросла в 3,3 раза (показатель заболеваемости – 5,4 ‰) и в дальнейшем эпидемиологическая ситуация по COVID-19 постепенно осложнялась. Максимальный подъем заболеваемости COVID-19 с показателем 69,31 ‰ отмечен на 27 к.н. (29.06–05.07.2020). Далее, с 6 июля по 16 августа 2020 г. (28–33 к.н.), установилась стабильная тенденция к снижению заболеваемости с еженедельными темпами снижения от 14,07 до 8,9 % и показателями заболеваемости от 65,1 до 34,0 ‰ (рис. 1).

Необходимо отметить, что после закрытия с 30.03.2020 государственной границы пусковым механизмом, обуславливающим распространение коронавирусной инфекции на территории области, стали завозные случаи из неблагополучных территорий Российской Федерации.

На первоначальном этапе развития эпидситуации в апреле–мае преобладали завозные случаи заболеваний из неблагополучных регионов европейской части Российской Федерации и преимущественно стран ближнего зарубежья, а не из КНР, как пред-

полагалось ранее. Причем, если на 30.04.2020 из 130 случаев заболевания 13,0 % (17 случаев) являлись завозными из неблагополучных по новой коронавирусной инфекции стран (Казахстан, Кыргызстан, Узбекистан, Беларусь, Таиланд, Вьетнам, КНР) и 31,5 % (41 сл.) – из регионов Российской Федерации (Москва, Санкт-Петербург), то к 30.05.2020 это соотношение изменилось и составило 10,0 и 50,1 % соответственно, а в последующем уменьшалось в соответствии с увеличением удельного веса случаев местного распространения коронавирусной инфекции среди населения Иркутской области (рис. 2).

С 14.05.2020 в области сложилась напряженная ситуация среди вахтовых и сезонных рабочих в связи с их централизованной доставкой для начала работы на 12 предприятиях Иркутской области. Все прибывающие авиатранспортом через аэропорт г. Иркутска помещались в обсерваторы, где проходили тестирование на наличие РНК вируса SARS-CoV-2 в день прибытия и на 10-й день пребывания в обсервации.

Все рабочие с выявленным положительным результатом на COVID-19 госпитализировались в медицинские организации инфекционного профиля, а за контактными лицами устанавливалось медицинское наблюдение. Предпосылками для возникновения вспышечной заболеваемости среди прибывающих на вахту являются: высокая плотность размещения в местах проживания сезонных рабочих; недостаточный контроль соблюдения режима самоизоляции со стороны руководства принимающих предприятий; отказ от использования масок, санитайзеров, нарушение социального дистанцирования; отсутствие результатов предварительного тестирования перед заездом.

Наибольшее число заболевших выявлено среди рабочих ООО «Иркутская нефтяная компания» на Ярактинском месторождении и ООО «Иркутский завод полимеров» (г. Усть-Кут), а также среди работников золотодобывающих предприятий г. Бодайбо (1473 сл., или (76,0±1,0) %). Остальные 467 случаев COVID-19 (24,0±1,0 %) зарегистрированы среди сезонных рабочих преимущественно в Иркутском районе (246 сл.) и Иркутске (126 сл.).

Следует отметить, что в период с 14 по 31 мая из общего числа заболевших (42,2±1,1) % (708 сл. из 1770) составили прибывшие в область вахтовики и



Рис. 1. Еженедельная динамика заболеваемости COVID-19 с 30 марта по 16 августа 2020 г. в Иркутской области

Fig. 1. Weekly dynamics in the COVID-19 incidence in the Irkutsk Region between March 30 and August 16, 2020

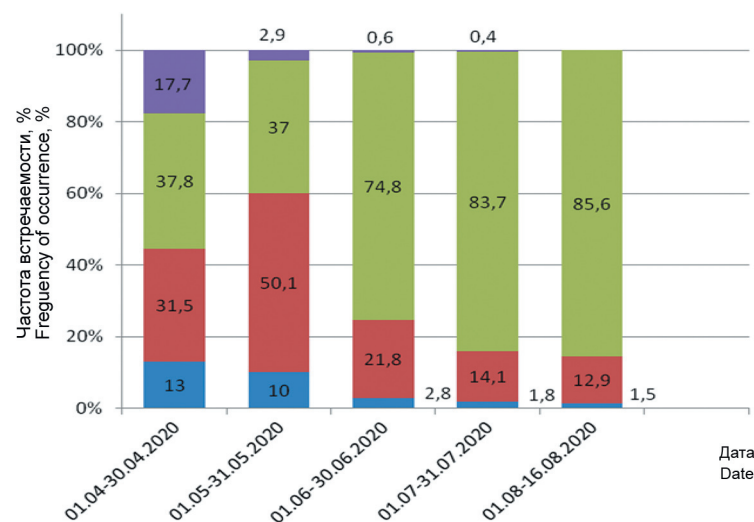


Рис. 2. Факторы риска распространения COVID-19 в Иркутской области:

1 – прибывшие из неблагополучных стран; 2 – прибывшие из неблагополучных территорий РФ; 3 – местное распространение инфекции; 4 – местное распространение по контакту с прибывшими

Fig. 2. Risk factors for COVID-19 spread in the Irkutsk Region:

1 – arrived from affected countries individuals; 2 – arrived from adverse territories of the Russian Federation individuals; 3 – local spread of infection; 4 – local transmission through contacts with arrived persons

сезонные рабочие, выявленные в период прохождения обсервации. Основная часть из них заболели на самоизоляции до заезда на рабочие места. В августе, благодаря проводимым противоэпидемическим мероприятиям, ситуация по заболеваемости коронавирусной инфекцией среди вахтовиков стабилизировалась в пределах от $(11,1 \pm 0,4)$ до $(4,3 \pm 0,4)$ % от общего числа выявленных больных COVID-19.

Установлено неравномерное территориальное распределение заболеваемости COVID-19 в Иркутской области. В эпидемический процесс вовлечены все территории области. Наиболее пораженными территориями, на которые приходится 70,5 % от общей заболеваемости новой коронавирусной инфекцией, являются: Бодайбинский ($3680,8 \text{ ‰}$), Усть-Кутский ($2779,9 \text{ ‰}$) и Эхирит-Булагатский

($1220,6 \text{ ‰}$) районы, а также Иркутск и Иркутский район ($1110,5 \text{ ‰}$), где показатели заболеваемости превышают среднеобластной уровень в 2–6 раз. Высокий уровень заболеваемости отмечается в Куйтунском ($627,9 \text{ ‰}$), Шелеховском ($612,4 \text{ ‰}$), Баядаевском ($590,0 \text{ ‰}$) и Слюдянском ($532,0 \text{ ‰}$) районах. На остальных территориях заболеваемость ниже среднеобластного показателя (рис. 3).

В различных возрастных группах населения заболеваемость новой коронавирусной инфекцией существенно отличается (таблица). Болеет в основном активная часть взрослого населения в возрасте 18–49 лет, удельный вес которой составляет $(54,9 \pm 0,4)$ %. Меньше подвергаются заражению дети до 17 лет ($10,2 \pm 0,2$ %) и пенсионеры ($12,4 \pm 0,2$ %). Однако интенсивные показатели заболеваемости

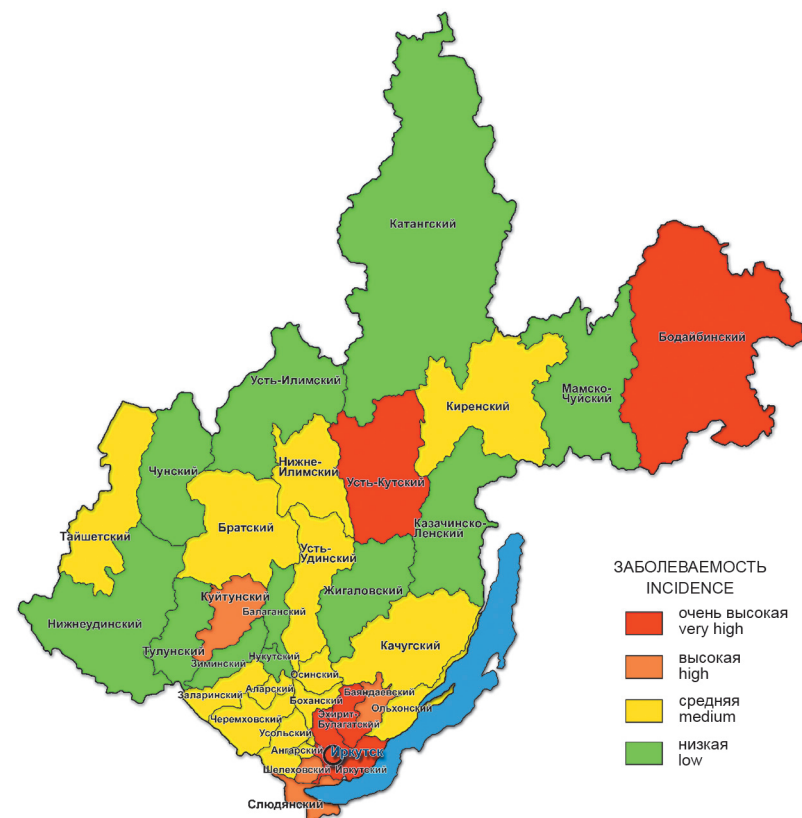


Рис. 3. Ранжирование территории Иркутской области по уровню заболеваемости населения COVID-19 на 16.08.2020:

заболеваемость *очень высокая* – $>1000 \text{ ‰}$; *высокая* – $501-1000 \text{ ‰}$; *средняя* – $201-500 \text{ ‰}$; *низкая* – $<200 \text{ ‰}$

Fig. 3. Ranking of the Irkutsk Region territory by the level of COVID-19 incidence among the population as of August 16, 2020:

very high incidence – $>1000 \text{ ‰}$; *high* – $501-1000 \text{ ‰}$; *medium* – $201-500 \text{ ‰}$; *low* – $<200 \text{ ‰}$

Возрастной состав заболевших COVID-19 в Иркутской области
Age composition of COVID-19 cases in Irkutsk Region

Показатели Indicators	Возрастная группа Age group				
	0–17	18–29	30–49	50–64	65 и старше 65 and above
Всего (абс. число): Total (absolute number):	15556				
Абс. число Absolute number	1580	2379	6160	3501	1936
Частота встречаемости, % Frequency of occurrence, %	10,2±0,2	15,3±0,3	39,6±0,4	22,5±0,3	12,4±0,2
Показатель заболеваемости на 10 тыс. возрастной группы, ‰ Incidence rate per 10 thousand of the age group, ‰	27,3±0,7	68,9±1,4	86,1±0,7	78,6±1,3	57,3±1,3

лиц старше 65 лет в 2,1 раза ($p < 0,05$) превышают показатели заболеваемости детей до 17 лет, составляя (57,3±1,3) ‰ против (27,3±0,7) ‰ соответственно. Заболеваемость мужчин в 1,3 раза выше (92,6±7,7 на 100 тыс.), чем женщин (73,8±7,3 на 100 тыс.), однако эти различия недостоверны ($p > 0,05$).

Проведенные исследования позволили установить профессиональные и социальные группы риска, наиболее подверженные заражению. Показано, что заболеваемость COVID-19 превалирует среди рабочих (удельный вес заболевших – (16,0±0,3) %), пенсионеров (15,4±0,9 %) и учащихся (10,0±0,8 %). В медицинских организациях области среди работающих выявлено 626 случаев COVID-19 (4,0±0,1 %); в структуре заболевших превалируют средний медицинский персонал (58,1±2,0 %) и врачи (23,8±1,7 %), меньшая доля заболевших лиц среди немедицинского (10,4±1,2 %) и младшего медицинского (7,7±1,1 %) персонала. Значительный процент заболевших (47,0±1,3 %) приходится на контингент «прочие», которые представлены другими сферами деятельности, а именно бизнес, образование, наука, торговля, производство, транспорт, безработные и др.

Чаще заражение происходит при тесном контакте в семейных очагах (60,8±0,4 %). В (15,0±0,3) % случаев источник инфекции не установлен, что косвенно может подтверждать заражение вирусом SARS-CoV-2 от бессимптомных носителей [13]. Показано, что в начальный период развития эпидемии на бессимптомные формы приходилось до 80,0 %, затем их доля снизилась до 57,5 %. Однако среди детей бессимптомные формы составляют до 71,8 %, что определяет их наибольшую эпидемиологическую опасность, особенно в семейных очагах.

Доля манифестных форм коронавирусной инфекции за время развития эпидемии постепенно увеличивалась с (18,1±0,6) % (22 к.н.) до (42,5±0,4) % (33 к.н.). В структуре клинических проявлений (в период стабильного снижения уровня заболеваемости в последние пять недель) на долю ОРВИ приходится 26–27 %, на внебольничные пневмонии (ВБП) – 14–15 %.

Общее число летальных исходов от COVID-19 –

162, летальность по выявленным случаям – 1,0 %, по завершённым случаям – 1,7 %, показатель смертности – 6,8 на 100 тыс. населения. Случаи смерти отмечены у людей в возрасте от 30 лет и старше. Удельный вес умерших среди лиц старше 65 лет составляет (65,8±0,4) % (летальность – 5,4 % от числа заболевших данного возраста, показатель смертности – 31,1 на 100 тыс. данного возраста), в возрастной группе 50–64 года – (25,9±0,1) % и в группе 30–49 лет – (9,4±0,1) % (летальность – 1,2 и 0,2 %, показатель смертности – 9,4 и 2,0 ‰ соответственно). К рискам развития летального исхода у пациентов с COVID-19 в убывающей последовательности относятся: развитие внебольничной пневмонии (85,8±2,4 %), несвоевременное обращение за медицинской помощью (на 3-й день и позднее) (77,2±3,3 %), нахождение на искусственной вентиляции легких более 4 дней (69,8±3,6 %), сопутствующие хронические заболевания сердечно-сосудистой, дыхательной (28,4±3,6 %), в меньшей степени – эндокринной системы и онкология (по (5,6±1,8) %).

С учетом особенностей расчета показателя R_t первое, усредненное по семи дням его значение получено для периода с 6 по 12 апреля. Первый краткосрочный прогноз этого показателя проведен на 22–28 июня по материалам от 11–17 мая включительно, когда накопились данные для формирования короткого устойчивого временного ряда. При этом в Иркутской области с 11 мая наблюдался достоверный ($p < 0,05$) тренд на снижение величины R_t (рис. 4).

Это линейное снижение исследуемого показателя продолжается по настоящее время ($p < 0,001$), если за точку отсчета принимать данные 11–17 мая. Однако с 15 июля снижение R_t -показателя прекратилось и наблюдается стационарный временной ряд его изменений, что хорошо видно на графике (рис. 4). Поэтому, чтобы увеличить точность прогноза, начиная с 20 июля, пожертвовав длиной исследуемого временного ряда, мы перешли к расчету ожидаемых значений R_t по стационарному периоду наблюдений. Иными словами, анализ материалов при прогнозе средних за неделю значений R_t в настоящее время проводится не с 11 мая, а с 15 июня. Соответственно,

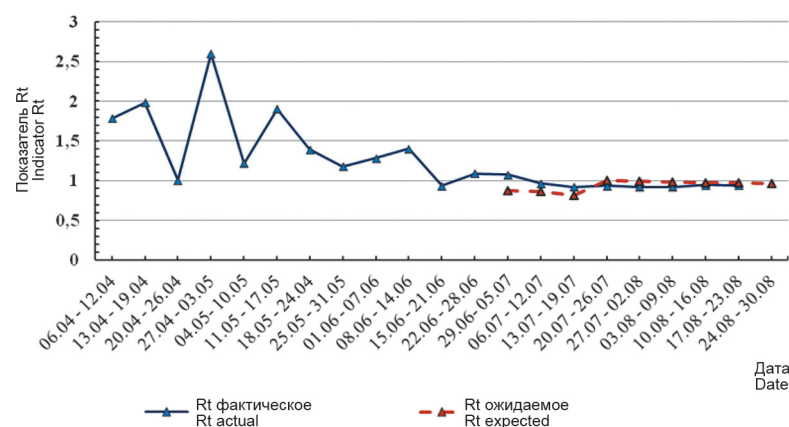


Рис. 4. Изменение средних за неделю показателей Rt в Иркутской области

Fig. 4. Changes in weekly average Rt indicators in the Irkutsk Region

в динамике показателя Rt за этот период отсутствуют какие-либо тренды. На графике отражено, что три прогнозируемых по линейному тренду значения Rt (за период с 11 мая по 19 июля) находятся несколько ниже фактических данных (но в пределах 95 % доверительного интервала их случайных колебаний). Все последующие прогнозируемые значения Rt отличаются от фактически полученных значений всего на 0,03–0,07 и, естественно, находятся в пределах 95 % доверительного интервала. Подобная точность позволяет с высокой долей вероятности прогнозировать по стационарному временному ряду, что на период с 24 по 30 августа величина значения Rt составит $(0,96 \pm 0,020)$ при 95 % ДИ возможных случайных колебаний от 0,92 до 1,01, что говорит о необходимости сохранения контроля проводимых ограничительных мероприятий с учетом оценки рисков возможного осложнения эпидемиологической ситуации.

Таким образом, Иркутская область по заболеваемости людей COVID-19 на 16.08.2020 продолжает оставаться одной из неблагополучных территорий в СФО и занимает седьмое место в Российской Федерации по суммарному выявлению случаев. Динамика заболеваемости характеризуется медленным развитием эпидемии с 17 по 19 к.н. (30.03–10.05.2020), достижением максимального уровня заболеваемости к 27 к.н. (29.07–5.08.2020) и наметившейся тенденцией к снижению эпидемического процесса в течение последних шести недель – с 6.07.2020 по 16.08.2020 (28–33 к.н.). Распространению инфекции на первых этапах развития эпидемии способствовали завозные случаи из неблагополучных стран и регионов РФ, а в последующем – местная передача. Неравномерное территориальное распределение заболеваемости связано с выявлением наибольшей инфицированности среди лиц, прибывающих на вахтовые и сезонные работы в административный центр и северные районы Иркутской области. Определен характер эпидемического процесса по гендерному, возрастному и социальному проявлениям: незначительная разница в заболеваемости мужчин и женщин ($p > 0,05$); наибольшая инфицированность лиц активного трудоспособного возраста 18–49 лет ($54,9 \pm 0,4$ %); существенное вовлечение в эпидемический процесс

среднего медицинского персонала от общего числа заболевших медицинских работников ($58,1 \pm 2,0$ %). Установлено, что риск заболеваемости новой коронавирусной инфекцией определяется интенсивностью контакта в семейных очагах ($60,8 \pm 0,4$ %) и преимущественным выявлением бессимптомного носительства ($57,4 \pm 0,4$ %). Отмечаются высокие показатели летальности (0,7 %) и смертности ($31,1$ ‰) среди лиц старше 65 лет и повышенный уровень заболеваемости внебольничными пневмониями по сравнению со среднегодовным уровнем за 2017–2019 гг. ($193,0$ ‰ на 16.08.2020).

В целом эпидемиологическая ситуация характеризуется тенденцией к стабилизации, обусловленной снижением общей и групповой заболеваемости в течение последних шести недель (июль–август 2020 г.), уменьшением количества больных среди вахтовых и сезонных рабочих, числа госпитализированных пациентов, локализацией эпидемических очагов в медицинских организациях, увеличением числа выздоровевших. Соблюдение мер неспецифической профилактики, особенно в группах риска, позволяет ожидать благоприятного развития эпидемиологической обстановки в ближайшее время, но не исключает возможности ее ухудшения, особенно в связи с началом учебного года в школах и вузах, а также с сезонным обострением ОРВИ. Это диктует необходимость сохранения контроля проводимых ограничительных мероприятий с оперативным принятием управленческих решений, исходя из складывающейся эпидемиологической ситуации в Иркутской области и с учетом оценки рисков ее возможного осложнения.

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

Список литературы

1. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербакова С.А. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 1: Модели реализации профилактических и противоэпидемических мероприятий. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 1:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.
2. Adhikari S.P., Meng S., Wu Y.-J., Mao Y.-P., Ye R.-X., Wang Q.-Z., Sun C., Sylvia S., Rozelle S., Raat H., Zhou H. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control

of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. *Infectious Diseases of Poverty*. 2020; 9(1):29. DOI: 10.1186/s40249-020-00646-x.

3. Пандемия коронавируса COVID-19. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries> (дата обращения 16.08.2020).

4. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербак С.А. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 2: Особенности течения эпидемического процесса COVID-19 во взаимосвязи с проводимыми противоэпидемическими мероприятиями в мире и Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:6–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12.

5. Оперативные данные. [Электронный ресурс]. URL: <https://xn--80aesfpebagmfbcl0a.xn--p1ai/> (дата обращения 16.08.2020).

6. Backer J.A., Klinkenberg D., Wallinga J. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20–28 January 2020. *Euro Surveill*. 2020; 25(5):2000062. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.2000062.

7. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020; 395(10223):507–13. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

8. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., Ren R., Leung K.S.M., Lau E.H.Y., Wong J.Y., Xing X., Xiang N., Wu Y., Li Ch., Chen Q., Dan L., Liu T., Zhao J., Liu M., Tu W., Chen C., Jin L., Yang R., Wang Q., Zhou S., Wang R., Liu H., Luo Y., Liu Y., Shao G., Li H., Tao Z., Yang Y., Deng Z., Liu B., Ma Z., Zhang Y., Shi G., Lam T.T.Y., Wu J.T., Gao G.F., Cowling B.J., Yang B., Leung G.M., Feng Z. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(13):1199–1207. DOI: 10.1056/NEJMoa2001316.

9. Wang W., Tang J., Wei F. Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China. *J. Med. Virol.* 2020; 92(4):441–7. DOI: 10.1002/jmv.25689.

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

11. 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.

12. Елисеева И.И., Юзбашев М.М. Общая теория статистики: учебник. М.: Финансы и статистика; 2000. 480 с.

13. Hu Z., Song C., Xu C., Jin G., Chen Y., Xu X., Ma H., Chen W., Lin Y., Zheng Y., Wang J., Hu Z., Yi Y., Shen H. Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China. *Sci China Life Sci.* 2020; 63:706–11. DOI: 10.1007/s11427-020-1661-4.

References

1. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. [Epidemiological features of new coronavirus infection (COVID-19). Communication 1: Modes of implementation of preventive and anti-epidemic measures]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 1:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.

2. Adhikari S.P., Meng S., Wu Y.-J., Mao Y.-P., Ye R.-X., Wang Q.-Z., Sun C., Sylvia S., Rozelle S., Raat H., Zhou H. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. *Infectious Diseases of Poverty*. 2020; 9(1):29. DOI: 10.1186/s40249-020-00646-x.

3. The COVID-19 coronavirus pandemic. (Cited 16 Aug 2020). [Internet]. Available from: <https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries>.

4. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V.,

Shcherbakova S.A. Epidemiological features of new coronavirus infection (COVID-2019). Communication 2: Peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 2:6–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12.

5. [Updated information]. (Cited 16 Aug 2020). [Internet]. Available from: <https://xn--80aesfpebagmfbcl0a.xn--p1ai/>.

6. Backer J.A., Klinkenberg D., Wallinga J. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20–28 January 2020. *Euro Surveill*. 2020; 25(5):2000062. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.5.2000062.

7. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020; 395(10223):507–13. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

8. Li Q., Guan X., Wu P., Wang X., Zhou L., Tong Y., Ren R., Leung K.S.M., Lau E.H.Y., Wong J.Y., Xing X., Xiang N., Wu Y., Li Ch., Chen Q., Dan L., Liu T., Zhao J., Liu M., Tu W., Chen C., Jin L., Yang R., Wang Q., Zhou S., Wang R., Liu H., Luo Y., Liu Y., Shao G., Li H., Tao Z., Yang Y., Deng Z., Liu B., Ma Z., Zhang Y., Shi G., Lam T.T.Y., Wu J.T., Gao G.F., Cowling B.J., Yang B., Leung G.M., Feng Z. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(13):1199–1207. DOI: 10.1056/NEJMoa2001316.

9. Wang W., Tang J., Wei F. Updated understanding of the outbreak of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in Wuhan, China. *J. Med. Virol.* 2020; 92(4):441–7. DOI: 10.1002/jmv.25689.

10. Cherkassky B.L. [Guidelines on General Epidemiology]. Moscow: Medicine; 2001. 560 p.

11. 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. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-99-104.

12. Eliseeva I.I., Yuzbashev M.M. [General theory of statistics: Textbook]. Moscow: "Finance and Statistics"; 2000. 480 p.

13. Hu Z., Song C., Xu C., Jin G., Chen Y., Xu X., Ma H., Chen W., Lin Y., Zheng Y., Wang J., Hu Z., Yi Y., Shen H. Clinical characteristics of 24 asymptomatic infections with COVID-19 screened among close contacts in Nanjing, China. *Sci China Life Sci.* 2020; 63:706–11. DOI: 10.1007/s11427-020-1661-4.

Authors:

Balakhonov S.V., Chesnokova M.V., Perezhogin A.N., Nikitin A.Ya., Kaverzina S.V., Brenneva N.V., Dugarzhapova Z.F. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Savinykh D.F., Potalitsina N.E., Gavrilova T.A., Likhonova N.A., Chumachenko I.G. Rospotrebnadzor Administration in the Irkutsk Region. 8, Karl Marks St., Irkutsk, 664003, Russian Federation. E-mail: mail@38.rospotrebnadzor.ru.

Khakimova M.I. Center of Hygiene and Epidemiology in the Irkutsk Region. 51, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: guz@sesoirk.irkutsk.ru.

Об авторах:

Балахонов С.В., Чеснокова М.В., Пережогин А.Н., Никитин А.Я., Каверзина С.В., Бренева Н.В., Дугаржапова З.Ф. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Савиных Д.Ф., Поталицина Н.Е., Гаврилова Т.А., Лиханова Н.А., Чумаченко И.Г. Управление Роспотребнадзора по Иркутской области. Российская Федерация, 664003, Иркутск, ул. Карла Маркса, 8. E-mail: mail@38.rospotrebnadzor.ru.

Хакимова М.И. Центр гигиены и эпидемиологии в Иркутской области. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 51. E-mail: fguz@sesoirk.irkutsk.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-41-46

УДК 612.017.1

Г.В. Борисевич, С.Л. Кириллова, О.Н. Сидорова, В.Н. Лебедев, А.А. Петров, А.В. Овчинников,
И.В. Шатохина, Т.Е. Сизикова, В.Е. Сазонов, Е.С. Мухачева, С.В. Борисевич

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КЛЕТОЧНОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ ИММУННОГО СТАТУСА МАКАК-РЕЗУСОВ

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

Цель. Выбор показателей популяций лимфоцитов макак-резусов, определенных методом проточной цитометрии, для оценки изменений клеточной составляющей их иммунного статуса. **Материалы и методы.** Использовали кровь 11 здоровых самцов макак-резусов возрастом 2,0–2,5 года, массой 2,5–3,0 кг. Обезьян обследовали одновременно в каждый из 7 месяцев наблюдения (с мая по ноябрь). Иммунофенотипирование проводили на цитофлуориметре FC500 с использованием моноклональных антител Affymetrix eBioscience. Дифференцированы следующие показатели клеточной составляющей иммунного статуса: Т-лимфоциты общие (фенотип CD2+CD20-); В-лимфоциты общие (фенотип CD2-CD20+); натуральные киллеры (фенотип CD2+CD56+); Т-хелперы (фенотип CD2+CD4+); цитотоксические Т-лимфоциты (фенотип CD2+CD8+); дубль-позитивные Т-лимфоциты (фенотип CD4+CD8+) и Т-лимфоциты, позитивные по антигенам CD2 и CD20 (фенотип CD2+CD20+). **Результаты и об-суждение.** Статистический анализ полученных результатов выявил отсутствие влияния фактора времени исследования на указанные показатели. Для оценки изменений клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов возможно использовать показатели, отличающиеся меньшей вариабельностью: Т- и В-лимфоциты общие, Т-хелперы, цитотоксические Т-лимфоциты и Т-лимфоциты, имеющие фенотип (CD2+CD20+). Использование CD56 в качестве маркера натуральных киллеров макак-резусов нецелесообразно из-за его низкой экспрессии и малочисленности популяции, несущей данный маркер. Результаты исследований могут стать основой нормативных показателей субпопуляционного состава клеток иммунной системы макак-резусов, что позволит исследовать инфицированных животных при оценке качества лечебных препаратов в отношении опасных и особо опасных инфекций.

Ключевые слова: лимфоциты, макаки-резусы, проточная цитометрия, клеточная составляющая иммунного статуса.

Корреспондирующий автор: Борисевич Галина Валентиновна, e-mail: 48cnii@mail.ru.

Для цитирования: Борисевич Г.В., Кириллова С.Л., Сидорова О.Н., Лебедев В.Н., Петров А.А., Овчинников А.В., Шатохина И.В., Сизикова Т.Е., Сазонов В.Е., Мухачева Е.С., Борисевич С.В. Анализ показателей клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:41–46. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-41-46

Поступила 06.08.20. Принята к публ. 01.09.20.

G.V. Borisevich, S.L. Kirillova, O.N. Sidorova, V.N. Lebedev, A.A. Petrov, A.V. Ovchinnikov,
I.V. Shatokhina, T.E. Sizikova, V.E. Sazonov, E.S. Mukhacheva, S.V. Borisevich

Analysis of Cellular Component Indicators of Immune Status of Rhesus Macaques

“48th Central Research Institute” of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad, Russian Federation

Abstract. Objective. Selection of indicators of lymphocyte populations in rhesus macaques determined by flow cytometry to evaluate variations of cellular constituent of their immune status. **Materials and methods.** Blood of 11 healthy rhesus macaque males, 2,0–2,5 years old, weighing 2,5–3,0 kg, was used. Monkeys were examined simultaneously in each of 7 months of observation (since May till November). Immunophenotyping was conducted by FC500 cytofluorimeter using Affymetrix eBioscience monoclonal antibodies. The following cellular constituent indicators of immune status were differentiated: total T lymphocytes (phenotype CD2+CD20-); total B lymphocytes (phenotype CD2-CD20+); natural killer cells (phenotype CD2+CD56+); T helper cells (phenotype CD2+CD4+); cytotoxic T lymphocytes (phenotype CD2+CD8+); double-positive T lymphocytes (phenotype CD4+CD8+) and T lymphocytes positive by antigens CD2 and CD20 (phenotype CD2+CD20+). **Results and discussion.** Statistical analysis of the obtained results revealed the absence of the effect of research time factor on the stated indicators. To assess changes in the cellular constituent of immune status of rhesus macaques, it is possible to use indicators that are less variable: total T and B lymphocytes, T helper cells, cytotoxic T lymphocytes and T lymphocytes with phenotype (CD2+CD20+). The use of CD56 as a marker of natural killer cells of rhesus macaques is impractical due to its low expression and a small size of the population bearing this marker. The research results may form the basis of the normative indicators of the subpopulation cell composition of immune system in rhesus macaques, which will allow the study of infected animals when assessing the quality of medical products in relation to dangerous and particularly dangerous infections.

Key words: lymphocytes, rhesus macaques, flow cytometry, cellular component of the immune status.

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

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

Citation: Borisevich G.V., Kirillova S.L., Sidorova O.N., Lebedev V.N., Petrov A.A., Ovchinnikov A.V., Shatokhina I.V., Sizikova T.E., Sazonov V.E., Mukhacheva E.S., Borisevich S.V. Analysis of Cellular Component Indicators of Immune Status of Rhesus Macaques. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:41–46. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-41-46

Received 06.08.20. Accepted 01.09.20.

Borisevich G.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0843-9427>

Kirillova S.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1245-9225>

Sidorova O.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0297-5579>

Lebedev V.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6552-4599>

Petrov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9714-2085>

Ovchinnikov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2309-3572>

Shatokhina I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9503-5120>

Sizikova T.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1817-0126>

Borisevich S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6742-3919>

Макака-резус (*Macaca mulatta*), вследствие большого биологического сходства (филогенетической близости) с человеком, является экспериментальной моделью для изучения многих опасных и особо опасных инфекционных заболеваний. Результаты исследований, полученные на приматах данного вида, возможно экстраполировать для людей с минимальной коррекцией.

Субпопуляционный состав (фенотип) лимфоцитов является важным диагностическим признаком, позволяющим судить о течении иммунных процессов [1]. В формировании протективного иммунитета к возбудителям ряда вирусных и бактериальных заболеваний ключевую роль играет именно клеточный иммунитет [2, 3]. Оценку иммунного статуса и его клеточной составляющей человека, зараженного возбудителем опасной или особо опасной инфекции, а также животных, являющихся экспериментальными моделями для изучения инфекционных заболеваний, можно проводить методом проточной цитометрии [1, 4, 5].

Для объективной регистрации комплекса изменений, происходящих в системе иммунитета модельных животных, необходимо формирование массива референсных значений фонового иммунного статуса, полученных единообразно на одном оборудовании с использованием одинаковых реагентов и тактик гейтирования, с учетом имеющихся возможностей приборно-реактивной базы.

Целью исследования стал выбор показателей популяций лимфоцитов макак-резусов, определенных методом проточной цитометрии, которые можно использовать для оценки изменений клеточной составляющей иммунного статуса указанных лабораторных животных.

Материалы и методы

В экспериментах использовали 11 здоровых самцов макак-резусов возрастом 2,0–2,5 года, массой 2,5–3,0 кг, доставленных из питомника г. Сочи, которых содержали в виварии ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России. Уход за животными осуществляли в соответствии с руководством [6] и Федеральным законом от 27.12.2018 № 498-ФЗ «Об ответственном обращении с животными...». Обезьян обследовали одновременно в каждый из семи месяцев наблюдения (с мая по ноябрь).

Венозную кровь приматов, полученную утром натошак пункцией периферической вены, собирали в вакуумные пробирки с напылением K_3 ЭДТА. Иммунофенотипирование проводили в день взятия

крови на цитофлуориметре FC500 (Beckman Coulter, США), оснащенном аргоновым (синим) лазером с длиной волны излучения 488 нм с программным обеспечением СХР, версия 2.2. Методология иммунофенотипирования лимфоцитов обезьян существенно не отличается от той, что используется для человека [7], поэтому составление цитометрических панелей, распределение антител по каналам флуоресценции, настройку протоколов анализа проводили в соответствии со стандартизированной технологией и принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [8]. В каждой пробе исследовали не менее 5000 лимфоцитов.

Для выявления популяций лимфоцитов крови обезьян применяли две панели моноклональных антител (МКАт): CD8-FITC/CD4-PE/CD2-PECy7 и CD56-FITC/CD20-PECy5.5/CD2-PC7. Для установления границ между отрицательными и положительными событиями при использовании антитела CD56-FITC, имеющего низкий уровень экспрессии на лимфоцитах макак-резусов ($CD56^{dim}$), использовали соответствующий изотипический контроль IgG1-FITC (кат. № 11-4714, Affymetrix eBioscience, США). Для проверки корректности настройки компенсации применяли «FMO-подход» (Fluorescence-Minus-One, флуоресценция минус один).

Были подобраны перекрестно реагирующие с антигенами лимфоцитов макак-резусов клоны мышиных античеловеческих МКАт, конъюгированные с флуорохромами (все антитела производства Affymetrix eBioscience, США): CD8-FITC (клон RPA-T8, кат. № 11-0088), CD4-PE (клон OKT4, кат. № 12-0048), CD2-PE Cy7 (клон RPA-2.10, кат. № 25-0029), CD56-FITC (клон TULY56, кат. № 11-0566), CD20-PE Cy5.5 (клон 2H7, кат. № 35-0209). В пробирки с предварительно внесенными МКАт помещали 70 мкл крови. Содержимое пробирок перемешивали в течение 1 с на автоматическом встряхивателе типа Vortex, далее инкубировали 20 мин в темном месте при комнатной температуре, потом переносили в станцию пробоподготовки TQ-Prep (Beckman Coulter, США) для лизиса эритроцитов и фиксации лейкоцитов с использованием набора реагентов ImmunoPrep (Beckman Coulter, кат. № 7546999, США).

Лимфоциты выделяли на гистограммах на основании параметров малоуглового и бокового светорассеяния. С использованием перечисленных МКАт были дифференцированы следующие показатели клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов: Т-лимфоциты общие (Т) (фенотип CD2+CD20-); В-лимфоциты общие (В) (фенотип

CD2-CD20+); натуральные киллеры (NK) (фенотип CD2^{+(dim)}CD56^{+(dim)}); Т-хелперы (HELP) (фенотип CD2+CD4+); цитотоксические Т-лимфоциты (CTL) (фенотип CD2+CD8+); дубль-позитивные Т-лимфоциты (DP) (фенотип CD2+CD4+CD8+) и Т-лимфоциты, позитивные по антигенам CD2 и CD20 (фенотип CD2+CD20+). Цитотоксические лимфоциты дифференцировали от натуральных киллеров, имеющих фенотип (CD2+CD8+), по более выраженной экспрессии маркеров (bright (яркий) у CTL-лимфоцитов против dim (тусклый) у NK).

Анализ показателей клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов проводили средствами MS Excel с использованием общеизвестных статистических методов и критериев. За уровень статистической значимости принята величина, равная 0,05.

Результаты и обсуждение

Для каждой популяции лимфоцитов (далее – показатель), исследованной у каждого животного, рассчитали следующие статистические параметры: среднюю величину (X_{cp}); медиану (Me); нижнюю и верхнюю границы доверительного интервала медианы; коэффициент асимметрии (As) и эксцесса (Ex); значения t-критерия Стьюдента для коэффициента асимметрии (t_{As}) и эксцесса (t_{Ex}); коэффициент вариации (K_v). Указанные параметры представлены в таблице.

Средняя арифметическая величина каждого показателя находится в диапазоне значений от нижней до верхней границ доверительного интервала медианы. Близость значений медианы и средней арифметической величины характерна для симметричных распределений, в том числе для нормального распределения [9].

Проверку гипотезы о нормальном распределении исследованных показателей проводили с использованием общепринятых критериев: коэффициента асимметрии (As) и эксцесса (Ex).

Средние квадратичные отклонения σ_{As} и σ_{Ex} выборочных значений асимметрии (As) и эксцесса (Ex) рассчитывали по следующим формулам с учетом объема выборки N , равного 77:

$$\sigma_{As} = \sqrt{\frac{6}{N+3}}, \quad \sigma_{Ex} = \sqrt{\frac{24}{N+5}}.$$

Нулевая гипотеза (предположение о нормальном распределении выборки) отвергалась, если

$$t_{As} = \frac{As}{\sigma_{As}} \geq 3, \quad \text{или} \quad t_{Ex} = \frac{Ex}{\sigma_{Ex}} \geq 3 \quad [9].$$

В соответствии с указанным правилом критериям нормального распределения удовлетворяют показатели Т- и В-лимфоцитов общих, Т-лимфоцитов-хелперов и Т-лимфоцитов-цитотоксических, а также Т-лимфоцитов, позитивных по антигенам CD2 и CD20.

Такие показатели, как натуральные киллеры, имеющие фенотип (CD2+CD56+), и дубль-позитивные Т-лимфоциты, отличаются существенной вариабельностью: коэффициент K_v , характеризующий ошибку метода измерения, для указанных показателей в 2–3 раза выше, чем для остальных исследованных показателей иммунного статуса. Поэтому отклонение их значений от нормального распределения можно объяснить недостаточным объемом выборки для данной точности измерений. Сравнение средних значений одноименных показателей в различные сроки наблюдения с использованием t-критерия Стьюдента выявило отсутствие достоверных различий между ними, что позволяет объединить в одну выборку данные, соответствующие одноименным показателям в различные сроки наблюдения.

В настоящее время для идентификации Т- и В-клеток у обезьян, как и у человека, используют в основном комбинацию линейно-специфических маркеров Т-лимфоцитов (CD3) и В-лимфоцитов (CD19) или комбинацию CD3 и CD20, а для идентификации Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов используют комбинацию CD3, CD4 и CD8 маркеров [1]. Данные по содержанию общих Т- и В-лимфоцитов макак-резусов, полученные с использованием комбинации маркеров CD2 и CD20, согласуются с результатами иммунофенотипирования при использовании маркеров CD3 и CD19 или CD3 и CD20. Данные по содержанию Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов макак-резусов, полученные с использованием комбинации маркеров CD2, CD4 и CD8, согласуются с результатами, полученными с использованием комбинации маркеров CD3, CD4 и CD8 [7, 10].

Следует отметить, что в проведенном исследовании у макак-резусов идентифицированы также малые популяции лимфоцитов: Т-лимфоциты, имеющие фенотип (CD2+CD20+), натуральные киллеры, имеющие фенотип (CD2+CD56+), и дубль-позитивные Т-лимфоциты (CD2+CD4+CD8+).

Применение антител к антигенам CD2 и CD20 позволило, наряду с определением основных популяций, идентифицировать малоизученную субпопуляцию Т-лимфоцитов, положительных по указанным антигенам. Хотя CD20 первоначально был отнесен к В-клеточным маркерам, небольшая популяция Т-клеток человека тоже экспрессирует этот антиген, причем В-клетки экспрессируют CD20 в высокой плотности, а Т-клетки – в низкой [11]. У макак-резусов популяция Т-лимфоцитов, имеющих фенотип (CD2+CD20+), составила $(2,0 \pm 0,1) \%$ от лимфоцитов периферической крови (см. таблицу), что достаточно близко к величине соответствующего показателя у человека $(2,4 \pm 1,5 \%)$ [11].

Человеческие NK-клетки традиционно определяются как имеющие фенотип (CD3-CD(16+56+)) [1]. Маркер CD56, как и CD16, является линейно-специфическим маркером натуральных киллеров человека. По интенсивности экспрессии (плотности на

Результаты оценки показателей клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов
Results of indicator assessment of cellular component of immune status in rhesus macaques

Статистические параметры Statistical parameters	Показатель (популяция лимфоцитов, фенотип) Indicator (lymphocyte population, phenotype)						
	T CD2 ⁺ CD20 ⁻	B CD2 ⁻ CD20 ⁺	NK CD2 ⁺ CD56 ⁺	HELP CD2 ⁺ CD4 ⁺	CTL CD2 ⁺ CD8 ⁺	DP CD2 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	T CD2 ⁺ CD20 ⁺
Средняя арифметическая величина (X_{cp}) Arithmetic mean value (X_{cp})	71,1	25,5	0,6	32,3	29,4	1,0	2,0
Медиана (Me) Median (Me)	69,7	24,2	0,5	31,1	28,7	0,9	1,9
Нижняя граница доверительного интервала медианы Lower limit of the median confidence interval	69,1	22,9	0,4	28,7	26,5	0,9	1,9
Верхняя граница доверительного интервала медианы Upper limit of the median confidence interval	73,5	26,6	0,6	34,3	30,4	1,1	2,0
Коэффициент асимметрии (A_s) Skewness ratio (A_s)	-0,22	0,28	1,17	0,34	0,46	1,19	0,41
Критерий Стьюдента t_{As} Student's test t_{As}	-0,80	1,02	4,27	1,25	1,66	4,34	1,51
Экспесс (Ex) Kurtosis (Ex)	-0,79	-0,94	1,41	-0,53	0,18	2,77	-0,04
Критерий Стьюдента t_{Ex} Student's test t_{Ex}	1,47	1,74	2,6	1,00	0,33	5,11	0,07
Коэффициент вариации (K_v) Coefficient of variation (K_v)	8,7	23,0	74,0	22,9	23,6	51,9	27,4

Примечания:

1. Показатели клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов, кроме DP, рассчитывали как процент от общей популяции лимфоцитов.
2. Показатель DP рассчитывали как процент от популяции Т-лимфоцитов.
3. Количество измерений N каждого показателя равно 77.

Notes:

1. Indicators of the cellular component of the immune status of rhesus macaques, except DP, were calculated as a percentage of the total population of lymphocytes.
2. DP was calculated as a percentage of the T-lymphocyte population.
3. The number of metering N of each indicator is equal to 77.

поверхности клетки) маркера CD56 натуральные киллеры человека можно разделить на два подмножества: CD56^{bright} (яркие) и CD56^{dim} (тусклые), которые составляют соответственно 0,7 и 10 % от общей популяции лимфоцитов [12]. В популяции CD56^{dim} натуральных киллеров 79 % клеток имеют на своей поверхности молекулу CD2 [13]. Относительно роли CD56 как маркера NK-клеток у нечеловекообразных приматов в литературе существуют противоречия: в некоторых источниках говорится, что молекула CD56 экспрессируется лимфоцитами макак-резусов, в других эта информация опровергается [14].

В выполненном исследовании популяция натуральных киллеров макак-резусов, несущих маркер CD56, относится к подмножеству CD56^{dim} и составляет 0,6 % от лимфоцитов (см. таблицу), что значительно меньше аналогичной популяции у человека. Таким образом, CD56 не подходит в качестве маркера натуральных киллеров макаки-резуса.

Сообщения о циркулирующих в периферической крови человека дважды положительных Т-клетках, которые составляли от 1 до 3 % от общей популяции Т-лимфоцитов, были опубликованы еще в 80-х годах прошлого века, но из-за нетрадиционного фенотипа и редкости у человека и мышей большинство имму-

нологов до сих пор игнорируют экстратимические (CD4+CD8+) Т-лимфоциты [15]. Данная популяция является редко исследуемой, в ее пуле существует значительная гетерогенность, функция подмножеств дубль-позитивных Т-лимфоцитов остается спорной, сообщения о них противоречивы и немногочисленны. В результате изучения связей DP-Т-лимфоцитов с инволюцией тимуса у яванских макак зафиксировано, что у шестилетних животных в крови находится от 1 до 10 % этих клеток и их процентное содержание резко возрастает начиная с семи лет, параллельно с инволюцией тимуса [16].

В выполненном исследовании установлено, что в крови двухлетних самцов макак-резусов DP-Т-лимфоциты составляют 1 % от популяции Т-лимфоцитов (см. таблицу). Данные о зависящем от возраста и пола содержании DP-Т-лимфоцитов в крови людей и макак-резусов в опубликованных источниках отсутствуют, поэтому делать какие-либо сравнения не представляется возможным.

Достоверность влияния времени наблюдения (месяца года) на показатели клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов исследовали методом однофакторного дисперсионного анализа [9]. Для этого рассчитывали критерий Фишера,

представляющий собой отношение межгрупповой дисперсии к внутригрупповой дисперсии. Для указанных степеней свободы рассчитанные величины критерия Фишера всех показателей существенно меньше соответствующего табличного значения для уровня значимости, равного 0,05 [9].

В качестве оценки силы влияния фактора (времени исследования) использовали критерий η^2 – соотношение межгрупповой суммы квадратов к общей сумме квадратов отклонений. В качестве критерия достоверности силы влияния η^2 использовали критерий $m\eta^2$, который вычисляли по следующей формуле:

$$m\eta^2 = (1 - \eta^2) \times \frac{a - 1}{N - a},$$

где a – число градаций исследуемого фактора (времени исследования); N – количество измерений показателя за каждый месяц [9].

Нулевая гипотеза отвергалась, то есть влияние фактора времени на исследуемый показатель считали существенным, если соотношение $\eta^2/m\eta^2$ было больше или равно табличному значению критерия Фишера для уровня значимости, равного 0,05 [9].

Результаты расчетов подтверждают вывод об отсутствии существенного влияния фактора времени исследования на показатели клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов.

Аналогичным образом с использованием дисперсионного анализа дана оценка достоверности различия показателей между особями. Выявлено, что показатели различаются у разных животных вне зависимости от времени анализа.

Таким образом, методом проточной цитометрии с использованием маркеров CD2, CD4, CD8, CD20 и CD56 определены показатели основных и малых популяций лимфоцитов периферической крови макак-резусов. Выявлена существенная вариабельность показателей между особями по сравнению с их изменениями у каждого животного в различные периоды времени. Данные по содержанию Т- и В-лимфоцитов макак-резусов, полученные с использованием комбинации маркеров CD2 и CD20, согласуются с результатами иммунофенотипирования при использовании комбинаций маркеров CD3 и CD19 или CD3 и CD20. Данные по содержанию Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов, полученные с использованием комбинации маркеров CD2, CD4 и CD8, согласуются с результатами при использовании комбинации маркеров CD3, CD4 и CD8. Идентифицированы малые популяции лимфоцитов периферической крови макак-резусов, такие как Т-лимфоциты (CD2+CD20+), натуральные киллеры (CD2+(dim)CD56+(dim)) и дубль-позитивные Т-лимфоциты (CD2+CD4+CD8+).

По результатам статистического анализа можно сделать вывод об отсутствии влияния фактора времени исследования на показатели лимфоцитов макак-резусов. Для оценки изменений клеточной составляющей иммунного статуса можно использовать

показатели общих Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, цитотоксических Т-лимфоцитов и Т-лимфоцитов, имеющих фенотип (CD2+CD20+), отличающиеся меньшей вариабельностью. Показатели дубль-позитивных Т-лимфоцитов могут быть использованы для оценки изменений клеточной составляющей иммунного статуса макак-резусов, если при увеличении числа подопытных животных будет достигнуто снижение ошибки метода измерения. Использование CD56 в качестве маркера натуральных киллеров макаки-резуса нецелесообразно из-за его низкой экспрессии и малочисленности популяции, несущей данный маркер.

Поскольку исследование проводили с использованием крови здоровых особей, результаты могут стать основой нормативных показателей субпопуляционного состава клеток иммунной системы животных данного вида, что позволит исследовать инфицированных животных при оценке качества лечебных препаратов в отношении особо опасных и опасных инфекций.

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

Список литературы

1. Хаитов Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы. Учебное пособие. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2013. 280 с.
2. Dahlke C., Lunemann S., Kasonta R., Kreuels B., Schmiedel S., Ly M.L., Fehling S.K., Strecker T., Becker S., Altfeld M., Sow A., Lohse A., Muñoz-Fontela C., Addo M.M. Comprehensive characterization of cellular immune responses following Ebola virus infection. *J. Infect. Dis.* 2017; 215(2):287–92. DOI: 10.1093/infdis/jiw508.
3. Фирстова В.В., Калмантаева О.В., Горбатов А.А., Кравченко Т.Б., Тюрин Е.А., Бондаренко Н.Л., Дятлов И.А., Караулов А.В. Оценка специфического гуморального и клеточного иммунитета у людей, периодически вакцинирующихся против чумы. *Иммунопатология, аллергология, инфектология*. 2015; 3:62–8. DOI:10.14427/jipai.2015.3.62.
4. Cimini E., Viola D., Cabeza-Cabrerizo M., Romanelli A., Tumino N., Sacchi A., Bordon V., Casetti R., Turchi F., Martini F., Bore J.A., Koundouno F.R., Duraffour S., Michel J., Holm T., Zekeng E.G., Cowley L., Garcia Dorival I., Doerrbecker J., Hetzelt N., Baum J.H.J., Portmann J., Wölfel R., Gabriel M., Miranda O., Diaz G., Diaz J.E., Fleites Y.A., Piñeiro C.A., Castro C.M., Koivogui L., Magassouba N., Diallo B., Ruibal P., Oestereich L., Wozniak D.M., Lüdtkke A., Becker-Ziaja B., Capobianchi M.R., Ippolito G., Carroll M.W., Günther S., Di Caro A., Muñoz-Fontela C., Agrati C. Different features of Vδ2 T and NK cells in fatal and non-fatal human Ebola infections. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(5):e0005645. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005645.
5. Sullivan N.J., Hensley L., Asiedu C., Geisbert T.W., Stanley D., Johnson J., Honko A., Olinger G., Bailey M., Geisbert J.B., Reimann K.A., Bao S., Rao S., Roederer M., Jahrling P.B., Koup R.A., Nabel G.J. CD8+ cellular immunity mediates rAd5 vaccine protection against Ebola virus infection of nonhuman primates. *Nat. Med.* 2011; 17(9):1128–31. DOI: 10.1038/nm.2447.
6. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В., редакторы. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. Москва: Профиль; 2010. 358 с.
7. Xia H.-J., Zhang G.-H., Wang R.-R., Zheng Y.-T. The influence of age and sex on the cell counts of peripheral blood leukocyte subpopulations in Chinese rhesus macaques. *Cell. Mol. Immunol.* 2009; 6(6):433–40. DOI: 10.1038/cmi.2009.55.
8. Хайдуков С.В., Байдун Л.В., Зурочка А.В., Тотолян А.А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов». *Российский иммунологический журнал*. 2014; 4:974–92.
9. Лакин Г.Ф. Биометрия. Учебное пособие для биол. спец. вузов. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высшая школа; 1990. 352 с.
10. Игнатова И.Е., Агба В.З. Показатели клеточного звена иммунитета у приматов. *Бюллетень экспериментальной био-*

логии и медицины. 2010; 149(1):93–6. DOI: 10.1007/s10517-010-0882-7.

11. Hultin L.E., Hausner M.A., Hultin P.M., Giorgi J.V. CD20 (pan B-cell) antigen is expressed at a low level on a population of human T lymphocytes. *Cytometry*. 1993; 14(2):196–204. DOI: 10.1002/cyto.990140212.

12. Chidrawar S.M., Khan N., Chan Y.L., Nayak L., Moss P.A. Ageing is associated with a decline in peripheral blood CD56^{bright} NK cells. *Immun. Ageing*. 2006; 3:10. DOI: 10.1186/1742-4933-3-10.

13. Sedlmayr P., Schallhammer L., Hammer A., Wilders-Truschig M., Wintersteiger R., Dohr G. Differential phenotypic properties of human peripheral blood CD56^{dim+} and CD56^{bright+} natural killer cell subpopulations. *Arch. Allergy Immunol.* 1996; 110(4):308–13. DOI: 10.1159/000237321.

14. Webster R.L., Johnson R.P. Delineation of multiple subpopulations of natural killer cells in rhesus macaques. *Immunology*. 2005; 115(2):206–14. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02147.x.

15. Overgaard N.H., Jung J.W., Steptoe R.J., Wells J.W. CD4+/CD8+ double-positive T cells: more than just a developmental stage? *J. Leukoc. Biol.* 2015; 97(1):31–8. DOI: 10.1189/jlb.1RU0814-382.

16. Lee W.W., Nam K.H., Terao K., Akari H., Yoshikawa Y. Age-related increase of peripheral CD4+CD8+ double-positive T lymphocytes in cynomolgus monkeys: longitudinal study in relation to thymic involution. *Immunology*. 2003; 109(2):217–25. DOI: 10.1046/j.1365-2567.2003.01646.x.

References

1. Khaitov R.M. [Immunology: Structure and Functions of the Immune System]. Textbook. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. 280 p.

2. Dahlke C., Lunemann S., Kasonta R., Kreuels B., Schmiedel S., Ly M.L., Fehling S.K., Strecker T., Becker S., Altfeld M., Sow A., Lohse A., Muñoz-Fontela C., Addo M.M. Comprehensive characterization of cellular immune responses following Ebola virus infection. *J. Infect. Dis.* 2017; 215(2):287–92. DOI: 10.1093/infdis/jiw508.

3. Firstova V.V., Kalmantaeva O.V., Gorbato A.A., Kravchenko T.B., Tyurin E.A., Bondarenko N.L., Dyatlov I.A., Karaulov A.V. [Assessment of specific humoral and cellular immunity in people who are vaccinated against plague on a regular basis]. *Immunopatologiya, Allergologiya, Infektologiya [Immunopathology, Allergology, Infectology]*. 2015; 3:62–8. DOI: 10.14427/jipai.2015.3.62.

4. Cimini E., Viola D., Cabeza-Cabrero M., Romanelli A., Tumino N., Sacchi A., Bordoni V., Casetti R., Turchi F., Martini F., Bore J.A., Koundouno F.R., Duraffour S., Michel J., Holm T., Zekeng E.G., Cowley L., Garcia Dorival I., Doerrbecker J., Hetzelt N., Baum J.H.J., Portmann J., Wölfel R., Gabriel M., Miranda O., Diaz G., Diaz J.E., Fleites Y.A., Piñeiro C.A., Castro C.M., Koivogui L., Magassouba N., Diallo B., Ruibal P., Oestereich L., Wozniak D.M., Lüdtke A., Becker-Ziaja B., Capobianchi M.R., Ippolito G., Carroll M.W., Günther S., Di Caro A., Muñoz-Fontela C., Agrati C. Different features of Vδ2 T and NK cells in fatal and non-fatal human Ebola infections. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(5):e0005645. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005645.

5. Sullivan N.J., Hensley L., Asiedu C., Geisbert T.W., Stanley D., Johnson J., Honko A., Olinger G., Bailey M., Geisbert J.B., Reimann K.A., Bao S., Rao S., Roederer M., Jahrling P.B., Koup R.A., Nabel G.J. CD8+ cellular immunity mediates rAd5 vaccine protection against Ebola virus infection of nonhuman primates. *Nat. Med.* 2011; 17(9):1128–31. DOI: 10.1038/nm.2447.

6. Karkishchenko N.N., Grachev S.V., editors. [Guidelines on Laboratory Animals and Alternative Models in Biomedical Technologies]. Moscow: "Profile"; 2010. 358 p.

7. Xia H.-J., Zhang G.-H., Wang R.-R., Zheng Y.-T. The influence of age and sex on the cell counts of peripheral blood leukocyte subpopulations in Chinese rhesus macaques. *Cell. Mol. Immunol.* 2009; 6(6):433–40. DOI: 10.1038/cmi.2009.55.

8. Khaidukov S.V., Baidun L.V., Zurochka A.V., Totolyan A.A. [Standardized technology "Study of the subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes using flow cytometers-analyzers"]. *Rossiyskiy Immunologicheskiy Zhurnal [Russian Journal of Immunology]*. 2014; 4:974–92.

9. Lakin G.F. [Biometrics. Study guide for Biol. spec. universities]. 4th ed., revised and expanded. M.: "Higher school"; 1990. 352 p.

10. Ignatova I.E., Agrba V.Z. [Indicators of cellular element of immunity system in primates]. *Byulleten' Eksperimental'noy Biologii i Meditsiny [Bulletin of experimental biology and medicine]*. 2010; 149(1):93–6. DOI: 10.1007/s10517-010-0882-7.

11. Hultin L.E., Hausner M.A., Hultin P.M., Giorgi J.V. CD20 (pan B-cell) antigen is expressed at a low level on a population of human T lymphocytes. *Cytometry*. 1993; 14(2):196–204. DOI: 10.1002/cyto.990140212.

12. Chidrawar S.M., Khan N., Chan Y.L., Nayak L., Moss P.A. Ageing is associated with a decline in peripheral blood CD56^{bright} NK cells. *Immun. Ageing*. 2006; 3:10. DOI: 10.1186/1742-4933-3-10.

13. Sedlmayr P., Schallhammer L., Hammer A., Wilders-Truschig M., Wintersteiger R., Dohr G. Differential phenotypic properties of human peripheral blood CD56^{dim+} and CD56^{bright+} natural killer cell subpopulations. *Arch. Allergy Immunol.* 1996; 110(4):308–13. DOI: 10.1159/000237321.

14. Webster R.L., Johnson R.P. Delineation of multiple subpopulations of natural killer cells in rhesus macaques. *Immunology*. 2005; 115(2):206–14. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2005.02147.x.

15. Overgaard N.H., Jung J.W., Steptoe R.J., Wells J.W. CD4+/CD8+ double-positive T cells: more than just a developmental stage? *J. Leukoc. Biol.* 2015; 97(1):31–8. DOI: 10.1189/jlb.1RU0814-382.

16. Lee W.W., Nam K.H., Terao K., Akari H., Yoshikawa Y. Age-related increase of peripheral CD4+CD8+ double-positive T lymphocytes in cynomolgus monkeys: longitudinal study in relation to thymic involution. *Immunology*. 2003; 109(2):217–25. DOI: 10.1046/j.1365-2567.2003.01646.x.

Authors:

Borisevich G.V., Kirillova S.L., Sidorova O.N., Lebedev V.N., Petrov A.A., Ovchinnikov A.V., Shatokhina I.V., Sizikova T.E., Sazonov V.E., Mukhacheva E.S., Borisevich S.V. "48th Central Research Institute" of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Sergiev Possad, Russian Federation. Sergiev Possad-6, 141306, Russian Federation. E-mail: 48cnii@mail.ru.

Об авторах:

Борисевич Г.В., Кириллова С.Л., Сидорова О.Н., Лебедев В.Н., Петров А.А., Овчинников А.В., Шатохина И.В., Сизикова Т.Е., Сазонов В.Е., Мухачева Е.С., Борисевич С.В. «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, 141306, Московская область, Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, 11. E-mail: 48cnii@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-47-52

УДК 616.91:616-07

Н.В. Волкова, А.В. Иванова, А.А. Исаева, О.А. Полежаева, А.В. Зайковская, Д.Н. Щербаков,
Е.И. Казачинская

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИГЕНОВ ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ЛИХОРАДКИ МАРБУРГ

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

Цель работы – получение рекомбинантных вирусных антигенов основных иммунодоминантных белков: гликопротеина (GPΔMLD), нуклеопротеина (NP) и матричного белка (VP40) вируса Марбург, а также исследование их антигенных и иммуногенных свойств. **Материалы и методы.** Для создания рекомбинантных белков GPΔMLD, NP и VP40 вируса Марбург использовали синтезированные нуклеотидные последовательности, кодирующие эти белки, клонированные в составе экспрессионного вектора pET21a. Иммуногенные и антигенные свойства полученных рекомбинантных белков проверяли с использованием ряда биомodelей (мыши, куры и морские свинки). **Результаты и обсуждение.** Получены рекомбинантные плазмиды, содержащие гены, кодирующие белки GPΔMLD, NP, VP40 вируса Марбург, а также штаммы-продуценты *Escherichia coli*, с выходом очищенных препаратов рекомбинантных белков GPΔMLD, NP, VP40 с одного литра культуральной жидкости – 5, 10 и 10 мкг соответственно. Рекомбинантные белки GP, NP и VP40 MARV при иммунизации мышей вызывают синтез антител с высоким титром (рекомбинантные белки NP и VP40 – более 409600, а рекомбинантный белок GPΔMLD – 12800). Мышинные антитела, специфичные к рекомбинантным белкам, взаимодействуют в иммуноферментном анализе с антигеном инактивированного MARV. Антитела кур, иммунизированных вирусоподобными частицами, содержащими на поверхности поверхностный гликопротеин вируса Марбург, и антитела морских свинок, иммунизированных экспериментальной ДНК-вакциной, содержащей ген GPΔMLD MARV, узнают рекомбинантный белок GPΔMLD и вирусный белок в составе инактивированного MARV. Полученные рекомбинантные белки обладают иммуногенностью/антигенностью и могут использоваться для разработки иммуноферментных тест-систем.

Ключевые слова: вирус Марбург (Marburgvirus, MARV), гликопротеин (GP), нуклеопротеин (NP), матричный белок (VP40), рекомбинантные белки, серологическая диагностика.

Корреспондирующий автор: Волкова Наталья Вячеславовна, e-mail: vector@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Волкова Н.В., Иванова А.В., Исаева А.А., Полежаева О.А., Зайковская А.В., Щербаков Д.Н., Казачинская Е.И. Получение рекомбинантных антигенов для проведения серологической диагностики лихорадки Марбург. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:47–52. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-47-52

Поступила 29.09.20. Отправлена на доработку 09.11.20. Принята к публ. 22.12.20.

N.V. Volkova, A.V. Ivanova, A.A. Isaeva, O.A. Polezhaeva, A.V. Zaykovskaya, D.N. Shcherbakov,
E.I. Kazachinskaya

Obtaining Recombinant Antigens for the Development of Serological Diagnosis of Marburg Fever

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

Abstract. Aim. Production of recombinant viral antigens of the main immunodominant proteins: glycoprotein (GPΔMLD), nucleoprotein (NP) and matrix protein (VP40) of the Marburg virus, as well as the study of their antigenic and immunogenic properties. **Materials and methods.** To create recombinant proteins GPΔMLD, NP and VP40 of the Marburg virus, synthesized nucleotide sequences encoding these proteins cloned into the pET21a expression vector were used. The immunogenic and antigenic properties of the obtained recombinant proteins were tested using a number of biomodels (mice, chickens, and guinea pigs). **Results and discussion.** Recombinant plasmids containing genes encoding proteins GPΔMLD, NP, VP40 of the Marburg virus, as well as *Escherichia coli* producing strains, with the yield of purified preparations of recombinant proteins GPΔMLD, NP, VP40 from one liter of culture fluid – 5, 10, and 10 μg were obtained, respectively. When mice are immunized, recombinant proteins GP, NP, and VP40 MARV induce the synthesis of high titer antibodies (recombinant proteins NP and VP40 – more than 409600, and recombinant protein GPΔMLD – 12800). Mouse antibodies specific to recombinant proteins interact in an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with the antigen of inactivated MARV. Antibodies of chickens immunized with virus-like particles containing the surface glycoprotein of the Marburg virus and antibodies of guinea pigs immunized with an experimental DNA vaccine containing the GPΔMLD MARV gene recognize the recombinant GPΔMLD protein and the viral protein in the inactivated MARV. The resulting recombinant proteins are immunogenic/antigenic and can be used for the development of enzyme-linked immunosorbent assay systems.

Key words: Marburg virus (MARV), glycoprotein (GP), nucleoprotein (NP), matrix protein (VP40), recombinant proteins, serological diagnostics.

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

Corresponding author: Natalya V. Volkova, e-mail: vector@vector.nsc.ru.

Citation: Volkova N.V., Ivanova A.V., Isaeva A.A., Polezhaeva O.A., Zaykovskaya A.V., Shcherbakov D.N., Kazachinskaya E.I. Obtaining Recombinant Antigens for the Development of Serological Diagnosis of Marburg Fever. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:47–52. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-47-52

Received 29.09.20. Revised 09.11.20. Accepted 22.12.20.

Zaykovskaya A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0450-5212>
Shcherbakov D.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8023-4453>
Kazachinskaya E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1856-6147>

Материалы и методы

С помощью набора «БиоМастер HS-Таг ПЦР-Color (2×)» («БиолабМикс», Россия) проведена амплификация районов, кодирующих целевые белки. Очистку продуктов амплификации проводили методом электрофореза в 1%-м агарозном геле с последующим выделением при помощи набора Cleanup Standard («Евроген», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя.

Для клонирования генов GPΔMLD, VP40 и NP MARV в составе экспрессионного вектора pET-21a использованы эндонуклеазы рестрикции XhoI и NheI (НПО «Сибэнзим», Россия). Реакционные смеси готовили в соответствии с активностью ферментов (2–5 ед. акт. на 1 мкг ДНК) и концентрацией ДНК. Условия реакции: температура, состав буферного раствора и длительность проведения ферментативного гидролиза ДНК подобраны в соответствии с инструкциями производителя. Продукты гидролиза после очистки лигировали с помощью лигазы бактериофага T4. Реакцию лигирования проводили 30 минут при комнатной температуре, используя смесь из 2 мкг ампликонов с ДНК-матрицы, 1 мкг векторной плазмиды pET-21a и 20 е.а. ДНК-лигазы фага T4 (НПО «Сибэнзим», Россия) в прилагаемом к коммерческому набору реакционном буферном растворе. Полученными продуктами лигирования трансформировали компетентные клетки *Escherichia coli* штамма BL21/DE3(+) с помощью хлористого кальция. Наличие встройки целевых генов подтверждали рестрикционным анализом и секвенированием по

Цель работы – получение рекомбинантных вирусных антигенов основных иммунодоминантных белков гликопротеина (GP), нуклеопротеина (NP) и матричного белка (VP40) MARV, исследование их антигенных и иммуногенных свойств.

Таблица 1 / Table 1

Праймеры, использованные для амплификации нуклеотидных последовательностей, кодирующих белки GP, VP40 и NP MARV

Primers used to amplify nucleotide sequences encoding proteins GP, VP40 and NP MARV

Ген Gene	Название олигонуклеотида Oligonucleotide	Нуклеотидная последовательность Nucleotide sequence
GP	GPM-pET-F	5'-aaaaacatatggctagcatgactggtggacagcaaatgggtccctatttagagatagctagtaacaatca-3'
	GPM-pET-R	5'-aaaaagtcgacttagtggtggtggtggtggtcgcatgtccaccattacca-3'
VP40	VP40M-pET-F	5'-aaaaacatatggctagcatgactggtggacagcaaatgggtgccagttccagcaattacaa-3'
	VP40M-pET-R	5'-aaaaaactcgagttagtggtggtggtggtggaacggcactgagcgttg-3'
NP	NPM-pET-F	5'-aaaaacatatggctagcatgactggtggacagcaaatgggtgattacatagctgttagagttgggt-3'
	NPM-pET-R	5'-aaaaaactcgagttagtggtggtggtggtggtgcaagttcatagcaacatgtctcct-3'

методу Сэнгера.

Культуру трансформированных клеток, содержащих рекомбинантную плазмиду с встроенным геном, культивировали в 100 мл жидкой питательной среды LB (Lysogeny broth) с добавлением натриевой соли ампициллина в рабочей концентрации 20 мкг/мл. Синтез целевых рекомбинантных белков индуцировали 0,5 мМ IPTG (изопропил- β -D-тиогалактозидом). Отбор клонов *E. coli* – продуцентов проводили по наличию синтезируемых целевых белков по результатам электрофореза лизатов клеток в 10%-м полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия (SDS-PAAG). В качестве отрицательного контроля использовали полученный аналогичным способом лизат клеток *E. coli* штамма BL21/DE3(+), содержащий плазмиду pET-21a. Очистку рекомбинантных белков, содержащих полигистидиновый блок, проводили аффинной хроматографией на Ni-хеллатной смоле, согласно протоколу фирмы-производителя Qiagen (набор Ni-NTA Fast Start). Полученные клеточные лизаты штамма *E. coli* – продуцента и очищенный рекомбинантный белок анализировали методом белкового электрофореза по методу Лэммли в SDS-PAAG. В качестве контроля использовали полученный аналогичным способом лизат клеток *E. coli* штамма BL21/DE3(+), содержащий векторную плазмиду pET-21a. Концентрацию рекомбинантных белков измеряли при помощи набора «Bio-Rad Protein Assay Kit» в соответствии с рекомендациями производителя на спектрофотометре при длине волны 495 нм и оценивали путем калибровки по овальбумину в 4 М растворе мочевины (pH 8,0).

Препараты рекомбинантных белков NP, VP40 и GPΔMLD MARV после электрофореза переносили на нитроцеллюлозную мембрану (Millipore, США) на аппарате Transpor (LKB, Швеция) в течение 1,5 часов при напряжении 80 В в 0,025 М трис-HCl буферном растворе, содержащем 0,192 М глицина (pH 8,3) и 20 % этанола. Места неспецифического связывания насыщали 1%-м раствором казеина при 37 °C в течение 2 часов в ТСБ-Т буферном растворе (состав: Трис-солевой буферный раствор с твином, содержащий 0,15 М NaCl; 0,02 М трис-HCl pH 7,4; 0,05 % Твин-20). Затем мембрану, содержащую рекомбинантный и вирусные белки, инкубировали со специфическими антителами 4 часа при 20–22 °C в буферном растворе ТСБ-Т, содержащем 0,5 % казеина. После отмывки в ТСБ-Т мембраны обрабатывали антивидовыми антителами, мечеными пероксидазой хрена (Sigma), – антимышиные и античеловеческие или белок G, меченный пероксидазой для козьих антител, в рабочих разведениях в 0,5%-м растворе казеина в ТСБ-Т в течение 2 часов при 37 °C. Затем мембраны промывали ТСБ-Т буферным раствором и проявляли в растворе хромагена (1 мг/мл 3,3-диаминобензидин тетрагидрохлорида в 50 мМ трис-HCl буферном растворе (pH 7,4), содержащем 0,145 М NaCl, 20 % этанола и 0,03 % перекиси водо-

рода). Реакцию останавливали отмыванием мембран в дистиллированной воде. Специфическое взаимодействие антител с белками проявлялось в виде ярких коричневых полос (рис. 1, B).

Для исследования иммуногенности полученных белков проведена иммунизация мышей линии Balb/c. Внутримышечную иммунизацию мышей массой 15–18 г проводили трехкратно с интервалом 10 дней. Доза рекомбинантных белков VP40, NP, GPΔMLD и инактивированного MARV составила 100 мкг на мышь. Забор крови для анализа гуморального иммунного ответа проводили на 35-е сутки.

Для исследования антигенности полученных белков проведены иммунизации морских свинок экспериментальной ДНК-вакциной против MARV по схеме, описанной ранее [7]. А также иммунизировали кур препаратом псевдовиральных частиц VSV-GPΔMLDpppp, очищенным при помощи центрифугирования в градиенте плотности сахарозы. Концентрация препарата составила $1,4 \cdot 10^7$ RLU (relative light units) (показатель количества вирионов в 1 мл – 10^9). Иммунизацию проводили 4 раза с интервалом в 3 недели [8].

Сыворотку крови морских свинок и мышей получали инкубированием препарата крови при 37 °C в течение 1 часа, далее при 4 °C 20 часов, с последующим центрифугированием в течение 10 минут при 5000 g. Препараты сывороток крови хранили при –20 °C.

Выделение из яиц иммунизированных птиц желточных антител IgY проведено с помощью метода изоэлектрического осаждения [9].

Для проведения непрямого твердофазного иммуноферментного анализа использовали полистироловые планшеты (Nunk). Сенсибилизацию ячеек рекомбинантными белками вируса Марбург (в концентрации 6 мкг/мл) выполняли в объеме 100 мкл 0,05 М натрий-фосфатного буферного раствора (pH 8,0) с 4 М мочевины. Сорбцию проводили при 22 °C в течение 18 часов. Дополнительную блокировку сорбционной активности осуществляли 1%-м раствором казеина в ТСБ-Т (трис-солевой буферный раствор с твином, содержащий 0,15 М NaCl; 0,02 М трис-HCl pH 7,4; 0,05 % Твин-20) в течение 30 минут при 37 °C. Затем раствор казеина удаляли и инкубировали антиген со специфическими антителами (мышинными, человеческими или козьими) в течение 1 часа при 37 °C или 18 часов при 4 °C в 0,5%-м растворе казеина в ТСБ-Т. После трехкратной отмывки ТСБ-Т в лунки добавляли по 100 мкл пероксидазного конъюгата антивидовых антител (Sigma) – антимышинных, античеловеческих или белок G, меченный пероксидазой для козьих антител, в рабочих разведениях в 0,5%-м растворе казеина в ТСБ-Т. Инкубировали 1 час при 37 °C. Отмывку лунок осуществляли трехкратно с ТСБ-Т. Проявление проводили в течение 30 минут при 37 °C с использованием жидкого субстрата на основе ТМБ (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine). Блокировали реакцию добавле-

нием 100 мкл 1 N HCl на каждую лунку и измеряли ОП субстратно-индикаторной смеси на спектрофотометре Uniscan при длине волны 450 нм.

Результаты и обсуждение

В геноме филовирусов выявлено 7 открытых рамок трансляции, однако не все белки вируса обладают диагностической значимостью. Основными антигенными детерминантами являются белки NP, VP40 и GP [10]. Получение индивидуальных белков филовирусов на основе вирусного материала ограничено условиями биобезопасности, а также значительными материальными затратами. Использование технологии рекомбинантной ДНК позволяет решить многие из этих проблем, однако использование в системе *E. coli* природной нуклеотидной последовательности вирусных генов для получения экспрессирующих плазмид зачастую приводит к низкому выходу целевых рекомбинантных белков. Поэтому для повышения выхода белка используют оптимизацию кодонного состава и структуру экспрессируемых генов. Получение рекомбинантных белков VP40, NP и GPΔMLD MARV в системе *E. coli* для диагностических микрочипов описано в работе Т. Kamata *et al.* [11], однако авторы не описали процесс получения рекомбинантных белков, что не позволяет воспроизвести методику и оценить ее эффективность.

В нашей работе для повышения выхода рекомбинантных белков использованы последовательности генов, кодирующих белки MARV, с оптимизированным кодонным составом. Оптимизацию кодонного состава генов проводили с помощью онлайн-сервиса GeneOptimizer [12]. Клонирование целевых генов про-

водили в составе экспрессионного вектора pET21a. Встройку проводили таким образом, чтобы целевой белок был в единой рамке считывания с лидерным пептидом гена 10 бактериофага T7 на N-конце и полигистидиновым трактом (6×His) на C-конце.

При создании рекомбинантных аналогов NP и VP40 MARV использованы полные последовательности. Из последовательности GP MARV удалена нуклеотидная последовательность, соответствующая муциноподобному домену (с 290 лейцин по 422 аспарагин), наличие которой значительно снижало выход целевого белка (неопубликованные данные). Из-за удаления муциноподобного домена, трансмембранного региона, а также отсутствия гликозилирования в прокариотической системе молекулярная масса полученного рекомбинантного белка GP отличается от нативной (рис. 1, А).

Антигенные свойства полученных рекомбинантных белков подтверждали методом иммуноблоттинга (рис. 1, В). После обработки мембраны антивидовыми антителами, меченными пероксидазой хрена (Sigma) – античеловеческими (на рис. 1, В – дорожки 1–3) и антимышиными (на рис. 1, В – дорожки 5–7), специфическое взаимодействие рекомбинантных белков с антителами проявлялось в виде ярко окрашенных бэндов. Молекулярная масса выявленных бэндов совпадает с теоретической молекулярной массой.

Для оценки иммуногенности рекомбинантных белков проводили иммунизацию мышей Balb/c. Как видно из рис. 2, после двух иммунизаций титры антител сывороток крови мышей, иммунизированных рекомбинантными белками NP MARV и VP40 MARV, выявленных при помощи инактивированного

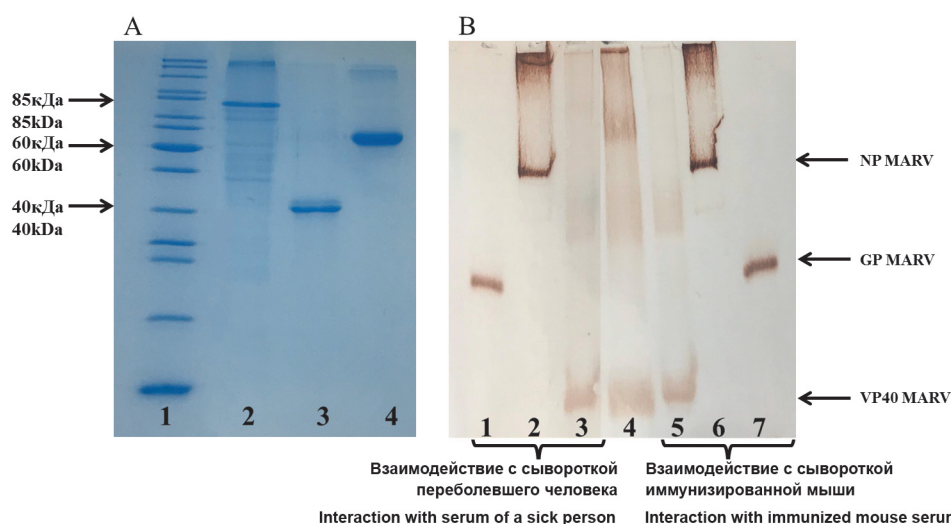


Рис. 1. А. Электрофореграмма очищенных препаратов рекомбинантных белков GPΔMLD, VP40 и NP MARV в 6 %-м ПААГ-SDS. В. Иммуноблоттинг: проверка антигенных свойств полученных рекомбинантных белков:

А: 1 – белковый маркер молекулярной массы (кДа); 2–4 – очищенные рекомбинантные белки NP, VP40 и GPΔMLD по 10 мкл/дорожка соответственно; В: 1 и 7 – рекомбинантный аналог GPΔMLD MARV; 2 и 6 – рекомбинантный аналог NP MARV; 3 и 5 – рекомбинантный аналог матричного белка VP40 MARV; 4 – инактивированный препарат MARV

Fig. 1. А. Electropherogram of purified preparations of recombinant proteins GPΔMLD, VP40 and NP MARV in 6 % SDS-PAGE. В. Immunoblotting: testing the antigenic properties of the resulting recombinant proteins:

А: 1 – protein molecular weight marker (kDa); 2–4 – purified recombinant proteins NP, VP40 and GPΔMLD at 10 μl/lane respectively; В: 1 and 7 – recombinant analogue of GPΔMLD MARV; 2 and 6 – recombinant analogue of NP MARV; 3 and 5 – recombinant analogue of the VP40 MARV matrix protein; 4 – inactivated MARV preparation

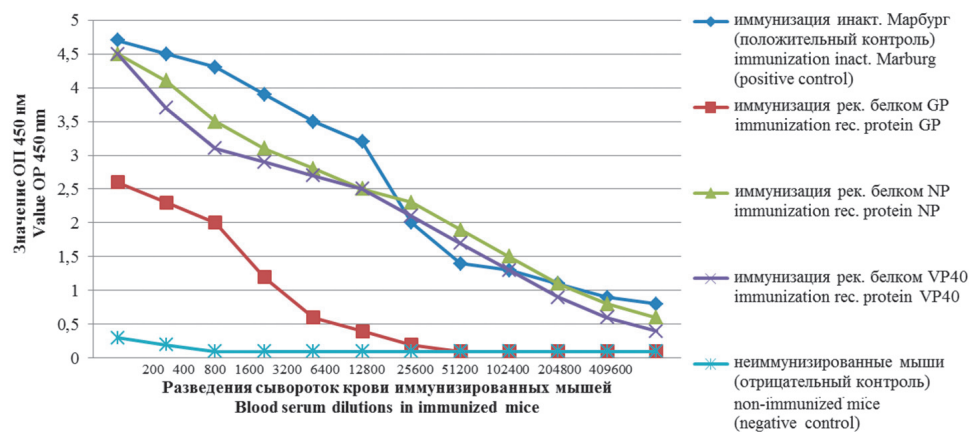


Рис. 2. Титрование сывороток крови мышей, иммунизированных рекомбинантными белками MARV. В качестве отрицательного контроля использовали сыворотки крови неиммунизированных мышей. В качестве положительного контроля использовали сыворотки крови мышей, иммунизированных инактивированным MARV

Fig. 2. Titration of blood sera from mice immunized with MARV recombinant proteins. Serum of non-immunized mice was used as a negative control. The blood serum of mice immunized with inactivated MARV was used as a positive control

MARV, достигали значений более 409600. В случае рекомбинантного GPΔMLD MARV значения были значительно ниже и составили 12800. Основываясь на этих результатах, можно констатировать, что рекомбинантные белки, полученные в системе *E. coli*, обладают иммуногенными свойствами.

Оценку реактивности полученных белков проводили с использованием сыворотки крови переболевшего человека, сыворотки крови мышей, иммуни-

зированных инактивированным препаратом MARV, домашних кур, иммунизированных вирусоподобными частицами (ВПЧ), экспонирующими на своей поверхности белок GP MARV [8], и морских свинок, иммунизированных экспериментальной ДНК-вакциной, кодирующей ген GP MARV без муциноподобного домена [7]. Как видно из данных, представленных в табл. 2, мышинные антитела, специфичные к рекомбинантным белкам, взаимодействуют в ИФА с

Таблица 2 / Table 2

Исследование антигенности рекомбинантных белков GP, NP и VP40 MARV методом твердофазного ИФА
Investigation of the antigenicity of the recombinant proteins GP, NP and VP40 MARV by solid-phase ELISA

Источник антител Source of antibodies	Обратные титры антител Reverse antibody titers					
	антиген инакт. MARV antigen inact. MARV	антиген рек. GP antigen recomb. GP	антиген рек. NP antigen recomb. NP	антиген рек. VP40 antigen recomb. VP40	антиген ВПЧ (полнораз. GP-MARV) antigen VLP (full size GP-MARV)	антиген ВПЧ (GPΔMLD-MARV) antigen VLP (GPΔMLD-MARV)
Мышь** Mouse**	<100	<100	<100	<100	<100	<100
Человек* Human*	25600	12800	12800	25600	32000	32000
Человек** Human**	<100	<100	<100	<100	<100	<100
Мышь-инакт. Marv Mouse-inact. Marv	>1018200	25600	25600	51200	800	800
Курица* Chicken*	51200	32000	-	-	>1018200	>1018200
Курица** Chicken**	<100	<100	<100	<100	<100	<100
Морская свинка* Guinea pig*	3200	12800	-	-	12800	12800
Морская свинка** Guinea pig**	<100	<100	<100	<100	<100	<100

Примечания: **антиген инакт. MARV** – сконцентрированный и очищенный из суспензии инфицированной культуры клеток *Vero*, инактивированный кипячением в течение 2 мин в растворе, содержащем 5 % β-меркаптоэтанол и 1 % додецилсульфата натрия (SDS) с дальнейшим прогреванием при 60 °C в течение 1 часа; **рек.** – рекомбинантный белок; **ВПЧ** – вирусоподобные частицы на основе вируса везикулярного стоматита, экспонирующие белок GP MARV [7]; **GPΔMLD** – белок GP без муциноподобного домена; антигены (инакт. MARV и рек. белки) использованы в концентрации 1 мкг/мл (100 нг/лунка), ВПЧ (с в разведении 1/100 из очищенного препарата с физическим титром (общее количество вирусоподобных частиц, определяемых при электронной микроскопии) 10⁶; **мышь**** – сыворотка крови неиммунных мышей (отриц. контроль); **человек*** – переболевший в результате лабораторной аварии; **человек**** – неиммунный к MARV (отриц. контроль); **курица*** – иммунизирована ВПЧ (GPΔMLD-MARV); **курица**** – неиммунная (отриц. контроль); **морская свинка*** – смесь сывороток крови морских свинок, иммунизированных экспериментальной ДНК-вакциной (GPΔMLD-MARV); «-» – нет специфического взаимодействия.

Notes: **antigen inact. MARV** – concentrated and purified from a suspension of an infected Vero cell culture, inactivated by boiling for 2 minutes in a solution containing 5 % β-mercaptoethanol and 1 % sodium dodecyl sulfate (SDS) with further heating at 60 °C for 1 hour; **recomb.** – recombinant protein; **HPV** – virus-like particles based on the vesicular stomatitis virus, exhibiting the GP MARV protein [7]; **GPΔMLD-GP** protein without mucin-like domain; antigens (inact. MARV and rec. proteins) were used at a concentration of 1 μg/ml (100 ng/well), HPV (with a dilution of 1/100 from a purified preparation with a physical titer (total number of virus-like particles determined by electron microscopy) 10⁶; **mouse**** – blood serum of non-immune mice (negative control); **human*** – recovered from a laboratory accident; **human**** – non-immune to MARV (negative control); **chicken*** – immunized with HPV (GPΔMLD-MARV); **chicken**** – non-immune (negative control); **guinea pig*** – a mixture of blood sera from guinea pigs immunized with an experimental DNA vaccine (GPΔMLD-MARV); “-” – no specific interaction.

антигеном инактивированного MARV. Антитела кур и морских свинок, иммунизированных ВПЧ, содержащим на своей поверхности гликопротеин MARV, и экспериментальной ДНК-вакциной, кодирующей ген GPΔMLD MARV, соответственно, взаимодействуют с рекомбинантным белком GPΔMLD и полно-размерным GP в составе инактивированного MARV. Полученные результаты могут свидетельствовать о сохранении антигенных свойств у вирусных белков, полученных при помощи *E. coli*.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что рекомбинантные белки MARV обладают антигенностью/иммуногенностью и могут быть использованы:

- для тестирования иммунного ответа животных и добровольцев на введение экспериментальных вакцин, содержащих белки NP, VP40 и GP MARV;

- для иммунизации мышей при получении препаратов моноклональных антител, используемых при разработке иммуноферментных тест-систем в формате «сэндвич» для выявления вирусного антигена;

- как положительный контроль в иммуноферментных тест-системах по выявлению аналогичных вирусных белков-антигенов MARV.

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

Авторы выражают благодарность доктору биологических наук А.А. Чепурнову за предоставление материалов.

Список литературы

1. Телесманич Н.Р., Микашинович З.И., Ломановский Н.С., Лосева Т.Д., Чайка С.О. Биохимия вируса Эбола и молекулярные аспекты биологической защиты. *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. 2015; 3:28–34.
2. Qiu X., Wong G., Audet J., Cutts T., Niu Y., Booth S., Kobinger G.P. Establishment and characterization of a lethal mouse model for the Angola strain of Marburg virus. *J. Virol.* 2014; 88(21):12703–14. DOI: 10.1128/JVI.01643-14.
3. Vetter P., Fischer W.A. 2nd, Schibler M., Jacobs M., Bausch D.G., Kaiser L. Ebola Virus shedding and transmission: review of current evidence. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(suppl 3):S177–S184. DOI: 10.1093/infdis/jiw254.
4. Paweska J.T., Jansen van Vuren P., Kemp A., Storm N., Grobbelaar A.A., Wiley M.R., Palacios G., Markotter W. Marburg virus infection in Egyptian rousette bats, South Africa, 2013–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(6):1134–7. DOI: 10.3201/eid2406.172165.
5. Brangel P., Sobarzo A., Parolo C., Miller B.S., Howes P.D., Gelkop S., Lutwama J.J., Dye J.M., McKendry R.A., Lobel L., Stevens M.M. A serological point-of-care test for the detection of IgG antibodies against Ebola virus in human survivors. *ACS Nano*. 2018; 12(1):63–73. DOI: 10.1021/acsnano.7b07021.
6. Программное обеспечение Snapgene. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.snapgene.com> (дата обращения 17.05.2020).
7. Волкова Н.В., Пьянков О.В., Иванова А.В., Исаева А.А., Зыбкина А.В., Казачинская Е.И., Щербakov Д.Н. Прототип ДНК-вакцины против вируса Марбурга. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2020; 170(10):487–91. DOI: 10.47056/0365-9615-2020-170-10-487-491.
8. Полежаева О.А., Щербakov Д.Н. Разработка панели псевдовиральных частиц, экспонирующих гликопротеин вируса Марбурга. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017; 8–2:27–30. DOI: 10.23670/IRJ.2017.62.018.
9. Hodek P., Trefil P., Simunek J., Hudecek J., Stiborova M. Optimized protocol of chicken antibody (IgY) purification providing electrophoretically homogenous preparations. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2013; 8:113–124.
10. Sobarzo A., Perelman E., Groseth A., Dolnik O., Becker S., Lutwama J.J., Dye J.M., Yavelsky V., Lobel L., Marks R.S. Profiling the native specific human humoral immune response to Sudan Ebola virus strain Gulu by chemiluminescence enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Vaccine Immunol.* 2012; 19(11):1844–52. DOI: 10.1128/CVI.00363-12.
11. Kamata T., Natesan M., Warfield K., Aman M.J., Ulrich R.G. Determination of specific antibody responses to the six species of Ebola and Marburg viruses by multiplexed protein microarrays. *Clin. Vaccine Immunol.* 2014; 21(12):1605–12. DOI: 10.1128/CVI.00484-14.
12. Thermo Fisher Scientific. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.thermofisher.com/ru/en/home/life-science/cloning/gene-synthesis/geneart-gene-synthesis/geneoptimizer.html> (дата обращения 22.06.2020).

References

1. Telesmanich N.R., Mikashinovich Z.I., Lomakovskiy N.S., Loseva T.D., Chaika S.O. [Biochemistry of the Ebola virus and molecular aspects of biological defense]. *Zhurnal Fundamental'noj Meditsiny i Biologii [Journal of Fundamental Medicine and Biology]*. 2015; 3:28–34.
2. Qiu X., Wong G., Audet J., Cutts T., Niu Y., Booth S., Kobinger G.P. Establishment and characterization of a lethal mouse model for the Angola strain of Marburg virus. *J. Virol.* 2014; 88(21):12703–14. DOI: 10.1128/JVI.01643-14.
3. Vetter P., Fischer W.A. 2nd, Schibler M., Jacobs M., Bausch D.G., Kaiser L. Ebola Virus shedding and transmission: review of current evidence. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(suppl 3):S177–S184. DOI: 10.1093/infdis/jiw254.
4. Paweska J.T., Jansen van Vuren P., Kemp A., Storm N., Grobbelaar A.A., Wiley M.R., Palacios G., Markotter W. Marburg virus infection in Egyptian rousette bats, South Africa, 2013–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(6):1134–7. DOI: 10.3201/eid2406.172165.
5. Brangel P., Sobarzo A., Parolo C., Miller B.S., Howes P.D., Gelkop S., Lutwama J.J., Dye J.M., McKendry R.A., Lobel L., Stevens M.M. A serological point-of-care test for the detection of IgG antibodies against Ebola virus in human survivors. *ACS Nano*. 2018; 12(1):63–73. DOI: 10.1021/acsnano.7b07021.
6. Snapgene software. (Cited 17 May 2020). [Internet]. Available from: <https://www.snapgene.com/>.
7. Volkova N.V., Pyankov O.V., Ivanova A.V., Isaeva A.A., Zybikina A.V., Kazachinskaya E.I., Shcherbakov D.N. [A prototype of a DNA vaccine against Marburg virus]. *Bulleten' Eksperimental'noj Biologii i Meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 2020; 170(10):487–91. DOI: 10.47056/0365-9615-2020-170-10-487-491.
8. Polezhaeva O.A., Shcherbakov D.N. [Development of a panel of pseudovirus particles exhibiting the glycoprotein of the Marburg virus]. *Mezhdunarodny Nauchno-Issledovatel'sky Zhurnal [International Research Journal]*. 2017; 8–2:27–30. DOI: 10.23670/IRJ.2017.62.018.
9. Hodek P., Trefil P., Simunek J., Hudecek J., Stiborova M. Optimized protocol of chicken antibody (IgY) purification providing electrophoretically homogenous preparations. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2013; 8:113–124.
10. Sobarzo A., Perelman E., Groseth A., Dolnik O., Becker S., Lutwama J.J., Dye J.M., Yavelsky V., Lobel L., Marks R.S. Profiling the native specific human humoral immune response to Sudan Ebola virus strain Gulu by chemiluminescence enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin. Vaccine Immunol.* 2012; 19(11):1844–52. DOI: 10.1128/CVI.00363-12.
11. Kamata T., Natesan M., Warfield K., Aman M.J., Ulrich R.G. Determination of specific antibody responses to the six species of Ebola and Marburg viruses by multiplexed protein microarrays. *Clin. Vaccine Immunol.* 2014; 21(12):1605–12. DOI: 10.1128/CVI.00484-14.
12. Thermo Fisher Scientific. (Cited 22 June 2020). [Internet]. Available from: <https://www.thermofisher.com/ru/en/home/life-science/cloning/gene-synthesis/geneart-gene-synthesis/geneoptimizer.html>.

Authors:

Volkova N.V., Ivanova A.V., Isaeva A.A., Polezhaeva O.A., Zaykovskaya A.V., Shcherbakov D.N., Kazachinskaya E.I. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-53-58

УДК 616.9:615.28

В.Г. Германчук, А.П. Семакова, О.А. Лобовикова, М.В. Гордеева, Н.Ю. Шавина, К.М. Морозов,
З.Л. Девдариани, Н.П. Миронова

ЭФФЕКТИВНОСТЬ УСТАНОВКИ СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ «СТЕРИУС 60» ДЛЯ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ОБЪЕКТОВ, КОНТАМИНИРОВАННЫХ ПБА I–IV ГРУПП, ПРИ РАБОТЕ С ИНФИЦИРОВАННЫМИ БИОМОДЕЛЯМИ

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

Целью настоящего исследования являлась оценка эффективности использования микроволновой системы обеззараживания медицинских отходов «Стериус 60» (Россия) для деконтаминации объектов, инфицированных ПБА I–IV групп, образующихся в результате работы с инфицированными лабораторными животными. **Материалы и методы.** Проверку эффективности обеззараживания биологических отходов, образующихся в результате жизнедеятельности лабораторных животных, СВЧ-излучением проводили в микроволновой системе для обеззараживания медицинских отходов «Стериус 60», рекомендуемой производителем для обеззараживания эпидемиологически опасных и чрезвычайно эпидемиологически опасных медицинских отходов, в том числе биологических (классы Б и В), путем объемного СВЧ-нагрева. В качестве обеззараживаемых отходов вивария использовались тушки неинфицированных лабораторных животных (белых мышей, морских свинок, кроликов-сосунков), гранулированные корма и подстилочный материал (древесная стружка), являющиеся объектами, непосредственно контактирующими с биомоделями. В качестве модельных тест-микроорганизмов использовали: *Bacillus subtilis* ВКМ В-911, *Bacillus stearothermophilus* ВКМ В-718, *Bacillus licheniformis* G ВКМ В-1711-Д, *Alcaligenes faecalis* 415, *Yersinia pestis* EV, *Bacillus anthracis* СТИ. Как макетный наполнитель камеры для модельных тест-микроорганизмов применялась лабораторная посуда (пластиковые чашки Петри, фарфоровые ступки и пестики). **Результаты и обсуждение.** В результате исследования получены данные, указывающие, что микроволновая система обеззараживания медицинских отходов «Стериус 60» неэффективна для обеззараживания биологических отходов в лабораториях, проводящих работы с биомоделями, инфицированными ПБА I–II групп. Установленный стандартный режим обеззараживания данной системы в отношении микроорганизмов III–IV групп патогенности оказался эффективным только для неспоровых форм. Поэтому, на наш взгляд, целесообразно ее использование для деконтаминации лабораторной посуды, инфицированной ПБА III–IV групп, непосредственно в местах образования отходов.

Ключевые слова: микроволновая система обеззараживания медицинских отходов, СВЧ-излучение, биологические отходы, биологическая безопасность, патогенные биологические агенты I–IV групп, лабораторные животные.

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

Для цитирования: Германчук В.Г., Семакова А.П., Лобовикова О.А., Гордеева М.В., Шавина Н.Ю., Морозов К.М., Девдариани З.Л., Миронова Н.П. Эффективность установки СВЧ-излучения «Стериус 60» для обеззараживания объектов, контаминированных ПБА I–IV групп, при работе с инфицированными биомоделями. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:53–58. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-53-58

Поступила 06.05.20. Отправлена на доработку 20.05.20. Принята к публ. 26.06.20.

V.G. Germanchuk, A.P. Semakova, O.A. Lobovikova, M.V. Gordeeva, N.Yu. Shavina, K.M. Morozov,
Z.L. Devdariani, N.P. Mironova

Effectiveness of the “Sterius 60” SHF Radiation Installation for Disinfection of Objects Contaminated with PBA of Groups I–IV, when Working with Infected Biomodels

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

Abstract. The aim was to evaluate the effectiveness of using the “Sterius 60” microwave disinfection system (Russia) for decontamination of objects infected with PBA of groups I–IV emerging as a result of working with infected laboratory animals. **Materials and methods.** Effectiveness verification of disinfection of biological waste generated as a result of the life of laboratory animals by SHF radiation was carried out in the microwave system “Sterius 60”, recommended by the manufacturer for disinfection of epidemiologically hazardous and extremely dangerous medical waste, including biological ones (classes B and C), by volumetric SHF heating. Carcasses of uninfected laboratory animals (white mice, Guinea pigs, suckling rabbits), granulated feed and bedding material (wood shavings), which are objects directly in contact with biomodels, were used as vivarium waste to be decontaminated. The following microorganisms were utilized as model test ones: *Bacillus subtilis* VKM B-911, *Bacillus stearothermophilus* VKM B-718, *Bacillus licheniformis* G VKM B-1711-D, *Alcaligenes faecalis* 415, *Yersinia pestis* EV, *Bacillus anthracis* STI. Laboratory utensils (plastic Petri dishes, porcelain mortars and pestles) were used as a mock-up chamber filler for model test microorganisms. **Results and discussion.** As a result of the study, data were obtained indicating that the microwave system for disinfection of medical waste “Sterius 60” is ineffective for decontamination of biological waste in laboratories working with biomodels infected with PBA of groups I–II. The established standard mode of disinfection of this system was effective only for non-spore forms of microorganisms, pathogenicity groups III–IV. Therefore, in our opinion, it is advisable to use it for decontamination of laboratory utensils infected with PBA of groups III–IV, directly at sites of waste generation.

Keywords: microwave disinfection system for medical waste, SHF radiation, biological waste, biological safety, pathogenic biological agents of groups I–IV, laboratory animals.

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

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

Citation: Germanchuk V.G., Semakova A.P., Lobovikova O.A., Gordeeva M.V., Shavina N.Yu., Morozov K.M., Devdariani Z.L., Mironova N.P. Effectiveness of the "Sterius 60" SHF Radiation Installation for Disinfection of Objects Contaminated with PBA of Groups I–IV, when Working with Infected Biomodels. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:53–58. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-53-58

Received 06.05.20. Revised 20.05.20. Accepted 26.06.20.

Germanchuk V.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8986-3640>

Semakova A.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9614-1278>

Gordeeva M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3726-810X>

Shavina N.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4206-7559>

Morozov K.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5727-0042>

Обеспечение биологической безопасности в лаборатории при выполнении диагностической, производственной и экспериментальной работы достигается строгим выполнением системы организационных, медико-биологических и инженерно-технических мероприятий и средств, направленных на защиту работающего персонала, населения и среды обитания человека от воздействия ПБА [1–4].

Ключевое место в системе биологической безопасности отводится обеззараживанию твердых и жидких контаминированных отходов, исключая тем самым возможность загрязнения объектов окружающей среды [5–7].

Работа в лабораториях с экспериментальными животными, инфицированными ПБА, сопряжена с повышенными рисками заражения экспериментатора и контаминации окружающей среды. В ряде случаев это связано с непредсказуемостью поведения животных при проведении различных манипуляций. В процессе работы с зараженными лабораторными животными образуются контаминированные продукты их жизнедеятельности (подстилочный материал, корма, вода, фекалии и т.д.) [8, 9]. Образующиеся отходы в результате жизнедеятельности лабораторных животных, инфицированных ПБА III–IV групп, относят к классу Б (представляющие эпидемиологическую опасность), биологические отходы ПБА I–II групп относят к классу В (чрезвычайно эпидемиологически опасные отходы) СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

При выборе методов обеззараживания твердых отходов, образующихся в результате жизнедеятельности лабораторных животных, инфицированных ПБА I–IV групп, при выполнении диагностической, производственной и экспериментальной работы, важными вопросами являются их эффективность и безопасность. В соответствии с Санитарно-эпидемиологическими правилами «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» СП 1.3.3118-13 обеззараживание таких отходов осуществляется физическими способами – автоклавирование с использованием влажного пара при температуре и избыточного давления, СВЧ-излучение, а также химическими – применение различных дезинфицирующих веществ, зарегистрированных в Российской Федерации [10–12].

Для утилизации медицинских отходов ВОЗ рекомендует использовать аппаратные способы [13, 14].

В последнее время для обеззараживания медицинских отходов классов Б и В в Российской Федерации используют различные аппаратные технологии. Например, метод химической дезинфекции с измельчением. Такой метод способствует более полному проникновению дезинфектанта в толщу отходов, повышая надежность и эффективность обеззараживания и существенно уменьшая его объемы и удаляемых обработанных отходов (установка «СТРИМЕД»). Существующий метод термической технологии основан на применении процесса протеинового лизиса во влажном жаре (установка Newster-10). В медицинских учреждениях активно используется технология СВЧ-излучения, которая эффективна и оказывает бактерицидное и спороцидное действие на широкий спектр микроорганизмов (СВЧ-установка УОМО-01/150-«О-ЦНТ») [15, 16].

Актуальность данного исследования обусловлена тем, что в настоящее время технология СВЧ-излучения одобрена в большинстве стран. Простота установки в подключении и эксплуатации, низкие капитальные и эксплуатационные затраты, возможность установки в небольшом (сравнительно с другими аппаратами) помещении на месте выполнения работ, сделали ее довольно популярной. Однако до настоящего времени в нормативных документах отсутствуют утвержденные режимы обеззараживания при работе с ПБА I–II групп. Возможности использования технологии СВЧ-излучения для обеззараживания отходов, образующихся в результате жизнедеятельности лабораторных животных, контаминированных возбудителями ПБА I–IV групп, до конца не изучены [17, 18].

В методических рекомендациях производителем микроволновой системы обеззараживания медицинских отходов «Стериус 60» определены виды отходов, разрешенных к обработке в системе. В их число входят и биологические отходы [19, 20].

Перед нами стояла задача поэтапного изучения работы микроволновой системы обеззараживания медицинских отходов «Стериус 60», используя при этом макетный наполнитель камеры для модельных тест-микроорганизмов, биологические отходы варя (тушки лабораторных животных), гранулированные корма и подстилочный материал (древесная стружка), являющиеся объектами, непосредственно контактирующими с биомоделями, ПБА.

Цель исследования – оценка эффективности использования микроволновой системы обеззара-

живания медицинских отходов «Стериус 60» для де-контаминации объектов, инфицированных ПБА I–IV групп, образующихся в результате работы с инфицированными лабораторными животными.

Материалы и методы

Проверку эффективности деконтаминации биологических отходов, образующихся в результате жизнедеятельности лабораторных животных, СВЧ-излучением проводили в микроволновой системе для обеззараживания медицинских отходов «Стериус 60», предназначенной для обеззараживания эпидемиологически опасных и чрезвычайно эпидемиологически опасных медицинских отходов (классы Б и В) путем объемного СВЧ-нагрева.

Микроволновая система «Стериус 60» работает в запрограммированном режиме управления с нагреванием отходов до температуры $(98 \pm 2)^\circ\text{C}$ и выдерживанием данной температуры обеззараживания в течение 30 минут. Частота электромагнитного излучения – 2450 МГц, мощность – 1800 Вт. Деконтаминация отходов проводится в автоматическом режиме, программное обеспечение не позволяет осуществлять выбор параметров работы системы. Контроль процесса обеззараживания осуществляется двумя независимыми датчиками температуры, что позволяет отказаться от использования одноразовых индикаторов температуры. Программа автоматически учитывает объем и температуру загруженных отходов, что отображается на ЖК-дисплее в режиме реального времени. По окончании цикла обеззараживания автоматически распечатывается чек-наклейка с данными о времени, дате, температуре, организации, проводившей дезинфекцию. Чек распечатывается в двух экземплярах, один из которых заносится в журнал учета, второй наклеивается на пакет с отходами. Система укомплектована контейнером объемом 60 литров для обеззараживания 25 кг медицинских отходов за 1 цикл и системой автоматической подачи воды.

При проведении исследований в качестве обеззараживаемых отходов использовались следующие неконтаминированные тест-объекты: биологические отходы вивария (тушки лабораторных животных: белых мышей, морских свинок, кроликов-сосунков), гранулированные корма и подстилочный материал (древесная стружка), лабораторная посуда (пластиковые чашки Петри, фарфоровые ступки и пестики).

Тест-штаммы микроорганизмов: *Bacillus subtilis* ВКМ В-911, *Bacillus stearothermophilus* ВКМ В-718, *Bacillus licheniformis* G ВКМ В-1711-Д, *Alcaligenes faecalis* 415, *Yersinia pestis* EV, *Bacillus anthracis* СТИ.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследований для проверки работоспособности микроволновой системы обез-

зараживания медицинских отходов «Стериус 60» в качестве макетного наполнителя контейнера для отходов использовалась чистая лабораторная посуда (пластиковые чашки Петри 90 мм и ступки и пестики фарфоровые). Цикл обеззараживания завершен успешно (табл. 1).

Для дальнейших испытаний взяты неинфицированные тест-объекты: корма гранулированные, подстилочный материал, тушки лабораторных животных. Тест-объекты помещали в специальный, предназначенный для обеззараживания отходов в СВЧ-установках одноразовый пакет желтого цвета, предварительно размещенный в контейнере. Края пакета равномерно загибали по периметру контейнера. Заполненный на 2/3 контейнер закрывали крышкой с помощью четырех винтов, помещали в СВЧ-установку и запускали режим обеззараживания. Обеззараживание тест-объектов проводилось трехкратно. В результате во всех случаях система автоматически прекращала работу с выдачей чека о незавершении цикла обеззараживания тест-объекта, режим выполнения – менее 65 %. Результаты исследований представлены в табл. 2.

Дальнейшую оценку эффективности работы установки СВЧ «Стериус 60» проводили с применением непатогенных и патогенных микроорганизмов III–IV групп. Результаты представлены в табл. 3.

На начальном этапе для этих целей использовали коммерческие биологические индикаторы для контроля режимов паровой стерилизации, содержащие грамположительные спорообразующие почвенные бактерии: индикатор «Биостер пар 112/10» в концентрации $5 \cdot 10^3$ – $5 \cdot 10^4$ спор *B. subtilis* ВКМ В-911, «Биостер пар 126/45» – $5 \cdot 10^4$ – $5 \cdot 10^5$ *B. stearothermophilus* ВКМ В-718 и «Биостер пар 132/45» – $5 \cdot 10^6$ – $5 \cdot 10^7$ спор *B. stearothermophilus* ВКМ В-718. Индикаторы такого типа являются автономными, представляют собой полужесткую полимерную пробирку со спорами и легко ломающуюся стеклянную ампулу с цветной питательной средой. Индикаторы помещали на дно контейнера среди макетного наполнителя (ступки и пестики фарфоровые). Микроволновая установка обеззараживания медицинских отходов «Стериус 60» производила работу в программном режиме управления, на выдан-

Таблица 1 / Table 1

Результаты обеззараживания макетных тест-объектов

Results of decontamination of mock-up test objects

Наименование тест-объектов Test object	Результаты по выдаваемому чеку Check receipt
Лабораторная посуда (пластиковые чашки Петри 90 мм) Laboratory utensils (plastic Petri dishes 90 mm)	Обеззараживание завершено успешно Decontamination is successfully completed
Лабораторная посуда (ступки и пестики фарфоровые) Laboratory utensils (porcelain mortars and pestles)	Обеззараживание завершено успешно Decontamination is successfully completed

Таблица 2 / Table 2

Результаты обеззараживания неинфицированных тест-объектов
Results of decontamination of non-infected test objects

Наименование тест-объектов Test object	Результаты по выдаваемому чеку Check receipt
Корма гранулированные Granulated feed (kibble)	Обеззараживание не завершено, экспозиция менее 65 %. Система автоматически прекратила работу Decontamination is not completed; exposition is less than 65 %. The system automatically terminated its work
Подстилочный материал Bedding material	Обеззараживание не завершено, экспозиция менее 65 %. Система автоматически прекратила работу Decontamination is not completed; exposition is less than 65 %. The system automatically terminated its work
Подстилочный материал, смоченный 3 % раствором перекиси водорода Bedding material wetted with 3 % hydrogen peroxide solution	Обеззараживание не завершено, экспозиция менее 65 %. Система автоматически прекратила работу Decontamination is not completed; exposition is less than 65 %. The system automatically terminated its work
Тушки лабораторных животных (белые мыши, морские свинки, кролики-сосунки) Carcasses of laboratory animals (white mice, Guinea pigs, suckling rabbits)	Обеззараживание не завершено, экспозиция менее 65 %. Система автоматически прекратила работу Decontamination is not completed; exposition is less than 65 %. The system automatically terminated its work

ных чеках отражено успешное завершение процесса обеззараживания. По окончании процесса индикаторы помещали в термостат для контроля эффективности деkontаминации. Через 48 часов инкубирования наблюдали за изменением цвета питательной среды биологических индикаторов. Режим обеззараживания был эффективен только в отношении *B. subtilis* ВКМ В-911. *B. stearothermophilus* ВКМ В-718, входящий в состав индикаторов в более высоких концентрациях, являющийся более устойчивым термофильным микроорганизмом, сохранил свою жизнеспособность.

Аналогичное исследование проводилось с биологическими индикаторами для контроля воздушной стерилизации, содержащими $8 \cdot 10^2$ спор

B. licheniformis G ВКМ В-1711-Д, нанесенных на носитель (флакон из трубки стеклянной для антибиотиков *ФО 10-НС-1А*). Флакон упакован в крафт-бумагу. Флаконы в каждом эксперименте размещали в вертикальном положении, среди макетного материала в каждом углу и центре контейнера. В следующей серии экспериментов в каждый флакон через крафт-бумагу стерильным шприцем вводили 1 мл стерильной дистиллированной воды для получения жидкой среды, способствующей более эффективно процессу разрушения спорных форм возбудителей путем объемного СВЧ-нагрева. На выданных чеках зарегистрировано, что обеззараживание завершено успешно. По окончании процесса обеззараживания во флаконы с тест-культурой вносили бульон

Таблица 3 / Table 3

Результаты обеззараживания тест-микроорганизмов
Results of neutralization of test-microorganisms

Тест-микроорганизмы Test-microorganism	Результаты обеззараживания по выдаваемому чеку Check receipt	Результаты микробиологических исследований эффективности обеззараживания Results of microbiological investigations on the effectiveness of decontamination
<i>B. subtilis</i> ВКМ В-911	Обеззараживание завершено успешно Neutralization is successfully completed	Фиолетовый цвет питательной среды свидетельствует об отсутствии роста тест-культуры, обеззараживание эффективно Violet color of nutrient medium is an evidence of lack of test-culture growth, the neutralization is successful
<i>B. stearothermophilus</i> ВКМ В-718	Обеззараживание завершено успешно The neutralization is successful	Помутнение питательной среды свидетельствует о росте тест-культуры, обеззараживание неэффективно Turbidity of nutrient medium is an evidence of test-culture growth, the neutralization failed
<i>B. licheniformis</i> G ВКМ В-1711-Д	Обеззараживание завершено успешно The neutralization is successful	Помутнение питательной среды свидетельствует о росте тест-культуры, обеззараживание неэффективно Turbidity of nutrient medium is an evidence of test-culture growth, the neutralization failed
<i>A. faecalis</i> 415	Обеззараживание завершено успешно The neutralization is successful	Рост тест-культуры отсутствовал, обеззараживание эффективно No test-culture growth, decontamination is effective
<i>Y. pestis</i> EV	Обеззараживание завершено успешно The neutralization is successful	Рост тест-культуры отсутствовал, обеззараживание эффективно No test-culture growth, decontamination is effective
<i>B. anthracis</i> СТИ	Обеззараживание завершено успешно The neutralization is successful	Рост тест-культуры отсутствовал, обеззараживание эффективно No test-culture growth, decontamination is effective

Хоттингера с добавлением 0,5 % глюкозы. Во всех экспериментах в исследуемых образцах после инкубации наблюдалось помутнение питательной среды, свидетельствующее о росте тест-культуры и неэффективности работы испытуемой СВЧ-установки «Стериус 60».

Далее в качестве объекта для изучения эффективности обеззараживания применяли грамотрицательные условно-патогенные бактерии *A. faecalis* 415. Пробирки с культурой *A. faecalis* 415 на тиогликолевой среде помещали на дно контейнера среды макетного наполнителя. По окончании процесса обеззараживания *A. faecalis* 415 пересеивали на агар Хоттингера с pH (7,2±0,1). После инкубации в течение 24 часов рост культуры отсутствовал.

На завершающем этапе для исследования использовали вакцинные штаммы возбудителей особо опасных инфекций, относящиеся к III группе патогенности. Взвесь агаровой культуры *Y. pestis* EV в концентрации $1,0 \cdot 10^9$ м.к./мл и взвесь споровой формы *B. anthracis* СТИ концентрацией $1,1 \cdot 10^8$ спор/мл, приготовленные по отраслевому стандартному образцу мутности 10 единиц ФГБУ «НЦЭСМП» (ОСО 42-28-59-85П), размещали в контейнере установки, как было описано ранее. По завершении процесса инактивации производили высеивание *Y. pestis* EV на бульон и агар Хоттингера, pH (7,2±0,1); *B. anthracis* СТИ – на бульон и агар Хоттингера, pH (7,4±0,1), и агар Хоттингера, pH (7,4±0,1), с добавлением 5 % дефибрированной крови барана. После инкубации посевов в течение 48 ч при температуре 28 и 37 °C рост культур отсутствовал, что свидетельствовало об эффективности работы испытуемой СВЧ-установки.

Проведенная оценка эффективности использования микроволновой системы обеззараживания медицинских отходов «Стериус 60» для деконтаминации объектов, инфицированных ПБА I–IV групп, в том числе биологических отходов вивария, образующихся в результате работы с инфицированными лабораторными животными, позволила сделать следующие выводы.

В результате нескольких серий экспериментов по обеззараживанию биологических отходов вивария, таких как тушки лабораторных животных, подстилочный материал, гранулированные корма, установлено, что предложенная производителем «Стериус 60» единая программа инактивации медицинских отходов не обеспечивает проведения цикла обеззараживания данного вида материала.

Оценка эффективности работы установки «Стериус 60» с использованием биологических индикаторов для контроля режимов стерилизации медицинских изделий и медицинских отходов с различной микробной нагрузкой показала, что установленный режим инактивации не обеспечивает гибели спорных тест-микроорганизмов *B. stearothermophilus* ВКМ 718 и *B. licheniformis* G ВКМ В-1711-Д, входящих в состав индикаторов. Однако в отношении лабораторной посуды, инфицированной неспоровыми

микроорганизмами *A. faecalis* 415, *Y. pestis* EV и споровыми микроорганизмами *B. subtilis* ВКМ В-911, *B. anthracis* СТИ, показана ее эффективность.

Особого внимания требуют вопросы обеспечения биологической безопасности при работе с ПБА I–II групп в системе обеззараживания медицинских отходов «Стериус 60», связанные с обеззараживанием конденсата, отходящего воздуха и нестабильностью работы микроволновой установки при проведении обеззараживания инфицированного материала. Образующийся в рабочей камере конденсат сливается из микроволновой системы в открытую емкость в течение всего цикла обеззараживания, а не после его завершения. Фильтрация технологического воздуха угольным фильтром производится без противоаэрозольного компонента, что потенциально может привести к выбросу ПБА в случае аварийной ситуации – отказа оборудования. В связи с выявленными проблемами невозможно проведение экспериментов по изучению эффективности обеззараживания в отношении микроорганизмов I–II групп патогенности, в том числе инфицированных биологических отходов.

Таким образом, данную микроволновую систему обеззараживания медицинских отходов «Стериус 60» целесообразно использовать для деконтаминации лабораторной посуды, инфицированной ПБА III–IV групп патогенности неспоровых форм, непосредственно в местах образования отходов.

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

Список литературы

1. Онищенко Г.Г., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков В.П., Топорков А.В., Ляпин М.Н., Кутырев В.В. Актуальные проблемы биологической безопасности в современных условиях. Часть 2. Понятная, терминологическая и определительная база биологической безопасности. *Вестник РАМН*. 2013; 68(11):4–13.
2. Малокова Т.А., Ляпин М.Н., Костюкова Т.А., Головкин Е.М., Дроздов И.Г., Кутырев В.В. Медицинские аспекты обеспечения биобезопасности при работе с возбудителями особо опасных инфекций. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2007; 5:52–7.
3. Ляпин М.Н., Кутырев В.В. Актуальные проблемы биобезопасности. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2013; 1:97–122.
4. Германчук В.Г., Морозов К.М., Семакова А.П., Шавина Н.Ю. Обеспечение биологической безопасности в лаборатории для работы с зараженными животными. *Здоровье населения и среда обитания*. 2016; 12(285):44–8.
5. Акимкин В.Г., Бормашов А.В. Современное состояние и перспективы решения проблемы обращения с медицинскими отходами в Российской Федерации. *Медицинский алфавит. Эпидемиология и гигиена*. 2013; 2(12): 48–53.
6. Акимкин В.Г., Бормашов А.В. Эпидемиологическая значимость и перспективы решения проблемы обращения с медицинскими отходами в РФ. *Поликлиника*. 2015; 5:34–39.
7. Зудинова Е.А., Балакаева А.В., Мамонтова Л.С., Тимофеева Т.В. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения мегаполисов при централизованной системе обеззараживания медицинских отходов. *Медицинский алфавит*. 2015; 6:50–4.
8. Курылина А.Ф., Семакова А.П., Брандзишевский Ю.В. Основы безопасности работы с зараженными животными. *Биозащита и биобезопасность*. 2013; 5(3):23–5.
9. Германчук В.Г., Семакова А.П., Шавина Н.Ю. Этические принципы при обращении с лабораторными животными в эксперименте с патогенными биологическими агентами I–II групп. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; (4):33–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-33-38.

10. Балакаева А.В. Краткий обзор аппаратных технологий обеззараживания медицинских отходов, применяемых в России. *Молодой ученый*. 2010; 9:83–8.
11. Шкарин В.В., Благоврадова А.С., Ковалишена О.В. Современные представления о механизмах устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2011; 3:48–53.
12. Чикина О.Г., Мубаракшин Т.Ф., Локоткова А.И. Перспективы применения физического метода обеззараживания медицинских отходов. *МедиАль*. 2015; 3(17):29–31.
13. Chartier Y., Emmanuel J., Pieper U., Prüss A., Rushbrook P., Stringer R., Townend W., Wilburn S., Zghondi R., editors. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2014. 308 p.
14. Stone V., editor. Safe management of wastes from health-care activities. Geneva: World Health Organization; 2017. 24 p.
15. Зудина Е.А., Балакаева А.В., Тимофеева Т.В., Мамонтова Л.С. Преимущества и недостатки аппаратного метода обеззараживания медицинских отходов. *Управление качеством в здравоохранении*. 2015; 1:39–46.
16. Балакаева А. В., Русаков Н. В. Сравнительная оценка эффективности установок обеззараживания медицинских отходов. *Гигиена и санитария*. 2016; 95(7):614–7. DOI: 10.18821/0016-9900-2016-95-7-614-617.
17. Шишкова Н.А., Маринин Л.И., Тюрин Е.А. Обеззараживание материалов, содержащих споры возбудителя сибирской язвы, в СВЧ печи. *Национальные приоритеты России*. 2011; 2:127–8.
18. Веркина Л.М., Титова С.В., Березняк Е.А., Симонова И.Р., Тришина А.В., Головин С.Н., Мазрухо А.Б. Оценка эффективности СВЧ-излучения для обеззараживания в лабораторных условиях объектов контаминированных *Y. pestis* и *V. cholerae*. *Дезинфекционное дело*. 2014; 1:24–8.
19. Колосовская Е.Н., Светличная Ю.С., Захватова А.С. Система обеззараживания микроволновая медицинских отходов «Стериус». Методические рекомендации. СПб.; 2013. 14 с.
20. Ялда К.Д., Рыбакова Е.В. Микроволновое обеззараживание медицинских отходов класса Б и В на примере СВЧ-установки «Стериус». *Медицинский алфавит*. 2013; 2(12):58–9.

References

1. Onishchenko G.G., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Lyapin M.N., Kutyrev V.V. [Relevant issues of biological safety under current conditions. Part 2. Terminological, notional and definitive framework of biological safety]. *Vestnik Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk [RAMS Bulletin]*. 2013; 11:4–13.
2. Malyukova T.A., Lyapin M.N., Kostyukova T.A., Golovko E. M., Drozdov I.G., Kutyrev V.V. [Medical aspects of biosafety provision when working with the causative agents of particularly dangerous infections]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2007; 5:52–7.
3. Lyapin M.N., Kutyrev V.V. [Actual problems of biosafety]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2013; 1:97–122.
4. Germanchuk V.G., Morozov K.M., Semakova A.P., Shavina N.Yu. [Ensuring biological safety in the laboratory for work with infected animals]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2016; 12(285):44–8.
5. Akimkin V.G., Bormashov A.V. [Current state and prospects of solving issues of medical waste management in the Russian Federation]. *Meditsinsky Al'favit. Epidemiologiya i Gigena [Medical Alphabet. Epidemiology and Hygiene]*. 2013; 2:48–53.
6. Akimkin V.G., Bormashov A.V. [Epidemiological significance and prospects of solving issues of medical waste management in the RF]. *Poliklinika [Polyclinic]*. 2015; 5:34–9.

7. Zudinova E.A., Balakaeva A.V., Mamontova L.S., Timofeeva T.V. [Ensuring the sanitary and epidemiological well-being of the population of megalopolises with a centralized system for the disinfection of medical waste]. *Meditsinsky Al'favit [Medical alphabet]*. 2015; 6:50–4.
8. Kurylina A.F., Semakova A.P., Brandzyshevsky Yu.V. [The foundations of safe work with infected animals]. *Biozashchita i Biobezopasnost' [Biosecurity and Biosafety]*. 2013; 3(16):23–5.
9. Germanchuk V.G., Semakova A.P., Shavina N.Y. [Ethical Principles for Handling Laboratory Animals in an Experiment with Pathogenic Biological Agents of the I–II Groups]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (4):33–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-33-38.
10. Balakaeva A.V. [Brief review of hardware technologies of medical waste decontamination, deployed in Russia]. *Molodoy Uchenyy [Young Researcher]*. 2010; 9(20):83–8.
11. Shkarin V.V., Blagonravova A.S., Kovalishena O.V. [Present views of the mechanisms of microbial resistance to disinfectants]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. Aktual'nye Voprosy [Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items]*. 2011; 3:48–53.
12. Chikina O.G., Mubarakshin T.F., Lokotkova A.I. [Prospects of applying physical methods of medical waste decontamination]. *MediAl*. 2015; 3(17):29–31.
13. Chartier Y., Emmanuel J., Pieper U., Prüss A., Rushbrook P., Stringer R., Townend W., Wilburn S., Zghondi R., editors. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 2014. 308 p.
14. Stone V., editor. Safe management of wastes from health-care activities. Geneva: World Health Organization; 2017. 24 p.
15. Zudinova E.A., Balakaeva A.V., Timofeeva T.V., Mamontova L.S. [Benefits and limitations of hardware technology for medical waste decontamination]. *Upravlenie Kachestvom v Zdravookhraneni [Public health quality management]*. 2015; 1:39–46.
16. Balakaeva A.V., Rusakov N.V. [Comparative evaluation of the efficacy of the plants for disinfection of medical waste]. *Gigena i Sanitariya [Hygiene and Sanitation]*. 2016; 95(7):614–7. DOI: 10.18821/0016-9900-2016-95-7-614-617.
17. Shishkova N.A., Marinin L.I., Tyurin E.A. [Decontamination of materials containing spores of anthrax agent in microwave oven]. *Natsional'nye Prioritety Rossii [National Priorities of Russia]*. 2011; 2:127–8.
18. Verkina L.M., Titova S.V., Bereznayk E.A., Simonova I.R., Trishina A.V., Golovin S.N., Mazrukho A.B. [Evaluation of SHF-radiation efficiency to disinfect objects contaminated with *Y. pestis* and *V. cholerae* in laboratory]. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affair]*. 2014; 1:24–8.
19. Kolosovskaya E.N., Svetlichnaya Yu.S., Zakhvatova A.S. [Microwave plant for decontamination of medical waste “Sterius”]. Methodological recommendations. St. Petersburg; 2013. 14 p.
20. Yalda K.D., Rybakova E.V. [Microwave decontamination of medical wastes Class B and C by the example of “Sterius” plant]. *Medical Alphabet [Meditsinsky Al'favit]*. 2013; 2(12):58–9.

Authors:

Germanchuk V.G., Semakova A.P., Lobovikova O.A., Gordeeva M.V., Shavina N.Yu., Morozov K.M., Devdariani Z.L., Mironova N.P. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Германчук В.Г., Семакова А.П., Лобовикова О.А., Гордеева М.В., Шавина Н.Ю., Морозов К.М., Девдариани З.Л., Миронова Н.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-59-69

УДК 616.98:579.842.23

Г.А. Ерошенко¹, А.Н. Балыкова¹, Я.М. Краснов¹, Е.А. Нарышкина¹, Е.Н. Рождественский²,
Г.Х. Базарова², А.В. Денисов², Е.Г. Оглодин¹, Н.Ю. Шавина¹, К.С. Марцоха¹, В.В. Кутырев¹

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ *YERSINIA PESTIS*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ПЛАТО УКОК И ДРУГИХ ТЕРРИТОРИЯХ ГОРНОГО АЛТАЯ

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Алтайская противочумная станция», Горно-Алтайск, Российская Федерация

Цель исследования – молекулярно-генетическая идентификация и анализ филогенетического родства штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на плато Укок в 2020 г., для установления современных границ природного мегаочага чумы в Горном Алтае в России и Монголии. **Материалы и методы.** Исследовано 37 штаммов *Y. pestis* основного подвида, выделенных в Тувинском горном и Горно-Алтайском высокогорном очагах чумы и смежных территориях Монголии в 1971–2020 гг. Полногеномное секвенирование штаммов выполняли с помощью Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific). Для обработки данных и сборки последовательностей сырых ридов *de novo* использовали Ion Torrent Suite software package 5.12 и Newbler gsAssembler 2.6. Средний размер собранного генома составил 4,55 м.п.н. Коровые SNPs выявляли путем выравнивания контигов штаммов *Y. pestis* на геноме CO92 с помощью программы Snippy 4.6, затем удаляли 28 гомоплазий SNPs. Полученный набор SNPs содержал только коровую область генома (955 SNPs). Дендрограмму строили методом Maximum Likelihood с применением программы PhyML 3.1. **Результаты и обсуждение.** Определена современная популяционная структура *Y. pestis* основного подвида античного биовара филогенетической линии 4.ANT, эндемичной для трех очагов Горного Алтая в России и Монголии. Выявлено наличие клона 4.ANT-21, получившего распространение на территории этих природных очагов чумы в начале XXI в. Показана принадлежность трех штаммов, выделенных на плато Укок в 2020 г., к клону 4.ANT-21. По данным филогенетического анализа получены доказательства циркуляции 4.ANT на плато Укок ранее 2018 г. Сделан вывод о необходимости обследования пограничных с плато Укок территорий Монголии, Казахстана и Китая для установления современных границ мегаочага 4.ANT.

Ключевые слова: возбудитель чумы, штаммы, очаги чумы Горного Алтая.

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

Для цитирования: Ерошенко Г.А., Балыкова А.Н., Краснов Я.М., Нарышкина Е.А., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Денисов А.В., Оглодин Е.Г., Шавина Н.Ю., Марцоха К.С., Кутырев В.В. Сравнительный генетический анализ штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на плато Укок и других территориях Горного Алтая. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:59–69. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-59-69

Поступила 23.11.20. Принята к публ. 24.12.20.

Г.А. Eroshenko¹, A.N. Balykova¹, Ya.M. Krasnov¹, E.A. Naryshkina¹, E.N. Rozhdestvensky²,
G.Kh. Bazarova², A.V. Denisov², E.G. Oglodin¹, N.Yu. Shavina¹, K.S. Martsokha¹, V.V. Kutyrev¹

Comparative Genetic Analysis of *Yersinia pestis* Strains Isolated on the Ukok Plateau and other Territories of the Altai Mountains

¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation;

²Altai Plague Control Station, Gorno-Altai, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was molecular-genetic identification and analysis of the phylogenetic relationship of *Yersinia pestis* strains isolated on the Ukok Plateau in 2020, in order to establish the current boundaries of the natural mega focus of plague in the Altai Mountains in Russia and Mongolia. **Materials and methods.** 37 strains of *Y. pestis* of the main subspecies isolated in the Tuva mountain and Gorno-Altai high-mountain plague foci and adjacent territories of Mongolia in 1971–2020 were studied. The whole genome sequencing of the strains was performed using the Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific). Ion Torrent Suite software package 5.12 and Newbler gsAssembler 2.6 were used to process the data and assemble *de novo* the sequences of raw reads. The average size of the collected genome was 4.55 million base pairs. Core SNPs were detected by aligning the contigs of *Y. pestis* strains on the CO92 genome using the Snippy 4.6 program, then 28 SNP homoplasies were removed. The resulting set of SNPs contained only the core region of the genome (955 SNPs). The dendrogram was constructed using the Maximum Likelihood method applying the PhyML 3.1 program. **Results and discussion.** The current population structure of *Y. pestis* of the main subspecies, antique biovar, phylogenetic line 4.ANT, endemic to the foci of the Altai Mountains in Russia and Mongolia has been determined. The presence of 4.ANT-21 clone, which became widespread in the territory of these natural foci of plague at the beginning of the XXI century, was revealed. It is shown that three strains isolated on the Ukok Plateau in 2020 belong to clone 4.ANT-21. According to phylogenetic analysis, evidence of 4.ANT circulation on the Ukok Plateau before 2018 was obtained. The lesson that has been learned is that it is necessary to study the territories of Mongolia, Kazakhstan and China bordering the Ukok Plateau in order to establish the current boundaries of the 4.ANT mega focus.

Key words: pathogen of plague, strains, foci of plague in the Altai Mountains.

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

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

Citation: Eroshenko G.A., Balykova A.N., Krasnov Ya.M., Naryshkina E.A., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Denisov A.V., Oglodin E.G., Shavina N.Yu., Martsokha K.S., Kuttyrev V.V. Comparative Genetic Analysis of *Yersinia pestis* Strains Isolated on the Ukok Plateau and other Territories of the Altai Mountains. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; 4:59–69. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-59-69

Received 23.11.20. Accepted 24.12.20.

Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>

Balykova A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3766-7979>

Krasnov Ya.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>

Kuttyrev V.V., ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

На северо-западной окраине Центрально-Азиатской зоны природной очаговости чумы в Горном Алтае в России расположены очаги чумы Сибири, в которые входят Горно-Алтайский высокогорный и Тувинский горный. Продолжением Горно-Алтайского высокогорного очага на территории Монголии является Сайлюгемский высокогорный очаг. Эти природные очаги чумы открыты в 60-х гг. XX столетия по проявлениям эпизоотической активности [1]. В Горно-Алтайском высокогорном очаге установлена циркуляция алтайского биовара центральноазиатского подвида *Yersinia pestis* subsp. *central asiatica*, biovar *altaica* (ранее алтайского подвида). Случаи чумы, вызванные алтайским и другими биоварами центральноазиатского подвида – гиссарским, таласским, *microtus* (филогенетическая ветвь 0.РЕ4), распространенными в Центральной Азии, не зарегистрированы [2, 3].

В 2012 г. в ур. Большие Сары-Гобо в Кош-Агачском районе Республики Алтай на территории Горно-Алтайского высокогорного очага впервые выделен единичный штамм *Y. pestis* М-1951 (исх. – 1454-Алт.), который по комплексу фенотипических и генетических признаков отнесен к основному подвиду *Y. pestis* ssp. *pestis* филогенетической линии 4.ANT античного биовара. До 2012 г. штаммы 4.ANT выделяли только в Тувинском горном очаге, а также в некоторых очагах Монгольского Алтая, в частности в очаге Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирхан [4–6]. По данным мультилокусного VNTR анализа, MLVA25, штамм *Y. pestis* М-1951 попал в одну группу со штаммами, выделенными в конце 1980-х гг. на территории природного очага чумы Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирхан (Баян-Ульгийский аймак). Из этого было сделано заключение о том, что штамм занесен из Монголии из очага Сэрх-Мунх-Хаирхан, расположенного на расстоянии 240 км от места его находки [7].

В 2014–2016 гг. в этом же Кош-Агачском районе Республики Алтай впервые в Горном Алтае произошли три случая заболевания чумой человека, вызванные штаммами 4.ANT основного подвида [8, 9]. Проведенные в 2014–2017 гг. эпизоотологические обследования выявили широкое распространение *Y. pestis* основного подвида, циркулирующего на сурках в Горно-Алтайском высокогорном очаге [10]. Проведены широкомасштабные профилактические и противоэпидемические мероприятия в целях снижения риска осложнения эпидемиологической ситуации по чуме на территории Республики Алтай [11, 12].

По результатам комплексного анализа эпизоотологических, эпидемиологических и молекулярно-генетических данных предположено существование трансграничного мегаочага в Горном Алтае,

включающего Тувинский горный, Горно-Алтайский высокогорный очаги и прилегающие районы Монголии, с циркуляцией *Y. pestis* основного подвида античного биовара филогенетической линии 4.ANT [13]. Популяция 4.ANT эндемична для Горного Алтая и в других очагах мира не встречается [2, 3, 14]. Эпизоотические обследования, проведенные в 2017–2018 г. в Монголии, выявили распространение 4.ANT на территории Сайлюгемского высокогорного очага [15, 16]. В 2019 г. здесь произошли случаи заражения чумой человека, подтверждающие активизацию и расширение границ мегаочага чумы в Горном Алтае [17].

До сих пор малообследованной оставалась территория плато Укок, расположенного на окраине Горного Алтая в России на границе с тремя государствами: Монголия, Казахстан и Китай. При обследовании плато Укок в 2019 г. в районе верхней части долины р. Калгуты методом ПЦР выявлена ДНК *Y. pestis* в остатках стола хищных птиц [18]. В ходе эпизоотологического обследования, проведенного в 2020 г., выделены 3 штамма *Y. pestis* основного подвида, а также получены положительные результаты ПЦР-диагностики и серологического обследования, что свидетельствовало о протекании здесь эпизоотии чумы.

Молекулярно-генетическая идентификация и филогенетический анализ штаммов *Y. pestis*, впервые выделенных на плато Укок, представляют интерес как для установления направлений и закономерностей распространения высоковирулентных штаммов *Y. pestis* основного подвида в Горном Алтае, так и для выяснения современных границ расположенного здесь природного мегаочага чумы. Получение этих данных необходимо для определения масштабов эпизоотологического мониторинга и оптимизации объемов проведения профилактических мер в этом участке природной очаговости чумы.

Материалы и методы

Штаммы. Исследованные в работе штаммы *Y. pestis* получены из Государственной коллекции патогенных бактерий на базе РосНИПЧИ «Микроб». Штаммы выращивали в LB бульоне и на LB агаре в течение 24–48 часов. Анализ культурально-морфологических и биохимических свойств штаммов проводили в соответствии с принятыми методами лабораторной диагностики возбудителя чумы [19].

Полногеномное секвенирование, идентификация SNPs, построение дендрограммы. ДНК штаммов *Y. pestis* выделяли с использованием набора PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, USA).

Полногеномное секвенирование выполняли с помощью Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific) в соответствии с инструкцией производителя. Для приготовления библиотек образцов использовали наборы Ion Xpress™ Plus Fragment Library Kit и Ion Xpress™ Barcode Adapter 1-16 Kit. Для автоматизированной подготовки матрицы применяли Ion Chef System с наборами Ion 520™ & Ion 530™ Kit – Chef и Ion 530™ Chip Kit. Обработку данных и сборку последовательностей сырых ридов *de novo* проводили с помощью Ion Torrent Suite software package 5.12 и Newbler gsAssembler 2.6. Секвенированные риды собирали в контиги со средним покрытием на геном 98,56 % (глубина прочтения 50х). Средний размер собранного генома составил 4,55 м.п.н. Коровые SNPs выявляли путем выравнивания контигов штаммов *Y. pestis* на геноме CO92 с помощью программы Snippy 4.6, затем удаляли 28 гомоплазий SNPs. Полученный набор SNPs содержал только коровую область генома (955 SNPs). Дендрограмму строили

методом Maximum Likelihood с применением программы PhyML 3.1. Модель нуклеотидных замен GTR подобрана в программе Jmodeltest2 с учетом AIC-критерия. Использовали 500 бутстреп-реплик. Визуализацию филогенетического дерева выполняли в программе Dendroscope V3.7.3.

Результаты и обсуждение

При проведении комплексного анализа свойств штаммов *Y. pestis*, выделенных на плато Укок в 2020 г., изучены их биохимические и генетические особенности. Для сравнения использованы штаммы *Y. pestis*, выделенные в 1987–2020 гг. в Тувинском горном, Горно-Алтайском высокогорном очагах в России и в Сайлюгемском высокогорном очаге в Монголии. Всего в этой работе приведены данные по 37 штаммам, выделенным за 50 лет – с 1971 по 2020 год (табл. 1). В их число входят 9 штаммов из Тувинского горного очага: по одному штамму 1971,

Таблица 1 / Table 1

Штаммы *Yersinia pestis* из очагов Горного Алтая, использованные в этой работе
Yersinia pestis strains from the foci of Altai Mountains, used in the study

№ штамма Strain No	Очаг и место выделения Focus and site of isolation	Источник, год выделения Source, year of isolation
Тувинский горный 1971–2015 Tuva mountain focus 1971–2015		
2060	Тува, Саглинский э/о, уч. 12. Верхние Саглы Tuva, Saglinsky territory, section 12, Verkhnie Sagly	<i>Spermophilus undulatus</i> , 1971
И-3110	Тувинская АССР, Овюрский р-н. Карасут Т-4, 26,5 км от п. Саглы, 4144605042 Tuva ASSR, Ovyursky region, Karasut T-4, 26.5 km from Sagly settlement, 4144605042	<i>Citellophilus tesquorum</i> , 1984
KM932	Тувинская АССР, ур. Оначи Саглинского природного мезоочага чумы Tuva ASSR, Onachi landmark of the Saglinsky natural mesofocus of plague	<i>C. tesquorum</i> , 1987
620	Республика Тыва (Р. Тыва), Монгун-Тайгинский кожуун, ур. Чалыаш Republic of Tuva (Tuva R.), Mongun-Tajiginsky kozhuun, Chalyash landmark	<i>C. tesquorum</i> , 1998
1552	Р. Тыва, Монгун-Тайгинский кожуун, ур. Кадыр-Оруг Tuva R., Mongun-Tajiginsky kozhuun, Kadyr-Orug landmark	<i>Paramonopsyllus scalonae</i> , 2001
М-1944	Р. Тыва, Монгун-Тайгинский кожуун, Барош-ай, 4144604024 Tuva R., Mongun-Tajiginsky kozhuun, Barosh-ai, 4144604024	<i>Marmota sibirica</i> , 2012
863	Р. Тыва, Монгун-Тайгинский кожуун, ур. Кара-Ляш, с. 3744506042 Tuva R., Mongun-Tajiginsky kozhuun, Kara-Lyash landmark, 3744506042	<i>S. undulates</i> , 2013
1636	Р. Тыва, ур. Кара-Ляш, с. 3744506042 Tuva R., Kara-Yyash landmark, 3744506042	<i>C. tesquorum</i> , 2015
209	Р. Тыва, Монгун-Тайгинский кожуун, ур. Орук-Туг, с. 3744604932 Tuva R., Mongun-Tajiginsky kozhuun, Oruk-Tug landmark, 3744604932	<i>S. undulatus</i> , 2015
Горно-Алтайский высокогорный 2012–2020 Gorno-Altai high-mountain focus 2012–2020		
М-1951 [исх. 1454-Алт.] [originally 1454-Alt.]	Республика Алтай (Р. Алтай), Большие и Малые Сары-Гобо, т. 2, с. 364450951.2 Altai Republic, (Altai R.), Great and Small Sary-Gobo, p. 2, 364450951.2	<i>S. undulatus</i> , 2012
М-1971 [517 Алт.] [517 Alt.]	Р. Алтай, с. Мухор-Тархата, ул. Телесовой, 19 Altai R., Mukhor-Tarkhata village, Telesovoy St., 19	Человек/human, 2014
337	Горно-Алтайский высокогорный, Средин Ирбисту, т. 8. 364450813.1 Gorno-Altai high-mountain, Sredina Irbistu, 364450813.1, p. 8	<i>Marmota baibacina</i> , 2015
349	Горно-Алтайский высокогорный, Средин Ирбисту, т. 8. 364450813.1 Gorno-Altai high-mountain, Sredina Irbistu, 364450813.1, p. 8	<i>O. silantievi</i> , 2015
25	Горно-Алтайский высокогорный, окр. озера Киндыктыкуль 364450834.2 Gorno-Altai high-mountain, vicinities of the Lake Kindytkyul 364450834.2	<i>M. baibacina</i> , 2016
133	Р. Алтай, Горно-Алтайский высокогорный, Кош-Агачский район, стационар т. 3, от с. Кош-Агач 49 км – 142° 364450951 Altai R., Gorno-Altai high-mountain, Kosh-Agach region, permanent out-station p. 3, 49 km from Kosh-Agach village	<i>M. baibacina</i> , 2016

Окончание таблицы 1 / Ending of the table 1

157	Р. Алтай, Кош-Агачский район, с. Мухор-Тархата, ул. Самтаева, 5/1 Altai R., Kosh-Agach region, Mukhor-Tarkhata village, Samtaeva St., 5/1	Человек/human, 2016
162	Р. Алтай, Кош-Агачский район, г. Горно-Алтайск, пр-т Коммунистический, 125/35 Altai R., Kosh-Agach region, Gorno-Altai city, Kommunistichesky avenue, 125/35	Человек/human, 2016
848	134508342(36) Богуты, т. 5. N 49.7915°, E 88.3799° 134508342(36) Boguty, p. 5. N 49.7915°, E 88.3799°	<i>S. undulates</i> , 2017
290	Р. Алтай, Кош-Агачский район. 134509421 (36) Средина Больших Шибет, т. 9. N 49.6652°, E 88.8169° Altai R., Kosh-Agach region, 134509421 (36) Sredina Bolshikh Shibet, p. 9. N 49.6652°, E 88.8169°	<i>M. baibacina</i> , 2018
266	Р. Алтай, Кош-Агачский район. 13450931.4 окр. Озера Караколь-Нур и Зерниколь-Нур т. 2. N 49.5611 и E 88.2355 Altai R., Kosh-Agach region, 13450931.4, vicinities of the Lake Karakol-Nur and Zernikol-Nur, p. 2. N 49.5611 и E 88.2355	<i>M. baibacina</i> , 2018
276	Р. Алтай, Кош-Агачский район. 13450942.2 Вершина Больших Шибет, т. 2. N 49.64854 T 88.88837 Altai R., Kosh-Agach region, 13450942.2 Bolshikh Shibet Summit, p. 2. N 49.64854 T 88.88837	<i>M. baibacina</i> , 2018
38	Горно-Алтайский высокогорный, Кош-Агачский район, Средина Больших Шибет, т. 9. 134509421(36) N 49.6577°, E 88.8099° Gorno-Altai high-mountain focus, Kosh-Agach region, Sredina Bolshikh Shibet, p. 9. 134509421(36) N 49.6577°, E 88.8099°	<i>M. baibacina</i> , 2019
1097	Горно-Алтайский высокогорный, Вершина реки Бар-Бургазы, т. 1. 134508324(36) N 49.8730°, E 89.4466° Gorno-Altai high-mountain focus, Apex of the river Bar-Burgazy, p. 1. 134508324(36) N 49.8730°, E 89.4466°	<i>S. undulatus</i> , 2019
110	Горно-Алтайский высокогорный, окрестности оз. Киндыктыкуль, без точки 134508342(36) N 49.8314°, E 89.4648° Gorno-Altai high-mountain focus, Vicinities of the Lake Kindytkyul, no point, 134508342(36) N 49.8314°, E 89.4648°	<i>M. baibacina</i> , 2019
1689	Горно-Алтайский высокогорный, окрестности озер Каракуль и Зерлюколь-Нур, т. 1. 134509323(36) N 49.5530°, E 88.2785 Gorno-Altai high-mountain focus, vicinities of the Lakes Karakul and Zerlyukol, p. 1. 134509323(36) N 49.5530°, E 88.2785	<i>Oropsylla alakensis</i> , 2019
50	Р. Алтай, Кош-Агачский район. 13450923.3 Ак-Алаха N 49.3031°, E 87.5963° Altai R., Kosh-Agach region, 13450923.3 Ak-Alakha N 49.3031°, E 87.5963°	<i>M. baibacina</i> , 2020
112	Р. Алтай, Кош-Агачский район. 134501042.2 Вершина р. Калгуты. т. 2. N 49.2896°, E 87.9277° Altai R., Kosh-Agach region, 134501042.2 apex of the river Kalguty, p. 2. N 49.2896°, E 87.9277°	Погодки хищных птиц, 2020 Regurgitate of carnivorous birds, 2020
1214	Р. Алтай, Кош-Агачский район. 134508234(36) Правый берег Чаган-Бургазы, т. 7. N 49.4098° E 88.7305° Altai R., Kosh-Agach region, 134508234(36) Right bank of the river Chagan-Burgazy, p. 7. N 49.4098° E 88.7305°	<i>O. silantiewi</i> , 2020
656	Р. Алтай, Кош-Агачский район. 134501041.2 Калгуты т. 2. N 49.3096°, E 87.7021° Altai R., Kosh-Agach region, 134501041.2 Kalguty p. 2 N 49.3096°, E 87.7021°	<i>O. alakensis</i> , 2020
581	Р. Алтай, Кош-Агачский район. 13450931.4 Окр. Озера Каракуль и Зерниколь-Нур, т. 2. N 49.5742, E 88.2378 Altai R., Kosh-Agach region, 13450931.4, vicinities of the Lake Karakul and Zernikol-Nur, p. 2. N 49.5742, E 88.2378	<i>O. alakensis</i> , 2020
Монголия 1988, 2018 Mongolia 1988, 2018		
И-3239	Монгольская Народная Республика (МНР), Баян-Ульгийский аймак, Дэлун сомон, уч. Хара-Гобо Mongolian People's Republic (MPR), Bayan-Ulgiiisky aimak, Deluun somon, Khara-Gobo	<i>Oropsylla silantiewi</i> , 1988
И-3244	МНР, Баян-Ульгийский аймак MPR, Bayan-Ulgiiisky aimak	<i>Ochotona dauurica</i> , 1988
И-3647	Монголия, Баян-Ульгийский аймак, Улаанхус сомон, уч. Хар-Жамат, т. 1. N 49.388205°, E 88.68013° Mongolia, Bayan-Ulgiiisky aimak, Ulaankhus somon, Khar-Zhamat, p. 1. N 49.388205°, E 88.68013°	<i>M. baibacina</i> , 2018
И-3656	Монголия, Баян-Ульгийский аймак, Ногооннуур сомон, 13450952.3, уч. Хагнур, т. 1. N 49.568937°, E 89.27499° Mongolia, Bayan-Ulgiiisky aimak, Nogoonnuur somon, 13450952.3, Khagnur, p. 1. N 49.568937°, E 89.27499°	<i>M. baibacina</i> , 2018
И-3660	Монголия, Баян-Ульгийский аймак, Ногооннуур сомон, 13450954.1, уч. Зуслан-Булаг, т. 2. N 49.495468°, E 89.26795° Mongolia, Bayan-Ulgiiisky aimak, Nogoonnuur somon, 13450954.1, Zuslan-Bulag, p. 2. N 49.495468°, E 89.26795°	<i>M. baibacina</i> , 2018
И-3662	Монголия, Баян-Ульгийский аймак, Ногооннуур сомон, 13451082.1 уч. Хундий, т. 1 Mongolia, Bayan-Ulgiiisky aimak, Nogoonnuur somon, 13451082.1, Khundy, p. 1	<i>M. baibacina</i> , 2018
И-3674	Монголия, Баян-Ульгийский аймак, Ногооннуур сомон, 13450964.4 уч. Бухан-Толгой, т. 1 Mongolia, Bayan-Ulgiiisky aimak, Nogoonnuur somon, 13450964.4, Bukhan-Tolgoi, p. 1	<i>M. baibacina</i> , 2018
MGJZ12	Монголия, Баян-Ульгийский аймак, N 48.18°, E 89.50° Mongolia, Bayan-Ulgiiisky aimak, N 48.18°, E 89.50°	<i>M. sibirica</i> , 2002 GenBank

1984, 1987, 1998, 2001, 2012, 2013 гг. и два штамма 2015 г. Также изучены 7 штаммов *Y. pestis*, выделенных в Баян-Ульгийском аймаке в Монголии: 3 – в 1988 г., 5 – в 2018 г. Исследован 21 штамм *Y. pestis*, полученный в разных участках Горно-Алтайского высокогорного очага, включая 1 штамм 2012 г., 1 – 2014, 2 – 2015, 4 – 2016, 1 – 2017, 3 – 2018, 4 – 2019 г. и 5 штаммов 2020 г., в том числе три штамма с плато Укок 2020 г. Большинство использованных штаммов выделены от сурков (*Marmota baibacina*, *M. sibirica*) – 15 штаммов, а также от длиннохвостого суслика (*Spermophilus undulatus*) – 6 штаммов, даурской пищухи (*Ochotona dauurica*) – 1 штамм, блох (*Citellophilus tesquorum*, *Oropsylla silantiewi*, *O. alakensis*, *Paramonopsyllus scalonae*) – 11 штаммов, погадок хищных птиц – 1 штамм. Три штамма получены от человека в Горно-Алтайском высокогорном очаге в 2014 и 2016 гг.

Анализ биохимических характеристик трех штаммов *Y. pestis*, выделенных в 2020 г. на плато Укок, показал, что они, как и другие взятые для сравнения штаммы из очагов Горного Алтая, относятся к античному биовару основного подвида *Y. pestis* и обладают типичными для этого биовара свойствами. Они не ферментируют рамнозу, но утилизируют ара-

бинозу и глицерин, обладают способностью к редукции нитратов. Анализ плазмидного состава выявил присутствие в их геноме, кроме трех резидентных плазмид *Y. pestis*, дополнительной плазмиды размером 33,4 т.п.н., соответствующей размерам типичной для штаммов 4.ANT плазмиды rTP33. По комплексу этих признаков штаммы основного подвида, выделенные в 2020 г. на плато Укок и других территориях Горного Алтая, относятся к филогенетической линии 4.ANT античного биовара. Места выделения этих штаммов представлены на рис. 1 и 2.

Для установления генетического родства штаммов *Y. pestis*, впервые выделенных на плато Укок в 2020 г., проведено их полногеномное секвенирование и филогенетическое исследование по данным SNP-анализа в коровом геноме секвенированных штаммов (рис. 3). Полногеномное секвенирование проведено также для еще двух штаммов *Y. pestis*, выделенных в 2020 г. в Кош-Агачском районе Горно-Алтайского высокогорного очага. В рамках этой работы в генетической базе данных NCBI GenBank депонированы геномы двух штаммов филогенетической линии 4.ANT – *Y. pestis* 276 (№ JAEMHJ0000000000) и 157 (№ JAEMHI0000000000). При построении филогенетического дерева использованы также



Рис. 1. Места выделения штаммов *Yersinia pestis* античного биовара основного подвида, филогенетической линии 4.ANT в Тувинском горном, Горно-Алтайском высокогорном очагах в России и в Сайлюгемском высокогорном очаге в Монголии в 1987–2020 гг.

Fig. 1. Site of isolation of *Yersinia pestis* strains, antique biovar of the main subspecies, phylogenetic line 4.ANT in the Tuva mountain, Gorno-Altai high-mountain foci in Russia and in the Sailugem high-mountain focus in Mongolia in 1987–2020

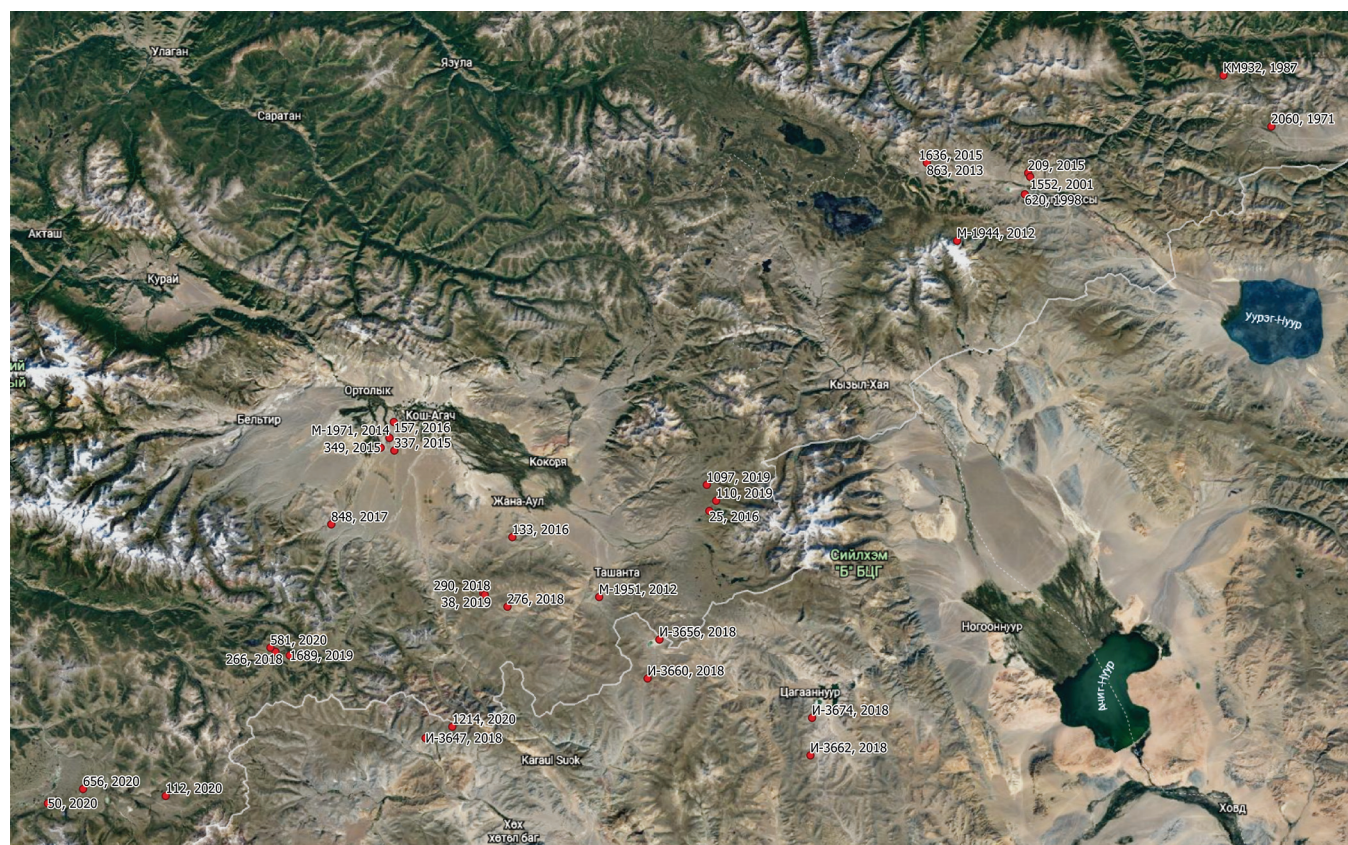


Рис. 2. Карта Горного Алтая с указанием мест выделения штаммов *Y. pestis* основного подвида античного биовара филогенетической линии 4.ANT в Тувинском горном очаге в 1971–2015 гг., в Горно-Алтайском высокогорном очаге в 2012–2020 гг. и в Сайлюгемском высокогорном очаге в 2018 г. Аэрокосмическая съемка природных очагов чумы Горного Алтая

Fig. 2. Map of the Altai Mountains showing the places of isolation of *Y. pestis* strains of the main subspecies of the antique biovar, the phylogenetic line 4.ANT in the Tuva mountain focus in 1971–2015, in the Gorno-Altai high-mountain focus in 2012–2020 and in the Saylyugem high-mountain focus in 2018. Aerospace survey of natural plague foci in the Altai Mountains

нуклеотидные последовательности 11 штаммов *Y. pestis* из других очагов мира. Они включают: 620024 (ADPM00000000), 2751-55 (LYCL00000000), Pestoides A (NZ_ACNT00000000), Pestoides B (NZ_CP010023), И-2998 (LYMR00000000), B42003004 (NZ_AAYU00000000), CO92 (NC_003143), KIM10 (NC_004088), Nepal516 (NZ_ACNQ00000000), MGJZ9 (ADSZ00000000), MGJZ12 (ADSV00000000) из базы данных NCBI GenBank.

На дендрограмме видна четкая кластеризация штаммов *Y. pestis* популяции 4.ANT по месту и времени выделения. Наиболее ранняя ветвь представлена кластером из трех штаммов, выделенных в Тувинском горном очаге в прошлом веке в 1971, 1984 и 1987 гг. Штаммы получены от длиннохвостого суслика и от блох *C. tesquorum*. За ней от ствола эволюции 4.ANT отходит ветвь, содержащая современные штаммы *Y. pestis*, выделенные преимущественно в XXI в. Количество SNPs, специфических для этой ветви 4.ANT, составляет 10, из них 8 SNPs расположены в кодирующих последовательностях (рис. 3, филогенетический узел I; табл. 2). Эта ветвь включает один известный штамм MGJZ12 (NCBI GenBank), полученный от сурка в Баян-Ульгийском аймаке Монголии в 2002 г., и подветвь штаммов 4.ANT, выделенных на территории всех трех очагов

Горного Алтая. Последняя имеет 7 специфических SNPs (5 SNPs в кодирующих последовательностях) (рис. 3, филогенетический узел II, табл. 2) и в свою очередь распадается на две подветви, первая из которых содержит три отдельных кластера штаммов из Тувинского горного очага. В эту подветвь штаммов (филогенетический узел III, 7 SNPs, 5 – в кодирующих последовательностях) из Тувинского очага 1998–2015 гг. входит кластер (2 SNPs) из двух штаммов, выделенных от блох в 1998 и 2001 гг. в Монгун-Тайгинском кожууне Республики Тыва. Другой кластер (3 SNPs, 2 – в кодирующих последовательностях) состоит из двух штаммов, полученных от сурка и длиннохвостого суслика в 2012–2013 гг. так же в Монгун-Тайгинском кожууне (3 специфических SNPs, 2 – в кодирующих последовательностях). Третий кластер (1 SNP в кодирующей последовательности) содержит два штамма 2015 г., выделенных от суслика в том же кожууне и от блохи *C. tesquorum* в ур. Кара-Ыяш. Все эти штаммы получены в Тувинском горном очаге в течение 18 лет, с 1998 по 2015 год. Для них выявлено определенное генетическое разнообразие. Штаммы относятся к разным кластерам со своими специфическими SNPs, что свидетельствует об их независимой микроэволюции в отдельных участках Монгун-Тайгинского кожууна.

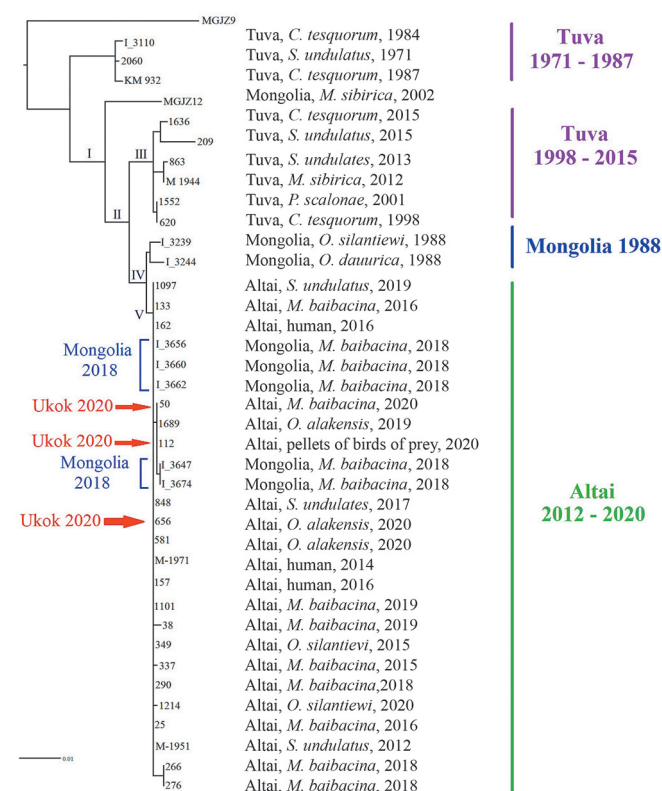


Рис. 3. Филогенетическое родство штаммов *Y. pestis*, выделенных на плато Укок и других участках Кош-Агачского района Республики Алтай в 2020 г., по данным полногеномного секвенирования 37 штаммов из очагов Горного Алтая в России и Монголии на основе 955 выявленных коровых SNPs. Использованы также полногеномные последовательности 11 штаммов *Y. pestis* различных филогенетических линий из NCBI GenBank. Для построения дендрограммы применяли метод Maximum Likelihood с моделью замены GTR (критерий AIC) при помощи программы PhyML 3.1, с 500-бутстреп поддержкой. Для повышения качества разрешения на рисунке приведен фрагмент дендрограммы, содержащий только штаммы филогенетической ветви 4.ANT. Штамм MGJZ9 (NCBI GenBank) относится к филогенетической линии 3.ANT

Fig. 3. Phylogenetic relations of *Y. pestis* strains isolated on the Ukok Plateau and other sites of the Kosh-Agach district of the Altai Republic in 2020, according to whole genome sequencing of 37 strains from the Gorny Altai foci in Russia and Mongolia based on 955 identified core SNPs. Whole genome sequences of 11 *Y. pestis* strains of various phylogenetic lines from NCBI GenBank were also used. To construct the dendrogram, the Maximum Likelihood method was used with the GTR replacement model (AIC criterion) applying the PhyML 3.1 program, with 500-bootstrap support. To improve the resolution quality, the figure shows a fragment of the dendrogram containing only strains of the phylogenetic branch 4.ANT. Strain MGJZ9 (NCBI GenBank) belongs to the phylogenetic line 3.ANT

На карте на рис. 2 видно, что эти участки разделены естественными преградами, что может быть причиной независимой микроэволюции отдельных популяций 4.ANT в этом очаге. Условия Тувинского горного очага, по-видимому, являются благоприятными для постоянной циркуляции *Y. pestis* 4.ANT, поскольку эти штаммы выделяются здесь регулярно, с 1971 по 2020 год, на протяжении 50 лет.

Вторая подветвь 4.ANT включает штаммы из Горно-Алтайского очага и смежных территорий Монголии. Для этой подветви характерно наличие 5 SNPs в кодирующих последовательностях (рис. 3, филогенетический узел IV; табл. 2). Эта подветвь

делится на два отдельных кластера, первый из которых состоит из двух штаммов: И-3239 и И-3244, выделенных в 1988 г. в очаге Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирхан в Баян-Ульгийском аймаке в Монголии от блох *O. silantiewi* и даурской пищухи. Эти два штамма отличает 1 SNP в кодирующей последовательности (табл. 2). Второй большой кластер составляют штаммы из Горно-Алтайского и Сайлюгемского очагов 2012–2020 гг. (рис. 3, филогенетический узел V; табл. 2). Этот кластер (2 SNPs, 1 – в кодирующей последовательности) представляет собой один клон, получивший распространение в начале XXI в., по-видимому, на фоне сложившихся для него благоприятных климатических условий. Мы обозначили его как 4.ANT-21. На стволе этого клона расположились штаммы 4.ANT, выделенные в Горно-Алтайском высокогорном очаге в России в 2012–2020 гг. и в Монголии в 2018 г. Весь клон единообразен и мономорфен, т.к. выделенные за девять лет штаммы практически не отличаются по SNPs. Входящие в клон штаммы не успели накопить отличий, что говорит о молодости и силе клона. Лишь штаммы последних лет (2018–2020 гг.) демонстрируют незначительные признаки дивергенции. Так, небольшой кластер (3 SNP в кодирующих последовательностях) составлен двумя штаммами *Y. pestis* 266 и 276, выделенными в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2018 г. Два единичных штамма на дендрограмме имеют уникальные SNPs: штамм 38 (1 SNP) и 1214, 2020 г. (1 SNP в кодирующей последовательности).

Анализ клона 4.ANT-21 свидетельствует о том, что штамм М-1951 (исх. 1454 Алт.) основного подвида, впервые выделенного в Горно-Алтайском высокогорном очаге в 2012 г., расположен на стволе клона, как и другие штаммы 4.ANT 2014–2020 гг. Это означает, что этот штамм не был предшественником всех штаммов 4.ANT в Горно-Алтайском высокогорном очаге, как предполагалось ранее. Полученные данные свидетельствуют в пользу существования мегаочага 4.ANT в Горном Алтае, охватывающего Тувинский и Горно-Алтайский очаги в России и смежные территории в Монголии.

Два штамма *Y. pestis* 50 (сурок) и 112 (погадки хищных птиц), выделенные на плато Укок в 2020 г., образовали отдельный кластер, отходящий от ствола клона 4.ANT-21. В этот кластер также вошел штамм 1689 (блоха *O. alakensis*, 2019), выделенный в окрестностях озер Каракуль и Зерлюколь-Нур, неподалеку от плато Укок (рис. 2). Этот кластер от клона 4.ANT-21 отделяет 1 SNP: замена Г→А, в позиции 3371894 (по геному референсного штамма CO92) в межгенном пространстве между генами YPO_RS16070 (кодирует MFS transporter, CDS:WP_002208513.1) и YPO_RS16075 (кодирует MurR/RpiR family transcriptional regulator, CDS:WP_002208514.1). Рядом с этим кластером на стволе клона расположен еще один штамм *Y. pestis* 656 (*O. alakensis*) с плато Укок 2020 г. Комплекс этих филогенетических данных свидетельствует о том, что штаммы, выделенные на

Таблица 2 / Table 2

SNPs, маркерные для филогенетических узлов дендрограммы (рис. 3) штаммов *Y. pestis* 4.ANT, использованных в этой работеMarker SNPs for phylogenetic nodes of the dendrogram (Fig. 3) of 4.ANT *Y. pestis* strains used in the study

Узел / штаммы Node / strains	SNP	Координаты Coordinates	Ген Gene	Продукт гена Gene product
I	C → T	576681	<i>leuB</i>	3-isopropylmalate dehydrogenase
	C → A	2046555	<i>flgE</i>	flagellar hook protein FlgE
	C → T	2416791	YPO_RS11730	multidrug efflux MFS transporter
	G → A	2463301	intergenic	–
	C → A	2809913	YPO_RS13495	sugar ABC transporter ATP-binding protein
	G → T	3279062	<i>tssJ</i>	type VI secretion system lipoprotein TssJ
	G → A	3286616	YPO_RS15675	fimbrial biogenesis outer membrane usher protein
	T → G	3765150	<i>eno</i>	phosphopyruvate hydratase
	C → A	4266465	YPO_RS20075	hypothetical protein
II	G → A	4645860	<i>atpG</i>	F0F1 ATP synthase subunit gamma
	C → A	394234	intergenic	–
	G → T	928294	intergenic	–
	C → T	1484392	YPO_RS07580	serine hydrolase
	C → T	1996447	YPO_RS09745	PAS domain S-box protein
	G → A	3270727	<i>murQ</i>	N-acetylmuramic acid 6-phosphate etherase
	A → G	3718023	YPO_RS17620	ABC transporter permease
Тува 1998–2015 Tuva 1998–2015				
III Общие SNPs Common SNPs	A → C	585091	<i>ilvI</i>	acetolactate synthase 3 large subunit
	C → T	631699	intergenic	–
	G → A	842650	YPO_RS04830	NAD-dependent epimerase/dehydratase family protein
	C → T	1387707	intergenic	–
	A → C	1938023	YPO_RS09475	spore coat U domain-containing protein
	C → A	3091698	YPO_RS14785	aspartate/glutamate racemase family protein
1636, 209	G → A	3263892	<i>purL</i>	phosphoribosylformylglycinamide synthase
	G → A	2774153	YPO_RS13360	hypothetical protein
863, M-1944	C → A	3705268	intergenic	–
	T → A	325289	YPO_RS02605	quinone oxidoreductase
	G → A	1345125	intergenic	–
1552, 620	C → T	3972331	YPO_RS18755	FAD-dependent oxidoreductase
	G → T	4263645	YPO_RS20065	fimbrial protein
Монголия 1988, Горно-Алтайский и Сайлюгемский высокогорные очаги 2012–2020 Mongolia 1988, Gorno-Altai and Sailyugemsky high-mountain foci 2012–2020				
IV	C → T	632082	YPO_RS03920	M48 family metalloproteinase
	G → A	828329	<i>yapJ</i> (PSEUDO)	autotransporter adhesin YapJ
	T → G	2092484	<i>yecC</i>	L-cystine ABC transporter ATP-binding protein YecC
	G → T	3693309	YPO_RS17515	L-fucose/L-arabinose isomerase family protein
	G → A	4339797	<i>wzzE</i>	ECA polysaccharide chain length modulation protein
Монголия, очаг Хуух-Сэрх-Мунх-Ханрхан, Баян-Ульгийский аймак, 1988 Mongolia, Khuukh-Serkh-Munkh focus, Bayan-Ulgii aimak, 1988				
И-3239, И-3244	G → A	3850025	YPO_RS18185	valine-tRNA ligase
Клон 4.ANT-21, Горно-Алтайский и Сайлюгемский высокогорные очаги 2012–2020 4.ANT-21 Clone, Gorno-Altai and Sailyugemsky high-mountain foci 2012–2020				
V	C → A	2057419	YPO_RS10035	bifunctional aldolase/short-chain de-hydrogenase
	C → T	3495476	intergenic	–
Кластер Укок 2020, Монголия 2018 Ukok cluster 2020, Mongolia 2018				
50, 1689, 112, И-3647, И-3674	G → A	3371894	intergenic	–
И-3647, И-3674	C → T	478919	<i>yjiX</i>	inosine/xanthosine triphosphatase
Отдельные штаммы клона 4.ANT-21 Individual strains of 4.ANT-21 clone				
38	A → G	2953398	intergenic	–
1214	G → T	446069	YPO_RS03120	GGDEF domain-containing protein
266, 276	C → T	1304220	<i>uvrB</i>	excinuclease ABC subunit B
	C → T	1616525	<i>pqiB</i>	intermembrane transport protein PqiB
	G → A	4460438	YPO_RS20930	ribose ABC transporter permease

плато Укок в 2020 г., являются производными клона 4.ANT-21, получившего распространение в Горном Алтае в начале XXI в.

В составе кластера со штаммами из плато Укок выделяется подкластер из двух штаммов из Баян-Ульгийского аймака Монголии 2018 г.: И-3647 (*M. baibacina*, Улаанхус сомон) и И-3674 (*M. baibacina*, Ногооннуур сомон). Подкластер этих монгольских штаммов 2018 г. отличает наличие единичного SNP: замена С→Т в позиции 478919 в гене *xyjX* (фермент inosine/xanthosine triphosphatase, CDS:WP_002209229.1). Этот факт свидетельствует в пользу циркуляции популяции 4.ANT на плато Укок ранее 2018 г., поскольку производные кластера выделялись на сопредельных территориях в Улаанхус и Ногооннуур сомонах Монголии уже в 2018 г. Другие три штамма (И-3656, И-3660, И-3662) из сомона Ногооннуур Баян-Ульгийского аймака 2018 г. легли в основной ствол клона 4.ANT-21, в непосредственной близости от кластера со штаммами из Укока 2020 г. Это означает, что на плато Укок и смежных территориях Монголии уже в 2018 г. циркулировали близкородственные штаммы 4.ANT.

Неподалеку от плато Укок в 2020 г. от блох выделены еще два штамма 581 (*O. alakensis*, окрестности Озер Каракуль и Зерниколь-Нур) и 1214 (*O. silantiewi*, правый берег Чаган-Бургазы). На дендрограмме они расположены на стволе клона 4.ANT-21, что подтверждает их общее происхождение с остальными штаммами 4.ANT, выделенными в Горно-Алтайском и Сайлюгемском очагах в 2012–2020 гг. В целом полученные филогенетические данные свидетельствуют о том, что впервые выявленная на этих территориях в 2012–2020 гг. циркуляция основного подвида *Y. pestis* является результатом экспансии одного клона, точное место происхождения которого предстоит выяснить в дальнейшем по результатам секвенирования большего числа штаммов из очагов Горного Алтая.

Таким образом, на основании сравнительного изучения полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis*, выделенных в Горном Алтае, проведен анализ направлений пространственно-временной эволюции штаммов античного биовара филогенетической ветви 4.ANT, эндемичной для трех природных очагов чумы: Тувинского горного и Горно-Алтайского высокогорного в России и Сайлюгемского высокогорного в Монголии. В соответствии с ранее опубликованной работой эти очаги составляют мегаочаг с циркуляцией эндемичной популяции 4.ANT. По данным молекулярных часов эволюции, филогенетическая линия 4.ANT является древней линией *Y. pestis*, что свидетельствует и о древности очагов чумы Горного Алтая [20].

Филогенетический анализ 37 штаммов 4.ANT показал пространственно-временную структуру популяции 4.ANT в 1971–2020 гг. за период около 50 лет. Наиболее рано дивергировавшими штаммами на дендрограмме являются штаммы из Тувинского

горного очага 1971–1987 гг. Штаммы выделены в Саглинском и Овюрском районах этого очага. Эти штаммы предшествуют всем взятым в исследование штаммам 4.ANT, выделенным в Горном Алтае на территории трех очагов (рис. 3). Для штаммов начала XXI в. из Тувинского горного очага выявлено определенное генетическое разнообразие, которое, по-видимому, обусловлено микроэволюцией отдельных популяций 4.ANT в ограниченных естественными преградами участках очага.

Современные штаммы 4.ANT, выделенные в Горно-Алтайском и Сайлюгемском высокогорных очагах в 2012–2020 гг., принадлежат к одному клону, получившему распространение на фоне оптимальных климатических условий, сложившихся в этих очагах. Выявленная эпизоотическая и эпидемическая активность в Горно-Алтайском высокогорном очаге и прилегающих районах Монголии является результатом экспансии этого клона основного подвида. Клон 4.ANT-21 родственен штаммам 1988 г. из очага Хуух-Сэрх-Мунх-Хаирхан в Монголии, и обе популяции имеют общего предка, но их дальнейшая эволюция происходила независимо друг от друга, и клон 4.ANT-21 составляет отдельную филогенетическую подветвь 4.ANT. Клон мономорфен. Штаммы, входящие в него, практически не накопили генетических отличий, что говорит о его недавнем происхождении. Следует отметить высокую скорость распространения клона, занявшего значительную часть Горно-Алтайского высокогорного очага и трансграничной территории Монголии. Это может быть объяснено благоприятными климатическими условиями и отсутствием естественных преград на территории распространения. Этот механизм предполагает участие в распространении клона 4.ANT-21 комплекса носителей и переносчиков из этого природного очага чумы.

Для установления точного места происхождения клона 4.ANT-21 необходимо увеличение количества исследованных штаммов 4.ANT из разных участков Горного Алтая. По совокупности доступной к настоящему времени информации непосредственным местом происхождения клона 4.ANT-21 может быть участок, расположенный на границе между Россией и Монголией, где выделено большинство штаммов этого клона. Исторически под действием циклических изменений климата размеры мегаочага 4.ANT изменяются. Наступление благоприятных условий в конкретном участке очага может дать начало распространению популяции из этого участка с захватом большой территории, что приводит к существенному увеличению размеров очага. По данным филогенетического анализа, штаммы *Y. pestis*, впервые выделенные на плато Укок в 2020 г., также принадлежат к клону 4.ANT-21, который циркулировал на плато Укок уже в 2018 г. Выявление штаммов 4.ANT на плато Укок, расположенном на северо-западной окраине очаговости Горного Алтая на границе России с Монголией, Казахстаном и Китаем, ставит вопрос

о необходимости проведения эпизоотологических обследований на трансграничных территориях этих государств для выяснения современных границ мегаочага 4.ANT.

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

Список литературы

- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 191 с.
- Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hova J.V., Oglodin E.G., Guseva N.P., Motin V.L. 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.
- 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.
- Балахонов С.В., Цэнджав С., Эрдэнэбат А. Новые плазмидовары штаммов возбудителя чумы, изолированных в Монголии. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 1991; 11:27–9.
- Erdenebat A., Batbold J., Dashnyam B. Plasmid content and distribution of *Y. pestis* isolated in Mongolia. *Scientific Journal. Center for Infectious Diseases with Natural Foci.* 2001; 9:187–91.
- 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.
- Балахонов С.В., Афанасьев М.В., Шестопалов М.Ю., Остяк А.С., Витязева С.А., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Ивченко Н.И., Рождественский Е.Н., Висков Е.Н., Фомина Л.А. Первый случай выделения *Yersinia pestis* subsp. *pestis* в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение 1. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолята. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2013; 1:60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-60-65.
- Кутырев В.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Щучинов Л.В., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Денисов А.В., Шарова И.Н., Попов Н.В., Кузнецов А.А. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 1. Эпидемиологические и эпизоотологические особенности проявлений чумы в Горно-Алтайском высокогорном (Сайлюгемском) природном очаге чумы. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2014; 4:9–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16.
- Балахонов С.В., Попова А.Ю., Мищенко А.И., Михайлов Е.П., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Щучинов Л.В., Зарубин И.В., Семёнова Ж.Е., Маденова Н.М., Дюсенабаев Д.К., Ярыгина М.Б., Чипанин Е.В., Косилко С.А., Носков А.К., Корзун В.М. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение 1. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2016; 1:55–60. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60.
- Корзун В.М., Балахонов С.В., Денисов А.В., Чипанин Е.В., Косилко С.А., Рождественский Е.Н., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Базарова Г.Х., Ярыгина М.Б. Интродукция возбудителя чумы основного подвида в поселения серого сурука в Юго-Восточном Алтае. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* 2017; 4:20–9.
- Попова А.Ю., Балахонов С.В., Щучинов Л.В., Матросов А.Н., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Шефер В.В., Шестаков В.А., Рождественский Е.Н., Чипанин Е.В., Корзун В.М., Косилко С.А., Иннокентьева Т.И., Ярыгина М.Б., Сбитнева С.В., Тагызова С.Л., Архипов Г.С., Щербакоса С.А., Топорков В.П., Кузнецов А.А., Раздорский А.С., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Попов Н.В., Ермаков Н.М., Кутырев В.В. Организация противоэпидемических и профилактических мероприятий по чуме на территории Кош-Агачского района Республики Алтай и оценка их эффективности. *Инфекционные болезни.* 2018; 16(4):5–15. DOI: 10.20953/1729-9225-2018-4-5-15.
- 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., Щербакоса С.А., Кутырев В.В. Организация профилактических мероприятий в целях снижения риска осложнения эпидемиологической ситуации по чуме на территории Республики Алтай. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2018; 6:85–94. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-85-94.
- Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Краснов Я.М., Никифоров К.А., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Кутырев В.В. Природный мегаочаг основного подвида *Yersinia pestis* античного биовара филогенетической ветви 4.ANT в Горном Алтае. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 2:49–56. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-49-56.
- 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.
- Балахонов С.В., Ярыгина М.Б., Гладких А.С., Миронова Л.В., Феранчук С.И., Бочалгин Н.О., Рождественский Е.Н., Витязева С.А., Нацагдорж Б., Цэрэнноров Д., Цогбадрах Н., Косилко С.А., Корзун В.М. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на монгольской территории трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 3:34–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-34-42.
- 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; 22:26–33.
- Попов Н.В., Ерошенко Г.А., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Иванова А.В., Поршаков А.М., Ляпин М.Н., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Аязбаев Т.З., Лопатин А.А., Ашибоков У.М., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпидемиологическая и эпизоотическая обстановка по чуме в Российской Федерации и прогноз ее развития на 2020–2025 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 1:43–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-43-50.
- Чипанин Е.В., Денисов А.В., Корзун В.М., Холин А.В., Шестаков В.А., Рошупкин С.Е., Базарова Г.Х., Мищенко А.И. Результаты эпизоотологического обследования труднодоступных участков Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в 2019 г. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии.* 2019; 37:52–3.
- Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
- Harbeck M., Seifert L., Hänsch S., Wagner D.M., Birdsell D., Parise K.L., Wiechmann I., Grupe G., Thomas A., Keim P., Zoller L., Bramanti B., Riehm J.M., Scholz H.C. *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6(th) century AD reveals insights into Justinianic Plague. *PLoS Pathog.* 2013; 9(5):e1003349. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003349.

References

- Onishchenko G. G., Kutyrev V. V., editors. [Natural Foci of Plague in the Caucasus, the Caspian Sea, Central Asia and Siberia]. Moscow: "Meditsina"; 2004. 191 p.
- Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hova J.V., Oglodin E.G., Guseva N.P., Motin V.L. 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.
- 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.
- Balakhonov S. V., Tsendzhav S., Erdenebat A. [New plasmidovars of plague pathogen strains isolated in Mongolia]. *Moлекулярная Генетика, Микробиология и Вирусология [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 1991; 11:27–9.
- Erdenebat A., Batbold J., Dashnyam B. Plasmid content and distribution of *Y. pestis* isolated in Mongolia. *Scientific Journal. Center for Infectious Diseases with Natural Foci.* 2001; 9:187–91.
- Adyaasuren Z., Tserennorov D., Myagmar Zh., Gankhuyag Ts., Otgonbayar D., Bayar Ts., Verzhutsky D.B., Ganbold D., Balakhonov S.V. [The current situation in the natural plague foci of Mongolia]. *Dal'nevostochny Zhurnal Infektsionnoj Patologii. [Far Eastern Journal of Infectious Pathology]*. 2014; 25:22–5.
- Balakhonov S.V., Afanas'ev M.V., Shestopalov M.Yu.,

- Ostyak A.S., Vityazeva S.A., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Ivzhenko N.I., Rozhdestvensky E.N., Viskov E.N., Fomina L.A. [The first case of *Yersinia pestis* subsp. *pestis* isolation in the territory of Altai Mountain natural plague focus. Communication 1. Microbiological characteristics, molecular-genetic and mass-spectrometric identification of the isolate]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (1):60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-60-65.
8. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Paksina N.D., Shchuchinov L.V., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.K., Denisov A.V., Sharova I.N., Popov N.V., Kuznetsov A.A. [Infection of an individual with plague in the Gorno-Altai high-mountain natural focus in 2014. Communication 1. Epidemiological and epizootiological peculiarities of plague manifestations in the Gorno-Altai high-mountain (Sailyugemsky) natural plague focus]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2014; (4):9–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16
9. Balakhonov S.V., Popova A.Yu., Mishchenko A.I., Mikhailov E.P., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.K., Shchuchinov L.V., Zarubin I.V., Semenova Z.E., Madenova N.M., Dyusenbaev D.K., Yarygina M.B., Chipanin E.V., Kosilko S.A., Noskov A.K., Korzun V.M. [A case of human infection with plague in the Kosh-Agach region of the Republic of Altai in 2015. Communication 1. Clinical-epidemiological and epizootiological aspects]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (1):55–60. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60.
10. Korzun V.M., Balakhonov S.V., Denisov A.V., Chipanin E.V., Kosilko S.A., Rozhdestvensky E.N., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Bazarova G.Kh., Yarygina M.B. [Introduction of the plague pathogen of the main subspecies into the settlements of the gray marmot in the South-Eastern Altai]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni. [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 2017; 4:20–9.
11. Popova A.Yu., Balakhonov S.V., Shchuchinov L.V., Matrosov A.N., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Shefer V.V., Shestakov V.A., Rozhdestvensky E.N., Chipanin E.V., Korzun V.M., Kosilko S.A., Innokent'yeva T.I., Yarygina M.B., Sbitneva S.V., Tagyzova S.L., Arkhipov G.S., Shcherbakova S.A., Toporkov V.P., Kuklev E.V., Razdorsky A.S., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Popov N.V., Ermakov N.M., Kutyrev V.V. [Organization of plague control and prevention measures on the territory of Kosh-Agach district of the Altai Republic and estimation of their effectiveness]. *Infektsionnye Bolezni [Infectious Diseases]*. 2018; 16(4):5–15. DOI: 10.20953/1729-9225-2018-4-5-15.
12. 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., Kutyrev V.V. [Organization of preventive, anti-epidemic measures to reduce the risk of complications of the epidemiological situation on plague in the territory of the Altai Republic]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2018; 6:85–94. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-85-94.
13. Eroshenko G.A., Popov N.V., Krasnov Y.M., Nikiforov K.A., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Kutyrev V.V. [Natural megafocus of *Yersinia pestis* main subspecies, antique biovar, phylogenetic line 4.ANT in Gorny Altai]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (2):49–56. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-49-56.
14. 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.
15. Balakhonov S.V., Yarygina M.B., Gladkikh A.S., Mironova L.V., Feranchuk S.I., Bochalgin N.O., Rozhdestvensky E.N., Vityazeva S.A., Natsagdorz B., Tserennorov D., Tsogbadrakh N., Kosilko S.A., Korzun V.M. [Molecular-genetic characteristics of *Yersinia pestis* strains isolated in the Mongolian territory of transboundary Sailyugem natural plague focus]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (3):34–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-34-42.
16. Altantugs B., Byambasuren D., Maralma G., Naranbaatar R., Saltanat S., Uuganjavkhua B., Erdenechimeg L., Altantogtokh D. Epidemiology of human plague in Mongolia. *Current issues on zoonotic diseases. Ulaanbaatar*. 2017; 22:26–33.
17. Popov N.V., Eroshenko G.A., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Ivanova A.V., Porshakov A.M., Lyapin M.N., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Ayazbaev T.Z., Lopatin A.A., Ashibokov U.M., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. [Epidemiological and epizootic situation on plague in the Russian Federation and forecast for its development for 2020–2025]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (1):43–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-43-50.
18. Chipanin E.V., Denisov A.V., Korzun V.M., Kholin A.V., Shestakov V.A., Roshchupkin S.E., Bazarova G.H., Mishchenko A.I. [Results of epizootiological survey of hard-to-reach areas of the Gorno-Altai high-mountain natural plague focus in 2019]. *Dalnevostochny Zhurnal Infektsionnoy Patologii. [Far Eastern Journal of Infectious Pathology]*. 2019; 37:52–3.
19. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. Moscow: CJSC “Shiko”; 2013. 560 p.
20. Harbeck M., Seifert L., Hänsch S., Wagner D.M., Birdsell D., Parise K.L., Wiechmann I., Grupe G., Thomas A., Keim P., Zoller L., Bramanti B., Riehm J.M., Scholz H.C. *Yersinia pestis* DNA from skeletal remains from the 6(th) century AD reveals insights into Justinianic Plague. *PLoS Pathog.* 2013; 9(5):e1003349. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003349.

Authors:

Eroshenko G.A., Balykova A.N., Krasnov Ya.M., Naryshkina E.A., Oglodin E.G., Shavina N.Yu., Martsokha K.S., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.Kh., Denisov A.V. Altai Plague Control Station. 2, Zavodskaya St., Gorno-Altai, 649002, Russian Federation. E-mail: chumagorny@mail.ru.

Об авторах:

Ерошенко Г.А., Балькова А.Н., Краснов Я.М., Нарышкина Е.А., Оглодин Е.Г., Шавина Н.Ю., Марцоха К.С., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-70-74

УДК 616.98:578.2

А.Л. Кравцов, А.Ю. Гончарова, С.А. Бугоркова, З.Л. Девдариани, В.А. Кожевников

ФОРМИРОВАНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЧУМНОЙ ИНФЕКЦИИ У МЫШЕЙ, ИММУНИЗИРОВАННЫХ *YERSINIA PESTIS* EV НИИЭГ

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

Цель исследования – определить влияние *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на процесс формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек *in vivo* при моделировании чумной инфекции и оценить их вклад в противочумную защиту. **Материалы и методы.** В работе использовали мышей линии BALB/c, которых подкожно иммунизировали культурой вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ. Заражали животных вирулентным штаммом *Y. pestis* 231 в дозе 20 LD₅₀ (10³ КОЕ). Для оценки вклада нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) в антибактериальную защиту применяли экспериментальную модель, основанную на расщеплении НВЛ в брюшной полости мышей нуклеазой. Для подсчета числа НВЛ в перитонеальном экссудате (ПЭ) использовали люминесцентную микроскопию. Фагоцитарную активность клеток ПЭ определяли с помощью проточной цитометрии. Бактериологическим методом регистрировали бактерицидный эффект НВЛ. **Результаты и выводы.** У предварительно иммунизированных мышей процесс формирования НВЛ в ответ на повторное введение живых клеток чумного микроба был в 5 раз интенсивнее, чем у интактных животных и сопровождался существенным усилением киллинга клеток *Y. pestis* в ПЭ. Применение в эксперименте для расщепления образующихся в организме иммунизированных животных НВЛ микрококковой нуклеазы позволило получить доказательства участия НВЛ в обеспечении антиинфекционной защиты от чумной инфекции. Таким образом, установленный факт формирования НВЛ при заражении *Y. pestis* мышей, иммунизированных вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ, и влияния этого процесса на эффективность защиты от чумы является основанием для дальнейшего уточнения иммунопатогенетической роли нейтрофильных гранулоцитов при чуме.

Ключевые слова: чумная инфекция, вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV НИИЭГ, нейтрофильные внеклеточные ловушки, бактерицидность.

Корреспондирующий автор: Кравцов Александр Леонидович, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Кравцов А.Л., Гончарова А.Ю., Бугоркова С.А., Девдариани З.Л., Кожевников В.А. Формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек при моделировании чумной инфекции у мышей, иммунизированных *Yersinia pestis* EV НИИЭГ. Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 4:70–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-70-74

Поступила 24.04.19. Принята к публ. 12.11.19.

A.L. Kravtsov, A.Yu. Goncharova, S.A. Bugorkova, Z.L. Devdariani, V.A. Kozhevnikov

Formation of Neutrophil Extracellular Traps when Modeling Plague Infection in Mice Immunized with *Yersinia pestis* EV NIEG

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

Abstract. The purpose of the study was to determine the effect of *Yersinia pestis* EV NIEG on the process of neutrophil extracellular traps formation *in vivo* when modeling plague infection and assess their contribution to anti-plague protection. **Materials and methods.** BALB/c mice, which were immunized subcutaneously with the *Y. pestis* EV NIEG vaccine strain, were used in the study. Animals were infected with a virulent strain *Y. pestis* 231 at a dose of 20 LD₅₀ (10³ CFU). To evaluate the contribution of neutrophil extracellular traps (NETs) to antibacterial protection, an experimental model was used based on fermenting NETs in the abdominal cavity of mice with nuclease. To calculate the number of NETs in peritoneal exudate (PE) fluorescent microscopy was applied. Phagocytic activity of PE cells was determined by flow cytometry. Bactericidal effect of NETs was recorded using bacteriological method. **Results and discussion.** In pre-immunized mice, the process of NETs formation in response to the reintroduction of plague microbe living cells was 5 times more intense than in intact animals and was accompanied by a significant increase in the killing of *Y. pestis* cells in PE. The use of micrococcal nuclease in the experiment for fermentation of the NETs, produced in the body of immunized animals, provided evidence of NET participation in conferring anti-infective protection against plague infection. Thus, the established fact of the NET formation in case of *Y. pestis* infection of mice immunized with *Y. pestis* EV NIEG vaccine strain and the influence of this process on the effectiveness of protection against plague is the basis for further clarifying the immunopathogenetic role of neutrophil granulocytes in plague.

Key words: plague infection, vaccine strain *Yersinia pestis* EV NIEG, neutrophil extracellular traps, bactericidal activity.

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

Corresponding author: Alexander L. Kravtsov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Kravtsov A.L., Goncharova A.Yu., Bugorkova S.A., Devdariani Z.L., Kozhevnikov V.A. Formation of Neutrophil Extracellular Traps when Modeling Plague Infection in Mice Immunized with *Yersinia pestis* EV NIEG. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; 4:70–74. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-70-74

Received 24.04.19. Accepted 12.11.19.

Kravtsov A.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9016-6578>
Goncharova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9994-7936>

Bugorkova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>
Kozhevnikov V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7267-7027>

Проблема противоинфекционной защиты организма не теряет своей актуальности с момента открытия И.И. Мечниковым в 1883 г. явления фагоцитоза как основы клеточного иммунитета [1]. Нейтрофильные гранулоциты (НГ) в составе единой иммунофагоцитарной системы (моноцитарно-фагоцитарная система – МФС) организма играют решающую роль в иммунопатогенезе широкого спектра заболеваний [1, 2, 3]. НГ располагают целым арсеналом антимикробных стратегий, направленных на обезвреживание бактерий не только посредством фагоцитоза и экзоцитоза (дегрануляции нейтрофилов), но и за счет формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) [2, 4, 5]. Современные представления о НГ как уникальной мультифункциональной популяции клеток, способствующей полноценной реализации иммунного ответа [2], обуславливают интерес к детализации представлений об иммунопатогенетической роли этих клеток при чуме.

Формирование НВЛ – недавно открытый высокоэффективный противомикробный механизм НГ, в основе которого лежит способность активированных клеток секретировать во внеклеточное пространство ядерный хроматин, декорированный лейкоцитарными протеазами и бактерицидными катионными белками цитоплазматических гранул – «выброс» экстрацеллюлярных ДНК-сетей для связывания и киллинга патогенных микроорганизмов [2, 4, 6]. Этот альтернативный фагоцитозу феномен внеклеточной бактерицидности НГ реализуется при инфекциях, отличающихся генерализацией и незавершенностью фагоцитоза их возбудителей. Например, при псевдотуберкулезе, когда частичное или полное предвсестерильное обезвреживание клеток *Yersinia pseudotuberculosis* микробоцидными компонентами НГ стимулирует поглотительную и переваривающую функцию макрофагов [1]. При чуме альтернативный фагоцитозу механизм киллинга бактерий также функционирует [7], но остается нерешенным вопрос о его эффективности при этой инфекции. Процесс образования экстрацеллюлярных ДНК-сетей (нетоз) запускается комплексами антиген-антитело [8] и стимулируется цитокинами [9], активируется при агглютинации бактерий [10] и регистрируется при сепсисе, когда благодаря интенсивному формированию в крови НВЛ в 4–5 раз усиливается защитный бактерицидный эффект НГ *in vivo* [11]. Замечено, что интенсивное формирование НВЛ сопутствует более эффективному киллингу бактерий в толерантном к ЛПС (сенситизированном) организме с повышенной устойчивостью к инфекционному заражению [12]. Однако о вкладе НВЛ в поствакцинальную противочумную защиту нет информации.

Цель настоящей работы – определить влияние *Yersinia pestis* EV НИИЭГ на процесс формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек *in vivo* при моделировании чумной инфекции и оценить их вклад в противочумную защиту.

Материалы и методы

В работе использовали вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ и вирулентный штамм *Y. pestis* 231(708) основного подвида, полученные из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Культуры штаммов выращивали на агаре Хоттингера pH 7,2±0,1 (производство ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб») 48 ч при 28 °С. Из выросшей культуры по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-59-85П 10 единиц, эквивалентному 1·10⁹ м.к./мл, готовили взвесь чумного микроба в стерильном 0,9 % растворе натрия хлорида pH 7,2. Методом серийных разведений конечную концентрацию клеток доводили до необходимой. Эксперименты проводили на белых мышах линии BALB/c массой от (18,5±1,5) г. В работе использовали здоровое поголовье, полученное из питомника ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». До начала эксперимента мышей выдерживали на стандартном рационе с достаточным количеством воды в течение 10 дней. Дальнейшие эксперименты на животных выполняли в соответствии с Директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. № 2010/63/ЕС «О защите животных, используемых для научных целей».

Для изучения процесса формирования НВЛ у мышей на фоне иммунизации животным (18 особей) подкожно вводили вакцинный штамм *Y. pestis* EV НИИЭГ в дозе 2,5·10⁴ КОЕ, в качестве контроля использовали интактных мышей (18 особей). На 21-е сутки иммунизированным и интактным мышам инокулировали в брюшную полость по 5,0·10⁷ КОЕ *Y. pestis* EV НИИЭГ. Оценку формирования НВЛ *in vivo* проводили по методу V. Landoni *et al.* [12]. Для этого в группах иммунизированных и интактных животных выделяли по три подгруппы (по 6 особей в каждой). Мышам в первой подгруппе за 10 мин до внутрибрюшинной инъекции *Y. pestis* EV НИИЭГ вводили в брюшную полость стерильный раствор фосфатно-солевого буфера pH 7,2 (ФСБ) в объеме 0,2 мл; во второй подгруппе для разрушения экстрацеллюлярных ДНК-сетей в составе НВЛ аналогичным образом инокулировали микрококковую нуклеазу (МКН) (Thermo Scientific, Литва) в дозе 150U на мышь в 0,2 мл ФСБ; в третьей подгруппе для нейтрализации активности МКН в условиях *in vivo* 150U препарата МКН вводили совместно с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА) (Sigma-Aldrich, США) в дозе 10 мМ на животное. Через 4 ч умерщвляли мышей путем цервикальной дислокации. Фагоцитарную активность нейтрофилов в перитонеальном экссудате (ПЭ) определяли по методу Miliukienė *et al.* [13]. Для оценки эффективности киллинга бактерий в брюшной полости лабораторных животных по 1 мл перитонеального экссудата (ПЭ) высевали на агар Хоттингера pH 7,2. Посевы инкубировали 72 ч при температуре 28 °С и определяли число выросших колоний (КОЕ/мл). Для визуализации НВЛ по 1 капле ПЭ наносили

на стекла, обработанные поли-L-лизинном (Sigma, Япония), после высушивания капли стекла обеззараживали и фиксировали в 4 % водном растворе формальдегида («НеваРеагент», Россия) и окрашивали ДНК-связывающим флуоресцентным красителем – йодистым пропидием (Biomedicals LLC, Германия) из расчета 50 мкг на 1 мл ФСБ. С помощью люминесцентного микроскопа AXIO LAB.A1 (Zeiss, Швейцария) при увеличении в 1000 раз определяли в препаратах НВЛ, из числа выявленных в 10 полях зрения нейтрофилов высчитывали долю клеток, образовавших НВЛ.

С помощью проточной цитофлуориметрии по параметрам светорассеяния регистрировали изменения в клеточном составе ПЭ, а также оценивали интенсивность дегрануляции и лизиса фагоцитов [4], используя лазерный проточный цитофлуориметр с двумя источниками излучения (488 и 635 нм), двумя каналами светорассеяния (прямое и боковое) и семью каналами флуоресценции.

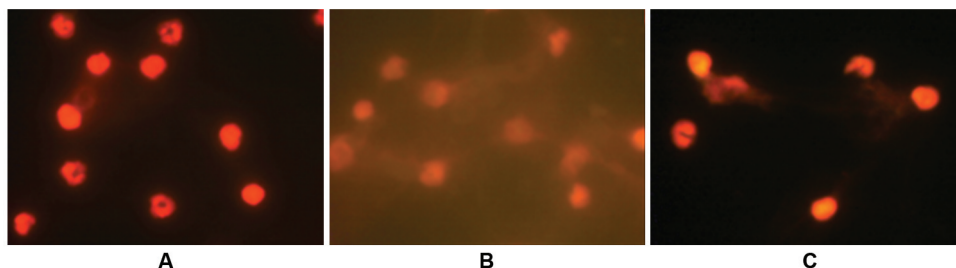
В следующем эксперименте животных опытной группы (20 особей) весом $(18,5 \pm 1,5)$ г подкожно иммунизировали двухсуточной агаровой культурой вакцинного штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ в дозе $1,0 \cdot 10^5$ КОЕ. В качестве контроля были взяты интактные мыши (10 особей). На 21-е сутки иммуногенеза мышам опытной и контрольной групп внутрибрюшинно вводили $1,0 \cdot 10^3$ КОЕ (20 LD₅₀) вирулентного штамма *Y. pestis* 231. Части животных опытной группы (10 мышей) за 10 мин до заражения в брюшную полость вводили по 150U микрококковой нуклеазы (МКН) (Thermo Scientific, Литва) в 0,2 мл фосфатно-солевого буфера pH 7,2 (ФСБ), применяемую для инактивации НВЛ *in vivo* [12]. Остальным мышам опытной группы аналогичным образом вводили ФСБ без нуклеазы. За зараженными животными наблюдали в течение 20 суток, регистрируя гибель мышей с типичными проявлениями чумной инфекции.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 10.0 (StatSoft Inc.). Достоверность различий показателей в исследуемых группах оценивали по t-критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Известно, что основными клеточными элементами в перитонеальном выпоте мышей BALB/c в норме являются лимфоциты (около 70 %), а доля фагоцитов (перитонеальных макрофагов) в суммарной клеточной популяции не превышает 30 % [12]. При изучении процесса формирования НВЛ у мышей на фоне иммунизации *Y. pestis* EV НИИЭГ установлено, что до внутрибрюшинного введения животным клеток чумного микроба, как в опытной, так и в контрольной группах, в составе ПЭ НГ фактически отсутствовали. Через 4 ч после введения в брюшную полость живых клеток чумного микроба клеточный состав ПЭ существенно изменялся: доля фагоцитов увеличивалась до 60–70 % и основными клетками в нем были уже не макрофаги, а НГ. Достоверных различий в фагоцитарной активности клеток ПЭ интактных и предварительно иммунизированных животных по отношению к клеткам *Y. pestis* через 4 ч в условиях *in vivo* не регистрировали. Однако НГ, осуществляющие киллинг микробных клеток в ПЭ предварительно иммунизированных мышей, были в состоянии более выраженной дегрануляции и подвергались более интенсивному аутолизису (нетозу). По данным люминесцентной микроскопии (рисунков), НГ у предварительно иммунизированных животных в большем количестве секретируют НВЛ в экстрацеллюлярное пространство.

Как следует из табл. 1, в опытной группе в образцах ПЭ, полученных от предварительно иммунизированных животных, интенсивность формирования НВЛ была в 5 раз выше, чем у интактных мышей. Однако такого интенсивного формирования НВЛ в ПЭ предварительно иммунизированных животных не наблюдали, если за 10 минут до инокуляции бактерий *Y. pestis* в брюшную полость мышам вводили МКН. Это обусловлено способностью МКН расщеплять ДНК-сети НВЛ. В случаях, когда МКН вводили совместно с ЭДТА, нейтрализующей эффект фермента, НВЛ только частично расщеплялись ферментом. Эффективность киллинга чумного микроба в организме предварительно иммунизированных животных была в 10 раз выше, чем в организме интактных мышей. Но на фоне введения в брюшную



Формирование нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) в перитонеальном экссудате интактных (А), подкожно иммунизированных *Y. pestis* EV НИИЭГ (В, С) мышей линии BALB/c на введение в брюшную полость $5,0 \cdot 10^7$ КОЕ *Y. pestis* вакцинного штамма; С – на фоне блокировки образования НВЛ микрококковой нуклеазой (МКН) до повторной инокуляции *Y. pestis* EV НИИЭГ. Люминесцентная микроскопия. Ок. $\times 10$, Об. $\times 100$

Formation of neutrophil extracellular traps (NETs) in peritoneal exudate of intact (A), subcutaneously immunized with *Y. pestis* EV NIEG BALB/c mice (B, C) in response to administration of $5,0 \cdot 10^7$ CFU of *Y. pestis* vaccine strain; C – against the background of NET formation blocking by microcococcus nuclease (MCN) before re-inoculation with *Y. pestis* EV NIEG. Luminescence microscopy. Ocular lens $\times 10$, objective lens $\times 100$

Таблица 1 / Table 1

Результаты оценки формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) и эффективности киллинга клеток *Y. pestis* в перитонеальном экссудате (ПЭ) мышей линии BALB/c

Results of assessment of neutrophilic extracellular trap formation (NET) and effectiveness of *Y. pestis* cell killing in peritoneal exudates (PE) of BALB/c mice

Группы животных Groups of animals	Обработка животных на 21-е сутки Treatment of animals on Day 21	Количество НВЛ, % The number of NET, %	Количество КОЕ/мл ПЭ The number of CFU/ml of PE
Мыши, иммунизированные <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ в дозе $2,5 \cdot 10^4$ КОЕ, n=18 Mice immunized with <i>Y. pestis</i> EV NIEG at a dose of $2.5 \cdot 10^4$ CFU, n=18	ФСБ + <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ Phosphate-buffer saline + <i>Y. pestis</i> EV NIEG	41,5±2,3*	106,0±3,3*
	МКН + <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ MCN + <i>Y. pestis</i> EV NIEG	11,4±1,6	1442,0±21,0
	МКН + ЭДТА + <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ MCN + EDTA + <i>Y. pestis</i> EV NIEG	26,4±2,0*	340,0±18,0*
Интактные животные (контроль), n=18 Intact animals (control), n=18	ФСБ + <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ Phosphate-buffer saline + <i>Y. pestis</i> EV NIEG	8,3±0,9	1130,0±23,0
	МКН + <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ MCN + <i>Y. pestis</i> EV NIEG	5,9±0,7	1675,0±110,0
	МКН + ЭДТА + <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ MCN + EDTA + <i>Y. pestis</i> EV NIEG	6,4±1,0	1080,0±65,0

Примечание: МКН – микрококковая нуклеаза; * – $p < 0,05$ достоверные различия по отношению к контролю.

Note: MCN – micrococcus nuclease; * – $p < 0,05$ statistically significant differences in relation to the control.

полость МКН перед инокуляцией *Y. pestis* этот показатель также снижался, причем МКН оказывала существенное влияние на процесс образования НВЛ и киллинг чумного микроба только в организме предварительно иммунизированных животных.

Установлено, что иммунизация *Y. pestis* EV НИИЭГ стимулировала интенсивное формирование НВЛ в ответ на повторную инокуляцию живых клеток чумного микроба и существенно повышала эффективность их киллинга в условиях *in vivo*. Причина более интенсивной функциональной активации НГ у предварительно иммунизированных мышей, вероятно, обусловлена праймингом этих клеток медиаторами клеточного ответа (ЛПС, цитокины), вырабатываемыми в процессе иммуногенеза [9, 12]. Кроме того, присутствующие в иммунном организме специфические IgG к поверхностным антигенам чумного микроба не могут не стимулировать нетоз, который является антителозависимым процессом и запускается иммунными комплексами антиген-антитело через Fc-рецепторы на клеточной поверхности НГ [2, 8],

а также через рецептор, который, являясь сенсором размера микроорганизмов (дектин-1), реагирует на агрегацию бактерий [10].

Для подтверждения зависимости эффективности поствакцинальной противочумной защиты от формирования в организме НВЛ животных, предварительно иммунизированных *Y. pestis* EV НИИЭГ, на пике иммуногенеза (21-е сутки) заражали высоковирулентным штаммом *Y. pestis* 231. Согласно данным, представленным в табл. 2, иммунизация мышей оказывала существенное влияние на эффективность защиты животных от чумной инфекции, но заражение *Y. pestis* 231 на фоне предварительной инокуляции в брюшную полость МКН, расщепляющей НВЛ, как значимо уменьшало количество выживших животных, так и в 2 раза сокращало среднюю продолжительность жизни погибших мышей. Выявленные особенности реакции иммунизированных мышей на заражение вирулентной культурой *Y. pestis* 231 являются доказательством вклада НВЛ в обеспечение антиинфекционной защиты при чуме.

Таблица 2 / Table 2

Характеристика влияния инактивации формирования нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) *in vivo* на выживаемость зараженных культурой вирулентного штамма *Y. pestis* 231 мышей линии BALB/c

Characteristics of effect of neutrophilic extracellular trap formation inactivation *in vivo* on survivability of BALB/c mice infected with the culture of virulent *Y. pestis* 231 strain

Группы животных Groups of animals	Обработка мышей на 21-е сутки Treatment of animals on Day 21	Количество животных (павшие/общее) Numbers of animals (non-surviving/total)	Средняя продолжительность жизни павших животных (сутки), M±m Average life span of non-surviving animals (Days), M±m
Иммунизированные животные (<i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ в дозе $1,0 \cdot 10^5$ КОЕ), n=20 Immunized animals (<i>Y. pestis</i> EV NIEG at a dose of $1.0 \cdot 10^5$ CFU), n=20	ФСБ + <i>Y. pestis</i> 231, 20 LD ₅₀ Phosphate-buffer saline + <i>Y. pestis</i> 231, 20 LD ₅₀	2/10	7,5±2,1
	МКН + <i>Y. pestis</i> 231, 20 LD ₅₀ MCN + <i>Y. pestis</i> 231, 20 LD ₅₀	8/10	3,9±0,2
Интактные животные (контроль), n=10 Intact animals (control), n=10	ФСБ + <i>Y. pestis</i> 231, 20 LD ₅₀ Phosphate-buffer saline + <i>Y. pestis</i> 231, 20 LD ₅₀	10/10	4,0±0,0

На основании данных литературы [2, 5] и результатов представленного исследования можно предположить, что одним из ключевых механизмов первого этапа межклеточного взаимодействия при попадании возбудителя чумы в организм, защищенный противочумной вакциной, является усиление поглотительной и переваривающей способности макрофагов, стимулированных микробицидными компонентами НГ, образующимися в процессе реализации феномена их внеклеточной бактерицидности.

Изучение антимикробных стратегий НГ открывает новые возможности в аспекте поиска и оценки средств модуляции функциональной активности этих клеток для борьбы с чумной инфекцией. На основании полученных в работе экспериментальных данных можно сделать вывод о связи эффективности противочумной защиты, в том числе и с формированием и функционированием НВЛ в организме иммунизированных животных в ответ на повторный контакт с *Y. pestis*.

Таким образом, установленный факт формирования НВЛ при заражении *Y. pestis* мышей, иммунизированных вакцинным штаммом *Y. pestis* EV НИИЭГ, и влияния этого процесса на эффективность защиты от чумы является основанием для дальнейшего уточнения иммунопатогенетической роли НГ при чуме.

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

Список литературы

1. Исачкова Л.М., Плехова Н.Г. К развитию представлений об антиинфекционной резистентности. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2002; 1:11–5.
2. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А., Ломтатидзе Л.В., Ковалева С.В., Евлевский А.А. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле. *Иммунология*. 2015; 4:257–265.
3. Mayadas T.N., Cullere X., Lowell C.A. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev. Pathol.* 2014; 9:181–218. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023.
4. Кравцов А.Л. Роль нейтрофильных внеклеточных ловушек при особо опасных бактериальных инфекциях. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; 4:95–104. DOI: 10.36233/0372-9311-2016-4-95-104.
5. Матосова Е.В., Андриков Б.Г. Морфофункциональная характеристика защитных механизмов нейтрофилов при бактериальных инфекциях и их вклад в патогенез провоспалительных реакций. *Российский иммунологический журнал*. 2018; 21(1):17–27. DOI: 10.7868/81028722118010021.
5. Долгушин И.И., Савочкина А.Ю., Курносенко И.В., Долгушина В.Д., Савельева А.А., Самусева И.В., Маякова В.Б. Участие внеклеточных ДНК-ловушек в защитных и патологических реакциях организма. *Российский иммунологический журнал*. 2015; 9(2):164–70.
7. Eisele N.A., Lee-Lewis H., Besch-Williford C., Brown C.R., Anderson D.M. Chemokine receptor CXCR2 mediates bacterial clearance rather than neutrophil recruitment in a murine model of pneumonic plague. *Am. J. Pathol.* 2011; 178(3):1190–200. DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.11.067.
8. Aleman O.R., Mora N., Cortes-Vieyra R., Uribe-Querol E., Rosales C. Differential use of human neutrophil Fcγ receptors for inducing neutrophil extracellular traps formation. *J. Immunology Research*. 2016; 2016:2908034. DOI: 10.1155/2016/2908034.
9. Martinelli S., Urosevic M., Daryadel A., Oberholzer P.A., Baumann C., Fey M.F., Dummer R., Simon H.-U., Yousefi S. Induction of genes mediating interferon-dependent extracellular trap formation during neutrophil differentiation. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(42):44123–32. DOI: 10.1074/jbc.M405883200.
10. Branzk N., Lubojemska A., Hardison S.E., Wang Q., Gutierrez M.G., Brown G.D., Papayannopoulos V. Neutrophil sense microbial size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens. *Nat. Immunol.* 2014; 15(11):1017–25. DOI: 10.1038/ni.2987.
11. McDonald B., Urrutia R., Yipp B.G., Jenne C.N., Kubes P. Intravascular neutrophil extracellular traps capture bacteria from bloodstream during sepsis. *Cell Host Microbe*. 2012; 12(3):324–33. DOI: 10.1016/j.chom.2012.06.011.
12. Landoni V.I., Chiarella P., Martire-Greco D., Schierloh P., van-Rooijen N., Rearte B., Palermo M.S., Isturiz M.A., Fernandez G.C. Tolerance to lipopolysaccharide promotes an enhanced neutrophil extracellular traps formation leading to a more efficient bacterial clearance in mice. *Clin. Exp. Immunol.* 2012; 168(1):153–63. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2012.04560.x.
13. Miliukienė V., Siaurys A., Pilinkienė A., Chaustova L. Flow cytometry measurement of *Saccharomyces cerevisiae* phagocytosis by neutrophils in mouse blood. *Biologiya*. 2005; 3:69–73.

response to large pathogens. *Nat. Immunol.* 2014; 15(11):1017–25. DOI: 10.1038/ni.2987.

11. McDonald B., Urrutia R., Yipp B.G., Jenne C.N., Kubes P. Intravascular neutrophil extracellular traps capture bacteria from bloodstream during sepsis. *Cell Host Microbe*. 2012; 12(3):324–33. DOI: 10.1016/j.chom.2012.06.011.

12. Landoni V.I., Chiarella P., Martire-Greco D., Schierloh P., van-Rooijen N., Rearte B., Palermo M.S., Isturiz M.A., Fernandez G.C. Tolerance to lipopolysaccharide promotes an enhanced neutrophil extracellular traps formation leading to a more efficient bacterial clearance in mice. *Clin. Exp. Immunol.* 2012; 168(1):153–63. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2012.04560.x.

13. Miliukienė V., Siaurys A., Pilinkienė A., Chaustova L. Flow cytometry measurement of *Saccharomyces cerevisiae* phagocytosis by neutrophils in mouse blood. *Biologiya*. 2005; 3:69–73.

References

1. Isachkova L.M., Plekhova N.G. [To the development of ideas about anti-infective resistance]. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2002; 1:11–5.
2. Nesterova I.V., Kolesnikova N.V., Chudilova G.A., Lomtadidze L.V., Kovaleva S.V., Evlevsky A.A. [Neutrophilic granulocytes: a new look at “old players” on the immunological field]. *Immunologiya [Immunology]*. 2015; 4:257–65.
3. Mayadas T.N., Cullere X., Lowell C.A. The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev. Pathol.* 2014; 9:181–218. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023.
4. Kravtsov A.L. [Role of neutrophil extracellular traps in especially dangerous bacterial infections]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]* 2016; 4:95–104. DOI: 10.36233/0372-9311-2016-4-95-104.
5. Matosova E.V., Andryukov B.G. [Morphofunctional characteristics of the protective mechanisms of neutrophils against bacterial infections and their contribution in the pathogenesis of pro-inflammatory reactions]. *Rossiyskiy Immunologicheskyy Zhurnal [Russian Immunological Journal]*. 2018; 21(1):17–27. DOI: 10.7868/81028722118010021.
6. Dolgushin I.I., Savochkina A.U., Kurnosenko I.V., Dolgushina V.F., Saveleva A.A., Samuseva I.V., Majakova V.B. [Participation of extracellular DNA traps in protection and pathological reactions of the organism]. *Rossiyskiy Immunologicheskyy Zhurnal [Russian Immunological Journal]*. 2015; 9(2):164–70.
7. Eisele N.A., Lee-Lewis H., Besch-Williford C., Brown C.R., Anderson D.M. Chemokine receptor CXCR2 mediates bacterial clearance rather than neutrophil recruitment in a murine model of pneumonic plague. *Am. J. Pathol.* 2011; 178(3):1190–200. DOI: 10.1016/j.ajpath.2010.11.067.
8. Aleman O.R., Mora N., Cortes-Vieyra R., Uribe-Querol E., Rosales C. Differential use of human neutrophil Fcγ receptors for inducing neutrophil extracellular traps formation. *J. Immunology Research*. 2016; 2016:2908034. DOI: 10.1155/2016/2908034.
9. Martinelli S., Urosevic M., Daryadel A., Oberholzer P.A., Baumann C., Fey M.F., Dummer R., Simon H.-U., Yousefi S. Induction of genes mediating interferon-dependent extracellular trap formation during neutrophil differentiation. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(42):44123–32. DOI: 10.1074/jbc.M405883200.
10. Branzk N., Lubojemska A., Hardison S.E., Wang Q., Gutierrez M.G., Brown G.D., Papayannopoulos V. Neutrophil sense microbial size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens. *Nat. Immunol.* 2014; 15(11):1017–25. DOI: 10.1038/ni.2987.
11. McDonald B., Urrutia R., Yipp B.G., Jenne C.N., Kubes P. Intravascular neutrophil extracellular traps capture bacteria from bloodstream during sepsis. *Cell Host Microbe*. 2012; 12(3):324–33. DOI: 10.1016/j.chom.2012.06.011.
12. Landoni V.I., Chiarella P., Martire-Greco D., Schierloh P., van-Rooijen N., Rearte B., Palermo M.S., Isturiz M.A., Fernandez G.C. Tolerance to lipopolysaccharide promotes an enhanced neutrophil extracellular traps formation leading to a more efficient bacterial clearance in mice. *Clin. Exp. Immunol.* 2012; 168(1):153–63. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2012.04560.x.
13. Miliukienė V., Siaurys A., Pilinkienė A., Chaustova L. Flow cytometry measurement of *Saccharomyces cerevisiae* phagocytosis by neutrophils in mouse blood. *Biologiya*. 2005; 3:69–73.

Authors:

Kravtsov A.L., Goncharova A.Yu., Bugorkova S.A., Devdariani Z.L., Kozhevnikov V.A. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-75-80

УДК 616.91

О.В. Малецкая¹, Т.В. Таран¹, Д.А. Прислегина¹, В.М. Дубянский¹, А.С. Волынкина¹, О.В. Семенко¹,
Н.Ф. Василенко¹, М.А. Тарасов², Н.В. Цапко¹

ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫЕ ВИРУСНЫЕ ЛИХОРАДКИ НА ЮГЕ ЕВРОПЕЙСКОЙ ЧАСТИ РОССИИ. КРЫМСКАЯ ГЕМОРРАГИЧЕСКАЯ ЛИХОРАДКА

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

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области», Саратов, Российская Федерация

Цель исследования – определение современных эпидемиологических особенностей Крымской геморрагической лихорадки на юге Российской Федерации. **Материалы и методы.** Карты эпидобследования очага инфекционного заболевания, ежегодные итоговые донесения (2010–2019 гг.), сведения об эпизоотологическом мониторинге, предоставленные управлениями Роспотребнадзора и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Южного и Северо-Кавказского федеральных округов. Использовали описательные, генетические, аналитические методы и ретроспективный эпидемиологический анализ. **Результаты и обсуждение.** Природный очаг Крымской геморрагической лихорадки на территории европейского юга России имеет площадь 815 тыс. км² и характеризуется стойкостью, расширением территории, циркуляцией европейских генотипов вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки. Генетические варианты вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки образуют локальные, частично перекрывающиеся популяции. В 2010–2019 гг. зарегистрировано 997 случаев Крымской геморрагической лихорадки. Клинически преобладали среднетяжелые формы болезни (74,2 %). Геморрагические проявления были у 29,3 % больных. Летальный исход заболевания зарегистрирован у 31 больного (3 %). Отмечено 2 эпизода нозокомиального заражения, инфицировано 9 медицинских специалистов. Увеличение эпизоотически активной территории природного очага Крымской геморрагической лихорадки связано с расширением ареала клещей *Hyalomma marginatum* в северном направлении в связи с аридизацией территории степей, отчасти за счет глобального изменения климата. Отмечена стабильность популяции вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки. Эпидемическое ядро природного очага сохраняется на смежной территории Ростовской области, Ставропольского края и Республики Калмыкия. Более высокая эффективность мер профилактики Крымской геморрагической лихорадки на территории ядра обусловлена целенаправленностью и интенсивностью мероприятий, что способствовало раннему обращению больных за медицинской помощью, ранней госпитализации и повлияло на развитие клинических проявлений и исход болезни, а также позволило минимизировать число внутрибольничных заражений вирусом Крымской-Конго геморрагической лихорадки, в том числе медицинского персонала.

Ключевые слова: Крымская геморрагическая лихорадка, природный очаг, эпидемическая ситуация, эпидемиологический и эпизоотологический надзор, вирус Крымской-Конго геморрагической лихорадки.

Корреспондирующий автор: Малецкая Ольга Викторовна, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Для цитирования: Малецкая О.В., Таран Т.В., Прислегина Д.А., Дубянский В.М., Волынкина А.С., Семенко О.В., Василенко Н.Ф., Тарасов М.А., Цапко Н.В. Природно-очаговые вирусные лихорадки на юге европейской части России. Крымская геморрагическая лихорадка. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:75–80. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-75-80

Поступила 23.09.20. Принята к публ. 09.11.20.

O.V. Maletskaya¹, T.V. Taran¹, D.A. Prislegina¹, V.M. Dubyansky¹, A.S. Volynkina¹, O.V. Semenko¹,
N.F. Vasilenko¹, M.A. Tarasov², N.V. Tsapko¹

Natural-Focal Viral Fevers in the South of the European Part of Russia. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever

¹Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation;

²Center of Hygiene and Epidemiology of the Saratov Region, Saratov, Russian Federation

Abstract. Objective of the study was to determine the modern epidemiological peculiarities of Crimean-Congo hemorrhagic fever in the south of the Russian Federation. **Materials and methods.** Data of statistical documentation (epidemiological survey of the infectious disease focus, annual summary reports dated 2010–2019) and epizootologic monitoring data submitted by the Rospotrebnadzor Administrations and the Centers of Hygiene and Epidemiology in the constituent entities of the Southern and the North Caucasian Federal Districts were used. Descriptive, genetic, analytical methods and retrospective epidemiological analysis were applied. **Results and discussion.** The CCHF natural focus in the European south of Russia has an area of 815 thousand square kilometers and it is characterized by persistence, expansion of the territory, and circulation of CCHF virus European genotypes. CCHF virus genetic variants form the local overlapping populations. Over the period of 2010–2019 997 CCHF cases were registered. Moderate forms of the disease clinically prevailed (74.2 per cent). Hemorrhagic symptoms were noted in 29.3 % of patients. The lethal outcome of the disease was registered in 31 CCHF patients (3 %). Two cases of nosocomial infection were identified, nine health workers were infected by CCHF pathogen. The expansion of epizootically active territory of the CCHF natural focus is associated with the expansion of the *Hyalomma marginatum* ticks area northward due to the aridization of the steppes, in part because of global climate change. The stability of the CCHF virus population was noted. The epidemic core of the CCHF natural focus remains on the adjacent territory of the Rostov Region, Stavropol Territory and the Republic of

Kalmykia. The higher efficiency of CCHF prevention measures on the territory of the core is stemming from the targetness and intensity of measures, contributing to the early seeking of medical care by patients, their early hospitalization which in its turn influenced the development of clinical manifestations and outcome of the disease, and also made it possible to minimize the CCHF nosocomial infections number, including those among the medical personnel.

Key words: Crimean-Congo hemorrhagic fever, natural focus, epidemic situation, epidemiological and epizootic surveillance, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus.

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

Corresponding author: Olga V. Maletskaya, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Citation: Maletskaya O.V., Taran T.V., Prislegina D.A., Dubyansky V.M., Volynkina A.S., Semenko O.V., Vasilenko N.F., Tarasov M.A., Tsapko N.V. Natural-Focal Viral Fevers in the South of the European Part of Russia. Crimean-Congo Hemorrhagic Fever. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections], 2020; 4:75–80. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-75-80

Received 23.09.20. Accepted 09.11.20.

Maletskaya O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3003-4952>

Prislegina D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9522-129X>

Dubyansky V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3817-2513>

Volynkina A.S., ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5554-5882>

Vasilenko N.F., ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7054-1302>

Tsapko N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5771-2808>

В Российской Федерации Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) регистрируется с 1944 г., когда в степных районах Крыма было выявлено свыше 200 случаев тяжелого острого лихорадочного заболевания с резко выраженными геморрагическими проявлениями [1, 2], а с 1948 г. случаи заболевания людей КГЛ начали регистрировать в других областях юго-западного региона России – в Краснодарском (1948 г.), Ставропольском (1953 г.) краях, в Астраханской (1953 г.) и Ростовской (1963 г.) областях. С 1973 г. наблюдались редкие спорадические случаи КГЛ, а в 1999 г. природный очаг КГЛ на юге страны вновь активизировался: в Ставропольском крае, Ростовской и Астраханской областях было выявлено 38 больных при летальности 23,7 %. В дальнейшем ежегодно увеличивалось количество случаев КГЛ и наблюдалось расширение эпидемически и эпизоотически активной территории. Пик заболеваемости отмечен в 2007 г., когда было зарегистрировано 233 больных КГЛ в 7 субъектах юга европейской части России.

Цель исследования – определение современных эпидемиологических особенностей КГЛ на юге Российской Федерации.

Материалы и методы

При выполнении работы использован метод эпидемиологического анализа, состоящий из трех этапов (сбор данных, описательный этап, аналитический этап). Для проведения анализа заболеваемости использовали сведения из карт эпидемиологического обследования очага инфекционного заболевания (Ф. № 357/у), еженедельные и ежегодные итоговые донесения по заболеваемости КГЛ управлений Роспотребнадзора, предоставленные Референс-центру по мониторингу за возбудителем КГЛ Роспотребнадзора. Лабораторное исследование полевого материала (суспензии иксодовых клещей, мозга и печени мелких млекопитающих и птиц) осуществляли методами ПЦР и ИФА с использованием наборов реагентов «АмплиСенс® CCHFV-FL» для

выявления РНК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) и «ВекторКрым-КГЛ-антиген» («Вектор Бест», Новосибирск, Россия). Исследование генетического разнообразия вариантов вируса ККГЛ, циркулирующих на юге европейской части России, проводили на основе анализа нуклеотидной последовательности фрагментов S, M и L сегментов генома вируса, размером 538 п.н., 435 п.н. и 437 п.н. соответственно. Анализ уровня генетического родства и построение филогенетических деревьев проводили в программе Mega 5.05 с использованием метода Neighbor joining, по модели Kimura 2-parameter.

Результаты и обсуждение

Эколого-географическая характеристика очага КГЛ. Природный очаг КГЛ занимает обширную территорию полупустынной и степной зоны юга европейской части Российской Федерации. По данным нашего мониторинга, общая площадь очага к 2019 г. составила порядка 815 тыс. км². Граница очага на севере проходит в пределах северных районов Краснодарского края и Ростовской области, а также южных районов Волгоградской и Астраханской областей. На юге она не выходит за пределы Ставропольского края, Кабардино-Балкарской, Карачаево-Черкесской республик, а также республик Дагестан и Ингушетия (рис. 1).

Роль основного резервуара и переносчика вируса ККГЛ выполняют иксодовые клещи *Hyalomma marginatum*. Кроме того, маркеры вируса выявлены у клещей других видов: *H. scupense*, *Rhipicephalus rossicus*, в меньшем количестве – у *H. anatolicum*, *R. turanicus*, *R. bursa*, *R. sanguineus*, *R. pumilio*, *R. annulatus*, *Dermacentor marginatus*, *D. niveus*, *Haemaphysalis punctata*, *Haem. parva*, *Ixodes ricinus*. Среди диких млекопитающих вирусоносительство доказано только для зайца-русака *Lepus europaeus*. Антитела к вирусу выявлены у более широкого круга млекопитающих: заяц-русак *Lepus europaeus*, ушастый еж *Hemiechinus auritus*, южный еж *Erinaceus*

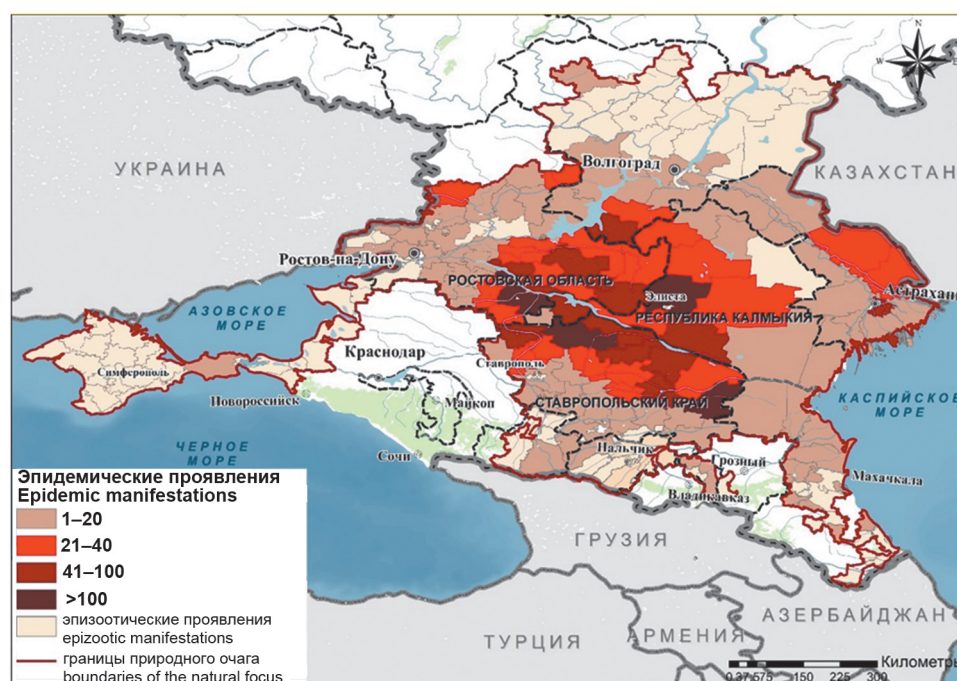


Рис. 1. Природный очаг КГЛ в Российской Федерации (по данным на 2019 г.)

Fig. 1. CCHF natural focus in the Russian Federation (according to the data from 2019)

roumanicus, малая белозубка *Crocidura suaveolens*, лесная мышь *Sylviaemus sp.*, обыкновенная полевка *Microtus arvalis*. Среди птиц антиген вируса выявлен только у грача (*Corvus frugilegus*). При исследовании птиц антитела к вирусу ККГЛ не выявлены [3].

Генетическое исследование вируса ККГЛ

Наши исследования показали, что в популяции вируса ККГЛ на юге европейской части России преобладают штаммы генотипа «Европа-1» (V). В пределах генотипа «Европа-1» (V) штаммы и РНК-изоляты вируса формируют 4 генетические подгруппы: «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1» (Va), «Волгоград-Ростов-Ставрополь» (Vb), «Астрахань-2» (Vc) и «Крым» (Vd). Выявлены реассортантные варианты вируса ККГЛ в пределах генотипа «Европа-1». Генетические варианты вируса ККГЛ образуют локальные, частично перекрывающиеся популяции. В северной части природного очага КГЛ преобладает генетический вариант «Волгоград-Ростов-Ставрополь» (Vb-Vb-Vb) генотипа «Европа-1», в южной части – генетический вариант «Ставрополь-Ростов-Астрахань» (Va-Va-Va) генотипа «Европа-1». Изоляты вируса ККГЛ, принадлежащие к генетической линии «Европа-3» (VII), циркулируют на территории Республики Калмыкия и Ставропольского края [4]. В 2013 г. в пробе клинического материала от больной КГЛ, постоянно проживающей в Ставропольском крае и длительное время не покидавшей своего места жительства, мы выделили изолят вируса ККГЛ генотипа «Африка-3» (III), что свидетельствует о возможном заносе вируса с удаленных территорий.

Эпидемические проявления, динамика и сезонность заболеваемости КГЛ. Эпидемическое распространение этой болезни совпадает с ареалом клещей *H. marginatum* в южном регионе страны [3, 5]. Ежегодно отмечается расширение ареала *H. marginatum* с вовлечением в эпидемический процесс новых

административных районов и четко прослеживается выраженная тенденция смещения его границ в северном направлении. Так, в Ростовской области установлено северное смещение границы распространения клещей *H. marginatum* на 45 км (с 49°26' с. ш. в 2003 г. до 49°52' с. ш. в 2010 г.) [6] с выявлением больных КГЛ в административных районах, где ранее случаи заболевания не регистрировались. Стойкие эпидемические проявления КГЛ в настоящее время отмечаются в 6 субъектах юга европейской части России: Ростовской области, Ставропольском крае, Республике Калмыкия, Астраханской и Волгоградской областях и Республике Дагестан (рис. 2). Следует отметить, что местные случаи инфицирования вирусом ККГЛ и тяжелые случаи заболевания людей с летальностью от 75 до 100 % регистрировались в Республике Ингушетия в 2004 (4 случая / 3 из них летальные), 2007 (1/1) и в 2008 (1/1) годах. В Крыму, где вспышка 1944 г. положила начало изучению этой болезни и дала ей официальное название, после многолетнего перерыва случаи заражения вирусом ККГЛ туристов выявлены в 2013 и 2015 гг., а в 2017 г. зарегистрирован случай заболевания в среднетяжелой клинической форме местного жителя Ленинского района Республики Крым.

Территорию очага мы условно разделили на «ядро» и «зону периодических проявлений инфекции». Под ядром очага подразумевается территория с наиболее длительными исторически и одновременно наиболее интенсивными эпидемическими проявлениями КГЛ. Эпидемическое ядро природного очага, как и в предыдущие годы с начала его активизации в 1999 г., в настоящее время сохраняется на смежной территории трех субъектов юга России: Ростовской области, Ставропольского края и Республики Калмыкия. В зону периодических проявлений инфекции входит периферийная часть очага.

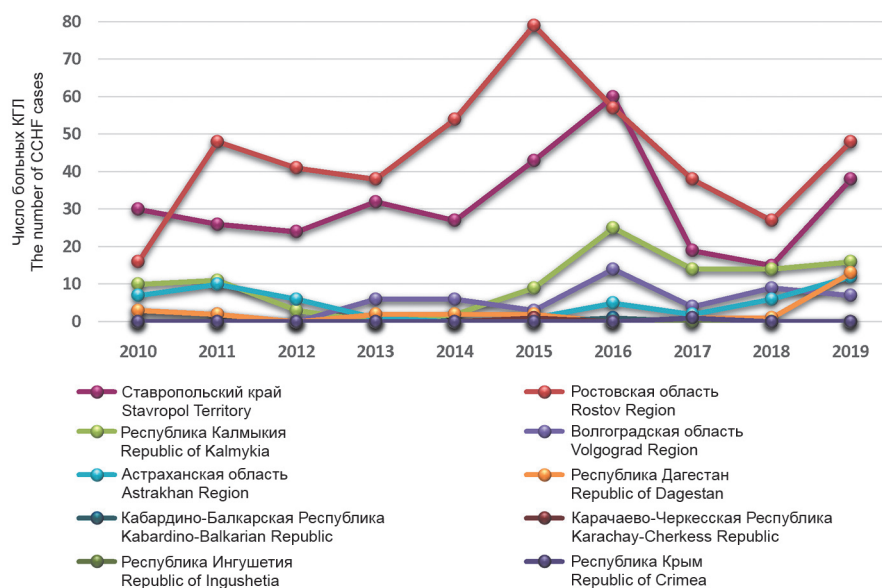


Рис. 2. Динамика заболеваемости КГЛ в Российской Федерации (2010–2019 гг.)

Fig. 2. Dynamics of CCHF incidence in the Russian Federation (2010–2019)

Эпидемиологический анализ показал, что гендерное и возрастное различие в уровне заболеваемости определяется лишь степенью занятости людей в животноводческом производстве. Чаще болели мужчины (73,4 %) трудоспособного возраста от 30 до 60 лет (65,5 % в период 2010–2019 гг.). Инфицирование людей вирусом ККГЛ в России происходит преимущественно при укусе их зараженными клещами или при раздавливании клеща незащищенными руками. Так, в период 2010–2019 гг. в 73,9 % случаев заражение людей происходило при контакте с клещами (укус клещом, снятие клеща, его раздавливание, напозвание клеща) в условиях хозяйственной деятельности. Случаи заражения, при которых контакт с клещом не документирован, делятся следующим образом: 9,0 % – при уходе за сельскохозяйственными и домашними животными; 6,4 % – при нахождении в природном биотопе (полевые работы или отдых); 9,1 % – фактор риска не установлен. В анализируемый период выявлен только один случай инфицирования при убое скота. В отдельных случаях заражение вирусом ККГЛ происходило при прямом контакте с больным, минуя переносчика, – 1,6 % заразились при контакте с больными КГЛ.

Годовая динамика заболеваемости КГЛ в период 2010–2019 гг. типична на всей территории природного очага: КГЛ регистрируется с апреля по сентябрь с максимумом заболеваний в конце мая – июне. Самый поздний случай заболевания отмечен в ноябре 2017 г. в Ростовской области (0,1 %).

В период 2010–2019 гг. зарегистрировано 997 случаев КГЛ, из них в зоне ядра – 864 (86,7 %). Эпидемиологическая характеристика ситуации на различных участках природного очага КГЛ в Российской Федерации – на территории наиболее интенсивных эпидемических проявлений (ядра) и в зоне периодических проявлений инфекции – имеет некоторые различия.

В целом в клиническом течении преобладали среднетяжелые формы болезни, при которых отме-

чались необильные носовые кровотечения (74,2 %). При этом легкую клиническую форму выявляли только на территориях с высоким уровнем общей заболеваемости (ядра), преимущественно в Ставропольском крае и в Ростовской области (3,5 и 2,5 % от общего числа случаев заболевания, зарегистрированных в субъекте в 2010–2019 гг.). У 23,5 % больных КГЛ наблюдались тяжелые формы болезни, которые сопровождались обильными полостными кровотечениями и другими осложнениями. Геморрагические проявления в период 2010–2019 гг. были у 29,3 % больных: на территории ядра – у 27,8 %, вне ядра – у 39,4 % больных. В период 2004–2009 гг. (имеющиеся данные) геморрагический синдром был у 46,5 % больных, на территории ядра – у 45,3 %, вне ядра – у 52,0 % больных.

Летальный исход заболевания зарегистрирован у 31 больного КГЛ (3,0 %). На территории ядра летальность в 2010–2019 гг. в среднем составила 2,5 % (в Ставропольском крае – 0,63 %), а на территории периодических проявлений инфекции – 6,8 %.

Активное проведение информационно-разъяснительной работы способствовало более ранней обращаемости людей при заболевании КГЛ за медицинской помощью. Так, в 2016–2019 г. (имеющиеся данные) в первые сутки заболевания в медицинские организации обратились 50,4 % больных КГЛ, на 2–3-и сутки – 29,8 %, на 4–7-е сутки – 17,9 % и только 5 человек за указанный период (1,4 %) обратились за помощью после 10 суток от начала заболевания. При этом в первые трое суток заболевания на территории ядра обратились за медицинской помощью 82,7 % больных, на остальной территории – 68,4 %.

Хотя предварительный диагноз «КГЛ» при обращении в лечебно-профилактические организации поставлен в 53 % случаев (в период 2016–2019 гг.), 86,4 % больных госпитализированы в первые сутки обращения, что позволило начать их лечение в начальной стадии заболевания и, соответственно,

повлияло на развитие клинических проявлений и исход болезни.

Нозокомиальные случаи и их профилактика.

Во всем мире особую группу повышенного риска заражения КГЛ представляют медицинские работники [7–10]. Обеспечение режима биологической безопасности в медицинских организациях резко снижает возможность нозокомиального заражения пациентов и персонала. Готовность медицинских работников к оказанию помощи лицам, зараженным высокопатогенными возбудителями инфекций, способствует строгому соблюдению ими правил безопасности и защите себя от возможного инфицирования.

С 1999 по 2019 год в Российской Федерации заразились КГЛ 20 медицинских работников, всего зарегистрировано 7 эпизодов. Их них 5 эпизодов произошли в первые годы активизации природного очага КГЛ (1999–2004 гг.): четыре эпизода – в Ростовской области и Ставропольском крае с 1999 по 2002 год, а один – в 2004 г. в Республике Ингушетия. Ранее в Ингушетии КГЛ не проявлялась и, соответственно, население и медицинские работники не были готовы к появлению опасной инфекции: заболели 3 члена одной семьи – мать в результате укуса клещом при уходе за домашним скотом, две дочери, ухаживающие за больной матерью, все три случая имели летальный исход. Кроме того, было зарегистрировано внутрибольничное заражение медицинского работника.

В период 2010–2019 гг. зарегистрировано 2 эпизода нозокомиального заражения, при которых инфицировано 9 медицинских специалистов. В 2011 г. произошла самая крупная внутрибольничная вспышка КГЛ в Российской Федерации. В Ростовской области были инфицированы вирусом ККГЛ медицинские работники инфекционного, гинекологического и реанимационного отделений, заболели 8 человек, оказывавшие медицинскую помощь беременной (22 нед.) женщине в тяжелом клиническом состоянии (летальный исход) до установления ей диагноза. В 2016 г. в Ставропольском крае в результате повреждения кожных покровов и мягких тканей после проведения внутривенной инъекции больной, находящейся на стационарном лечении с лабораторно подтвержденным диагнозом «КГЛ», заболела медицинская сестра.

Все случаи заражения медицинских работников явились следствием нарушения ими режима биологической безопасности в процессе оказания помощи больным и при проведении медицинских манипуляций в хирургических, гинекологических и инфекционных учреждениях, только в одном случае – в результате биологической аварии.

Внутрилабораторных случаев заражения КГЛ не происходило.

Природный очаг КГЛ в Российской Федерации характеризуется в настоящее время продолжающейся эпидемической активностью. Из-за аридизации территории степей ареал клещей *H. marginatum* рас-

ширяется в северном направлении, вероятно, за счет глобального изменения климата, при этом увеличивается и эпизоотически активная территория очага. В природном очаге циркулируют европейские генотипы вируса ККГЛ. В результате многолетнего мониторинга генетической структуры популяции вируса, проводившегося в период с 2007 по 2019 год, не выявлено существенных изменений в соотношении циркулирующих его геновариантов в субъектах юга России, что свидетельствует об относительной стабильности популяции вируса ККГЛ. Существует и вероятность заноса других разновидностей штаммов из удаленных территорий по пути миграции птиц из семейства врановых.

Основная эпидемическая активность КГЛ наблюдается в зоне ядра природного очага, расположенного в зоне сухих степей на стыке Ростовской области, Ставропольского края и Республики Калмыкия.

Методически организованная и широко проводимая профилактическая работа, прежде всего в отношении информированности населения и подготовленности медицинских организаций к КГЛ, широкий охват лабораторной диагностикой, позволяющей выявлять среднетяжелые и легкие случаи болезни, своевременное оказание адекватной медицинской помощи повлияли на эпидемиологическую характеристику болезни в настоящее время. Организация и проведение профилактических мероприятий в России – многоуровневая система, в которой принимают участие органы исполнительной и муниципальной власти, органы местного самоуправления, территориальные органы федеральных органов власти, краевые министерства и ведомства, учреждения, организации и предприятия всех форм собственности [11]. Большое значение придается адресности информационно-просветительских и организационных мероприятий, направленных на основные группы риска: животноводов и медицинских работников. Этот подход признан Всемирной организацией здравоохранения весьма эффективным [12].

Следует отметить, что эффективность комплекса мер профилактики КГЛ в России прежде всего заметна на территории исторически сложившегося ядра природного очага КГЛ, где работа проводится более целенаправленно и интенсивно.

Организационно-методическая работа по обеспечению режима биологической безопасности в медицинских организациях и подготовленность медицинских работников к выявлению больного КГЛ позволила минимизировать число внутрибольничных заражений вирусом КГЛ, в том числе медицинского персонала. Тем не менее число внутрибольничных заражений не удается свести к нулю, что указывает на высокую контагиозность возбудителя этой инфекции, определяющуюся, с одной стороны, высокой вирусной нагрузкой в крови заболевших, типичной для геморрагических лихорадок, и с другой стороны – низкой заражающей дозой.

Ключевыми проблемами эпизоотологии и эпиде-

миологии КГЛ на юге России по-прежнему остаются выявление биоценологических закономерностей существования возбудителей, а также причин, определяющих динамику эпизоотического процесса и эпидемического проявления природных очагов. Дальнейший прогресс может быть достигнут путем рационального использования возможностей, которые представляют современные геоинформационные технологии, методы моделирования эпидемического процесса и прогнозирования эпизоото-эпидемической ситуации, а также молекулярно-биологические методы для решения традиционных и вновь возникающих задач.

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

Список литературы

1. Чумаков М.П., редактор. Медицинская вирусология. М.; 1974. 228 с. С. 5–18.
2. Чумаков М.П. Вирусные геморрагические лихорадки. М.; 1979. 190 с. С. 10–33.
3. Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., редакторы. Крымская геморрагическая лихорадка. Воронеж: ООО «Фаворит»; 2018. 288 с.
4. Волынкина А.С., Куличенко А.Н. Современные методы молекулярно-генетического анализа Крымской геморрагической лихорадки в системе эпидемиологического надзора. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2016; 1:53–60.
5. Малецкая О.В., Щербаклова С.А., Бейер А.П., Таран Т.В., Хапаев Б.А., Бамматов Д.М., Муртазалиева Г.А.-Х., Василенко Н.Ф., Шарова И.Н., Карнаухов И.Г., Куличенко А.Н. Принципы стандартизации диагностики и современные особенности Крымской геморрагической лихорадки на территории Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 2:55–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2-55-58.
6. Дворцова И.В., Айдинов Г.Т., Москвитина Э.А., Швагер М.М. Иксодовые клещи Ростовской области: биоразнообразие, распространение, эпидемиологическое значение. *ПЕСТ-Менеджмент (РЭТ-инфо)*. 2015; 1:26–33.
7. Burney M.I., Ghafoor A., Saleen M., Webb P.A., Casals J. Nosocomial outbreak of viral hemorrhagic fever caused by Crimean Hemorrhagic fever-Congo virus in Pakistan, January 1976. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1980; 29(5):941–7. DOI: 10.4269/ajtmh.1980.29.941.
8. Al-Abri S.S., Abaidani I.A., Fazlalipour M., Mostafavi E., Leblebicioglu H., Pshenichnaya N., Memish Z.A., Hewson R., Petersen E., Mala P., Nhu Nguyen T.M., Rahman Malik M., Formenty P., Jeffries R. Current status of Crimean-Congo haemorrhagic fever in the World Health Organization Eastern Mediterranean Region: issues, challenges, and future directions. *Int. J. Infect. Dis.* 2017; 58:82–9. DOI: 10.1016/j.ijid.2017.02.018.
9. Dreshaj S., Ahmeti S., Ramadani N., Dreshaj G., Humolli I., Dedushaj I. Current situation of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Southeastern Europe and neighboring countries: a public health risk for the European Union? *Travel. Med. Infect. Dis.* 2016; 14(2):81–91. DOI: 10.1016/j.tmaid.2016.03.012.
10. Weidmann M., Avsic-Zupanc T., Bino S., Bouloy M., Burt F., Chinikar S., Christova I., Dedushaj I., El-Sanousi A., Elaldi N., Hewson R., Hufert F.T., Humolli I., Jansen van Vuren P., Koçak Tufan Z., Korukluoglu G., Lyssen P., Mirazimi A., Neyts J., Niedrig M., Ozkul A., Papa A., Paweska J., Sall A.A., Schmaljohn C.S., Swanepoel R., Uyar Y., Weber F., Zeller H. Biosafety standards for working with Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(11):2799–808. DOI: 10.1099/jgv.0.000610.
11. Попова А.Ю., Куличенко А.Н., Ежлова Е.Б., Пакскина Н.Д., Василенко Н.Ф., Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Волынкина А.С. Особенности эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации на современном этапе. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 4:75–80. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-75-80.
12. Formenty P. Overview of strategies for Prevention and Control of Crimean-Congo Haemorrhagic Fever. Sub-Regional meeting on prevention and control of CCHF in EMR 07-09 December 2015, Muscat, Oman. WHO.

References

1. Chumakov M.P., editor. Medical Virology. M.; 1974. 228 p. P. 5–18.
2. Chumakov M.P. Viral Hemorrhagic Fevers. M.; 1979. 190 p. P. 10–33.
3. Onishchenko G.G., Kulichenko A.N., editors. [Crimean-Congo Hemorrhagic Fever]. Voronezh: "Favorit" Ltd.; 2018. 288 p.
4. Volynkina A.S., Kulichenko A.N. [Advanced methods of molecular-genetic analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever in epidemiological surveillance system]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infection Diseases: News, Opinions, Training]*. 2016; 1:53–60.
5. Maletskaya O.V., Shcherbakova S.A., Beyer A.P., Taran T.V., Khapaev B.A., Bammатов D.M., Murtazaliev G.A.-Kh., Vasilenko N.F., Sharova I.N., Karnaukhov I.G., Kulichenko A.N. [Principles of standardization of Crimean hemorrhagic fever diagnostics and its present-day peculiarities in the territory of the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; 2:55–58. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2-55-58.
6. Dvortsova I.V., Aydinov G.T., Moskvitina E.A., Shvager M.M. [Ixodic ticks of the Rostov region: biodiversity, area, epidemiological significance]. *PEST-Menedzhment (RET-info) [PEST-Management (RAT-info)]*. 2015; 1:26–33.
7. Burney M.I., Ghafoor A., Saleen M., Webb P.A., Casals J. Nosocomial outbreak of viral hemorrhagic fever caused by Crimean Hemorrhagic fever-Congo virus in Pakistan, January 1976. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1980; 29(5):941–7. DOI: 10.4269/ajtmh.1980.29.941.
8. Al-Abri S.S., Abaidani I.A., Fazlalipour M., Mostafavi E., Leblebicioglu H., Pshenichnaya N., Memish Z.A., Hewson R., Petersen E., Mala P., Nhu Nguyen T.M., Rahman Malik M., Formenty P., Jeffries R. Current status of Crimean-Congo haemorrhagic fever in the World Health Organization Eastern Mediterranean Region: issues, challenges, and future directions. *Int. J. Infect. Dis.* 2017; 58:82–9. DOI: 10.1016/j.ijid.2017.02.018.
9. Dreshaj S., Ahmeti S., Ramadani N., Dreshaj G., Humolli I., Dedushaj I. Current situation of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Southeastern Europe and neighboring countries: a public health risk for the European Union? *Travel. Med. Infect. Dis.* 2016; 14(2):81–91. DOI: 10.1016/j.tmaid.2016.03.012.
10. Weidmann M., Avsic-Zupanc T., Bino S., Bouloy M., Burt F., Chinikar S., Christova I., Dedushaj I., El-Sanousi A., Elaldi N., Hewson R., Hufert F.T., Humolli I., Jansen van Vuren P., Koçak Tufan Z., Korukluoglu G., Lyssen P., Mirazimi A., Neyts J., Niedrig M., Ozkul A., Papa A., Paweska J., Sall A.A., Schmaljohn C.S., Swanepoel R., Uyar Y., Weber F., Zeller H. Biosafety standards for working with Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J. Gen. Virol.* 2016; 97(11):2799–808. DOI: 10.1099/jgv.0.000610.
11. Popova A.Yu., Kulichenko A.N., Ezhlova E.B., Paksina N.D., Vasilenko N.F., Maletskaya O.V., Prisleghina D.A., Volynkina A.S. [Peculiarities of epidemiological situation on Crimean hemorrhagic fever in the Russian Federation at the current stage]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 4:75–80. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-75-80.
12. Formenty P. Overview of strategies for Prevention and Control of Crimean-Congo Haemorrhagic Fever. Sub-Regional meeting on prevention and control of CCHF in EMR 07-09 December 2015, Muscat, Oman. WHO.

Authors:

Maletskaya O.V., Taran T.V., Prisleghina D.A., Dubyansky V.M., Volynkina A.S., Semenok O.V., Vasilenko N.F., Tsapko N.V. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Tarasov M.A. Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region. 69, Bolshaya Gornaya St., Saratov, 410031, Russian Federation. E-mail: fguz@gigiena-saratov.ru

Об авторах:

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

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-81-85

УДК 616.98:578.8

И.В. Николаева¹, О.С. Михайлова¹, С.В. Ткачева¹, Г.Ш. Исаева^{1,2}, И.Д. Решетникова^{2,4},
В.Б. Зиятдинов², В.А. Алешкин³, А.Г. Лютов³

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОЗАМЕСТИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ГЕМОРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация; ²ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», Казань, Российская Федерация; ³ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского», Москва, Российская Федерация; ⁴ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Российская Федерация

В настоящее время геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) остается самым распространенным природно-очаговым заболеванием вирусной этиологии в Российской Федерации. До настоящего времени не разработаны эффективные противовирусные препараты и терапия ГЛПС в основном имеет патогенетический и симптоматический характер. **Целью** исследования являлась оценка клинико-лабораторной эффективности габриглобина в лечении среднетяжелой формы ГЛПС. **Материалы и методы.** В исследование включены 22 пациента с диагнозом «ГЛПС средней степени тяжести» в лихорадочной стадии заболевания. Пациентам основной группы (n=10) в лихорадочный период ГЛПС наряду с патогенетической терапией внутривенно вводился габриглобин в дозе 0,1 г/кг в сутки. Курс лечения составил 2–3 инфузии. Контрольная группа (n=12) получала только патогенетическую терапию. **Результаты и выводы.** В результате исследований выявлена клинико-лабораторная эффективность внутривенного введения габриглобина в терапии пациентов с ГЛПС средней степени тяжести, что проявлялось сокращением длительности лихорадочного периода на 2,1 дня, выраженности олигурии и сокращением длительности тромбоцитопении на 3,5 дня по сравнению с группой пациентов, получавших патогенетическую терапию.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, иммунозаместительная терапия, габриглобин.

Корреспондирующий автор: Решетникова Ирина Дмитриевна, e-mail: reshira@mail.ru.

Для цитирования: Николаева И.В., Михайлова О.С., Ткачева С.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Зиятдинов В.Б., Алешкин В.А., Лютов А.Г. Клинико-лабораторная эффективность иммунозаместительной терапии геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:81–85. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-81-85

Поступила 23.07.20. Принята к публ. 25.08.20.

I.V. Nikolaeva¹, O.S. Mikhailova¹, S.V. Tkacheva¹, G.Sh. Isaeva^{1,2}, I.D. Reshetnikova^{2,4}, V.B. Ziatdinov²,
V.A. Aleshkin³, A.G. Lyutov³

Clinical-Laboratory Effectiveness of Immune-Replacement Therapy of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation;

²Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation;

³G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russian Federation;

⁴Kazan (Privolzhsky) Federal University, Kazan, Russian Federation

Abstract. Currently, hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) remains the most common natural focal disease of viral etiology in the Russian Federation. Effective antiviral drugs have not yet been developed. Pathogenetic and symptomatic drugs are mainly used in the treatment of HFRS. **The aim** of the study was to evaluate the clinical and laboratory effectiveness of intravenous gabriglobin in the treatment of moderate forms of HFRS. **Materials and methods.** The study included 22 patients with a diagnosis “HFRS of moderate severity” in the febrile stage of the disease. In the febrile period of HFRS, patients of the main group (n=10) were given gabriglobin via intravenous route at a dose of 0.1 g/kg per day along with pathogenetic therapy. The course of treatment was 2–3 infusions. The control group (n=12) received only pathogenetic therapy. **Results and conclusions.** As a result of the studies, the clinical and laboratory efficacy of intravenous administration of gabriglobin in the treatment of patients with moderate-grade HFRS was revealed, which was manifested by a decrease in the duration of the febrile period by 2.1 days, the severity of oliguria and a decrease in the duration of thrombocytopenia by 3.5 days compared with the group of patients receiving only pathogenetic therapy.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome, immuno-replacement therapy, gabriglobin.

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

Corresponding author: Irina D. Reshetnikova, e-mail: reshira@mail.ru.

Citation: Nikolaeva I.V., Mikhailova O.S., Tkacheva S.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Ziatdinov V.B., Aleshkin V.A., Lyutov A.G. Clinical-Laboratory Effectiveness of Immune-Replacement Therapy of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:81–85. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-81-85

Received 23.07.20. Accepted 25.08.20.

Nikolaeva I.V., ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6646-302X>
Tkacheva S.V., ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1857-8367>
Isaeva G.Sh., ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1462-8734>
Reshetnikova I.D., ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3584-6861>

Ziatdinov V.B., ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8029-6515>
Aleshkin V.A., ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6163-6342>
Lyutov A.G., ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5146-5620>

За последние десятилетия хантавирусные болезни включены в список весьма актуальных и приоритетных проблем во всем мире, так называемых *emerging* (непредсказуемых) инфекций, грозящих развитием сложных эпидемических ситуаций. Это обусловлено изменчивостью генома хантавирусов и возможностью появления новых высоко вирулентных для человека генетических вариантов возбудителя [1].

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – острое вирусное природно-очаговое зоонозное заболевание, характеризующееся циклическим течением с преимущественным поражением мелких сосудов и почек с развитием геморрагического синдрома и острой почечной недостаточности (ОПН).

Ежегодно в мире регистрируется до 150 тыс. случаев ГЛПС, с максимальной заболеваемостью в Китае, Корее и России и уровнем летальности от 1 до 15 % в зависимости от типа вируса [2, 3].

В настоящее время ГЛПС остается самым распространенным природно-очаковым заболеванием вирусной этиологии в Российской Федерации. На территории страны за последние десять лет сохранялась напряженная ситуация по ГЛПС. Динамика заболеваемости ГЛПС в Российской Федерации носит циклический характер с подъемами заболеваемости каждые 4–5 лет, при этом линейный тренд не имеет тенденции к снижению. Так, после снижения показателей заболеваемости на 100 тыс. населения с 7,8 в 2014 г. до 3,9 в 2018-м, в 2019 г. отмечен рост заболеваемости по сравнению с предыдущим годом в 2,4 раза. Всего в 2019 г. зарегистрировано 14027 случаев заболевания ГЛПС (9,55 на 100 тыс. населения). Более 98 % случаев ГЛПС в европейской части Российской Федерации этиологически обусловлены вирусом Пуумала, менее 2 % случаев ГЛПС вызваны вирусами Добrava-Белград (Куркино) и Добrava-Белград (Сочи) [4].

Почти 90 % всех регистрируемых в Российской Федерации случаев ГЛПС приходится на Приволжский федеральный округ (ПФО). Ежегодная заболеваемость здесь достигает в среднем 15 на 100 тыс. населения. Преобладание среди заболевших ГЛПС лиц работоспособного возраста (30–59 лет) обуславливает значимый экономический ущерб от данного заболевания. В 2019 г. в ПФО зарегистрировано 11284 случая ГЛПС (показатель на 100 тыс. населения – 38,2), что составило 80,7 % от всех случаев ГЛПС. Среди зарегистрированных случаев заболевания ГЛПС в ПФО преобладали случаи средней степени тяжести – 87,8 %, тяжелые формы составили 7,5 %, легкие – 4,7 %. Имеются сложности в диагностике ГЛПС, поскольку возможно abortивное, латентное и атипичное течение заболевания [5].

До настоящего времени не разработаны эффективные противовирусные препараты и терапия ГЛПС в основном имеет патогенетический и симптоматический характер [2, 6, 7]. В современных клинических

рекомендациях в качестве средств этиотропной терапии на ранних сроках заболевания рекомендуются рибавирин и амиксин, однако они обладают невысокой эффективностью, поэтому продолжается разработка и исследование других лекарственных средств для этиотропного лечения ГЛПС [8].

В настоящее время пассивная иммунотерапия рассматривается как перспективное направление лечения ГЛПС. По данным L. Pettersson *et al.* (2014), низкий IgG-специфический ответ у больных ГЛПС коррелирует с более высокой вирусной нагрузкой и тяжестью заболевания [6]. Ранее учеными доказана эффективность применения иммунной плазмы и специфических иммуноглобулинов в терапии ГЛПС и хантавирусного легочного синдрома [9, 10]. Способ лечения ГЛПС с применением специфического донорского иммуноглобулина защищен авторским свидетельством на изобретение [11]. Начиная с 1986 г. на предприятии по выпуску бактериальных препаратов Казанского НИИЭМ готовились серии иммуноглобулина против серотипа вируса Пуумала. В качестве сырья использовалась сыворотка людей, переболевших ГЛПС в эндемичных районах Татарстана. Эффективность лечебно-профилактического действия специфического иммуноглобулина была показана на больных ГЛПС и группах риска [12]. В дальнейшем производство препарата было прекращено в связи с ликвидацией предприятия. Последующие попытки создания средств пассивной иммунопрофилактики ГЛПС предпринимались неоднократно, но оказались безуспешными.

В настоящее время на отечественном рынке представлен новый иммуноглобулин для внутривенного введения – «Габриглобин-IgG», или габриглобин (ПУ ЛС-000412), представляющий собой иммунологически активную белковую фракцию, выделенную из плазмы крови здоровых доноров.

Препарат имеет низкое значение pH, нерасщепленную молекулу IgG, которая сохраняет все свои биологические функции. Габриглобин содержит антитела к вирусам и бактериям, преимущественно циркулирующим в популяции, проживающей как на территории России, так и стран СНГ. В препарате доказано наличие антител к стафилолизину, возбудителям дифтерии, коклюша, менингококковой инфекции, сальмонеллам, шигеллам, к вирусам кори, гриппа, краснухи, гепатита А, к HBsAg, цитомегаловирусу, вирусу Эпштейна–Барр, вирусу простого герпеса, вирусу клещевого энцефалита [13].

Сохранение всех свойств молекулы IgG в препарате обуславливает противовоспалительный эффект за счет уменьшения комплемент-зависимого повреждения тканей, изменения структуры и растворимости иммунных комплексов, индукции противовоспалительных цитокинов и нейтрализации микробных токсинов, связывания и нейтрализации патогенных антител антиидиотипическими антителами.

Препарат рекомендуется для лечения тяжелых форм бактериальных и вирусных инфекций

(2, 3-Габриглобин-Ig. Инструкция по применению ЛС-000412-100117) [14].

Целью исследования являлась оценка клинико-лабораторной эффективности габриглобина в лечении среднетяжелой формы ГЛПС.

Материалы и методы

Исследование проводилось на базе ГАУЗ РКИБ им. проф. А.Ф. Агафонова в 2017–2018 гг. Дизайн исследования – «рандомизированное, открытое, сравнительное наблюдательное исследование». Все стадии исследования соответствовали законодательству РФ, международным этическим нормам и нормативным документам учреждения, а также одобрены Локальным этическим комитетом. От всех людей, ставших объектом исследования, получено информированное согласие. В исследование включены 22 пациента с диагнозом «ГЛПС средней степени тяжести» в лихорадочной стадии заболевания. Диагноз «ГЛПС» у всех больных подтвержден обнаружением специфических антител к хантавирусам класса М и G методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) согласно рекомендациям производителя (АО «Вектор-Бест», тесты «ВектоХанта-IgM» и «ВектоХанта-IgG»). Критериями не включения в исследование являлись: тяжелые формы ГЛПС, олигоанурический период заболевания, злоупотребление алкоголем, лекарственная и наркотическая зависимость, психические заболевания, тяжелая коморбидная патология (почечно-печеночная недостаточность, вирусные, системные и онкогематологические заболевания, обуславливающие вторичную тромбоцитопению); аллергические реакции на введение препаратов крови в анамнезе. Критерием исключения пациента из исследования являлся отказ пациента от дальнейшего лечения и наблюдения. От всех пациентов получено информированное согласие. Проведен анализ ведущих клинических синдромов ГЛПС, лабораторных показателей (биохимический анализ крови, коагулограмма, общий анализ крови, мочи, анализ мочи по Зимницкому, по Нечипоренко) и инструментальных методов обследования (УЗИ органов брюшной полости и почек).

Средний возраст пациентов в основной группе составил $(34,0 \pm 11,0)$ года, в контрольной – $(44,0 \pm 17,0)$ ($p > 0,05$), в обеих группах преобладали пациенты мужского пола (90 и 66,7 % соответственно). Сопутствующая патология в исследуемых группах: дискинезия желчевыводящих путей диагностирована у 30 % пациентов основной и 33,3 % контрольной группы, у 1 больного (8,3 %) – ИБС, гипертоническая болезнь III степени.

Госпитализация пациентов основной группы происходила на $(3,7 \pm 2,0)$ день болезни, контрольной группы – на $(4,9 \pm 2,2)$ день болезни. Все больные получали патогенетическую терапию (глюкозосолевые растворы, антипиретики, спазмолитики по показаниям). Пациентам основной группы ($n=10$) в

лихорадочный период ГЛПС наряду с патогенетической терапией внутривенно вводился габриглобин в дозе 0,1 г/кг в сутки. Курс лечения составил 2–3 инфузии. Контрольная группа ($n=12$) получала только патогенетическую терапию. Для оценки клинико-лабораторной эффективности габриглобина использовались следующие критерии: длительность госпитализации; длительность лихорадочного периода; выраженность интоксикационного синдрома; длительность олигоанурии; длительность болевого синдрома, уровень креатинина на 5–7-й день госпитализации, минимальный объем диуреза, длительность протеинурии; уровень тромбоцитов на 5–7-й день госпитализации и длительность тромбоцитопении.

Статистическая обработка результатов проводилась в программном обеспечении Microsoft Office Excel 2007, STATISTICA 10.0 с определением t-критерия Стьюдента и U-критерия Манна–Уитни.

Результаты исследований

Результаты исследования показали, что длительность лихорадочного периода в группе, получавшей габриглобин, достоверно короче – $(3,9 \pm 1,2)$ дня, чем у пациентов, получавших патогенетическую терапию, – $(6,0 \pm 2,1)$ дня ($p < 0,05$) (рис. 1).

Число тромбоцитов, которое определялось у пациентов в день госпитализации и далее, через 5–7 дней повысилось в основной группе от $(92,7 \pm 46,6)$ до $(258,0 \pm 82,0)$ ($p < 0,001$); в контрольной – от $(85,7 \pm 61,1)$ до $(179,6 \pm 98,7)$ ($p < 0,05$) соответственно (рис. 2). Число тромбоцитов у пациентов, получавших габриглобин, на 5–7-й день госпитализации было выше ($p < 0,05$).

У пациентов основной группы длительность тромбоцитопении составила $(3,3 \pm 1,7)$ дня, что было достоверно меньше, чем в контрольной группе – $(6,7 \pm 3,5)$ дня ($p < 0,05$) (рис. 3).

Длительность олигоурического периода в исследуемых группах практически не различалась и составила в основной группе $(2,4 \pm 0,9)$ дня, в контрольной – $(2,8 \pm 0,8)$ дня, однако олигурия в группе,

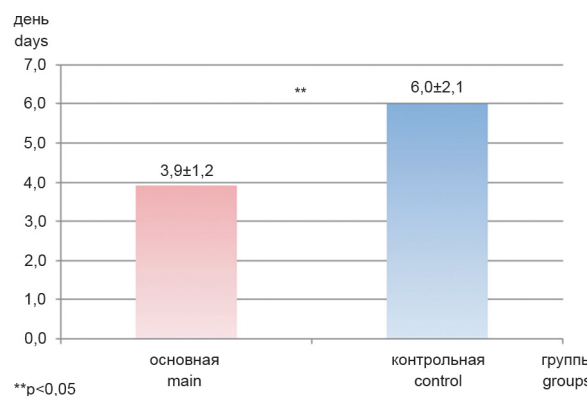


Рис. 1. Длительность лихорадочного периода в исследуемых группах

Fig. 1. The duration of the febrile period in the study groups

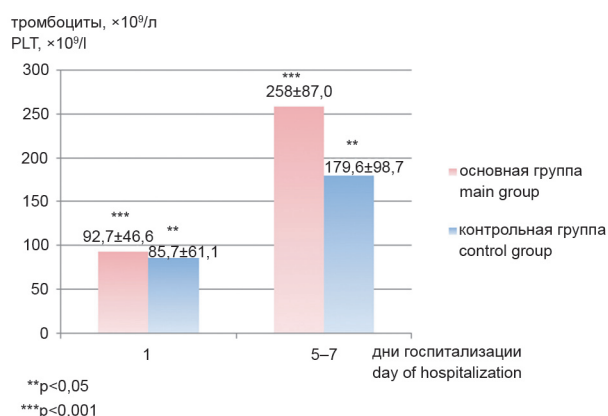


Рис. 2. Динамика уровня тромбоцитов в исследуемых группах

Fig. 2. Platelet level dynamics in the studied groups

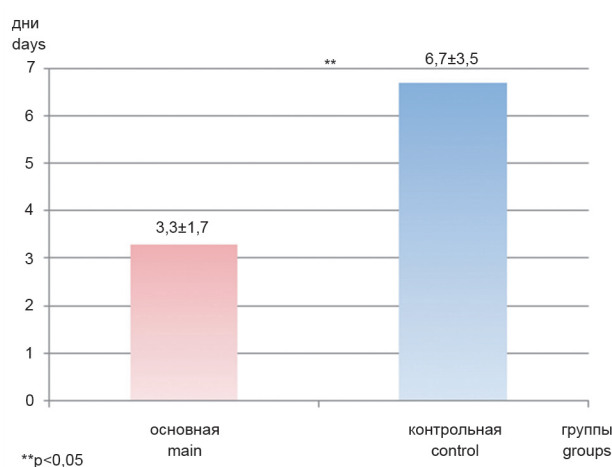


Рис. 3. Длительность тромбоцитопении в исследуемых группах

Fig. 3. The duration of thrombocytopenia in the study groups

получавшей габриглобин ($956,0 \pm 416,4$), оказалась менее выраженной, чем в контрольной группе – ($520,0 \pm 269$) мл ($p < 0,05$).

Статистически значимых различий в степени выраженности интоксикационного синдрома, показателей протеинурии, азотемии в обеих группах не выявлено.

Таким образом, в результате исследования выявлена клинико-лабораторная эффективность внутривенного введения габриглобина в терапии пациентов с ГЛПС средней степени тяжести, что проявлялось сокращением длительности лихорадочного периода на 2,1 дня, выраженности олигоурии и сокращением длительности тромбоцитопении на 3,5 дня по сравнению с группой пациентов, получавших только патогенетическую терапию. Полученные результаты указывают на необходимость проведения дальнейших исследований эффективности габриглобина в отношении больных ГЛПС и разработки новых схем иммунозаместительной терапии.

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

Список литературы

1. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом у взрослых. Клинические рекомендации. М.; 2016.
2. Jonsson C.B., Figueiredo L.T.M., 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.
3. Avšič-Županc T., Saksida A., Korva M. Hantavirus infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 21S:e6–e16. DOI: 10.1111/1469-0691.12291.
4. 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; 2:30–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-30-36.
5. Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифонов В.А., Зиятдинов В.Б., Серова И.В., Сафронов В.А. Оценка эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в мире и России, прогноз на 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:62–70. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-62-70.
6. Pettersson L., Thunberg T., Rocklöv J., Klingström J., Evander M., Ahlm C. Viral load and humoral immune response in association with disease severity in Puumala hantavirus-infected patients-implications for treatment. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20(3):235–41. DOI: 10.1111/1469-0691.12259.
7. Malinin O.V., Platonov A.E. Insufficient efficacy and safety of intravenous ribavirin in treatment of haemorrhagic fever with renal syndrome caused by Puumala virus. *Infect. Dis. (Lond).* 2017; 49(7):514–20. DOI: 10.1080/23744235.2017.1293841.
8. Юшук Н.Д., Венгеров Ю.Я., редакторы. Инфекционные болезни: национальное руководство. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018. С. 894–904.
9. Мингазова Э.М., Шайхуллина Л.Р., Валишин Д.А., Хунафина Д.Х. Современные аспекты этиотропной терапии геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Медицинский вестник Башкортостана.* 2015; 10(1):108–13.
10. Vial P.A., Valdivieso F., Calvo M., Riosco M.L., Riquelme R., Araneda A., Tomicic V., Graf J., Paredes L., Florenzano M., Bidart T., Cuiza A., Marco C., Hjelle B., Ye C., Hanfelt-Goade D., Vial C., Rivera J.C., Delgado I., Mertz G.J. A non-randomized multicentre trial of human immune plasma for treatment of hantavirus cardiopulmonary syndrome caused by Andes virus. *Antivir. Ther.* 2015; 20(4):377–86. DOI: 10.3851/IMP2875.
11. Суздальцев А.А., Алексеев О.А., Потапов В.С., Гавриловская И.Н. Способ лечения геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Авторское свидетельство № 1814903, опубл. 15.05.1993. Бюл. № 18.
12. Гавриловская И.Н., Богданова С.Б., Горбачкова Е.А., Чумаков М.П., Апекина Н.С., Линев М.Б., Мясников Ю.А., Мухутдинов И.З., Потапов В.С., Бойко В.А., Мухутдинова Р.Г., Ягнова Л.В., Камалов Ф.З. Получение препарата человеческого иммуноглобулина против вируса геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Казанский медицинский журнал.* 1988; 1:22–3.
13. Лютов А.Г., Алешкин В.А., Мостовская Е.В. Терапевтические возможности отечественного препарата иммуноглобулина для внутривенного введения габриглобина-IgG. В кн.: Ревизвили А.Ш., Земсков В.М., Земсков А.М., редакторы. Оптимизация диагностики и лечения гнойно-воспалительных заболеваний (инновационные технологии). Практическое руководство. СПб.: СпецЛит; 2020. С. 268–300.
14. Алешкин В.А., Лютов А.Г., Новикова Л.И., Евсеева С.А., Николаева И.В., Ткачева С.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д. Динамика содержания противовирусных антител у больных ГЛПС на фоне иммуномодулирующей терапии габриглобином. В кн.: Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: эпидемиология, профилактика и диагностика на современном этапе: Сборник материалов Региональной научно-практической конференции. Казань; 2019. С. 37–9.

References

1. [Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in Adults. Clinical Guidelines]. Moscow; 2016.
2. Jonsson C.B., Figueiredo L.T.M., 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.
3. Avšič-Županc T., Saksida A., Korva M. Hantavirus infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 2019; 21S:e6–e16. DOI: 10.1111/1469-0691.12291.
4. Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Paksina 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 a forecast

of the incidence in the Russian Federation in 2019]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2019; 2:30–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-30-36.

5. Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Trifonov V.A., Zaitdinov V.B., Serova I.V., Safronov V.A.. [Evaluation of epidemiological situation on hemorrhagic fever with renal syndrome in the world and in Russia, forecast for 2020]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; 2:62–70. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-62-70.

6. Pettersson L., Thunberg T., Rocklöv J., Klingström J., Evander M., Ahlm C. Viral load and humoral immune response in association with disease severity in Puumala hantavirus-infected patients-implications for treatment. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20(3):235–41. DOI: 10.1111/1469-0691.12259.

7. Malinin O.V., Platonov A.E. Insufficient efficacy and safety of intravenous ribavirin in treatment of haemorrhagic fever with renal syndrome caused by Puumala virus. *Infect. Dis. (Lond)*. 2017; 49(7):514–20. DOI: 10.1080/23744235.2017.1293841.

8. Yushchuk N.D., Vengerov Yu.Ya., editors. [Infectious Diseases: National Guidelines]. 2nd ed., rev. and add. M.: GEOTAR-Media; 2018. P. 894–904.

9. Mingazova E.M., Shaikhullina L.R., Valishin D.A., Khunafina D.Kh. [Modern aspects of etiologic therapy of hemorrhagic fever with renal syndrome]. *Meditsinskii Vestnik Bashkortostana* [Medical Bulletin of Bashkortostan]. 2015; 10(1):108–13.

10. Vial P.A., Valdivieso F., Calvo M., Rioseco M.L., Riquelme R., Araneda A., Tomicic V., Graf J., Paredes L., Florenzano M., Bidart T., Cuiza A., Marco C., Hjelle B., Ye C., Hanfelt-Goade D., Vial C., Rivera J.C., Delgado I., Mertz G.J. A non-randomized multicentre trial of human immune plasma for treatment of hantavirus cardiopulmonary syndrome caused by Andes virus. *Antivir. Ther.* 2015; 20(4):377–86. DOI: 10.3851/IMP2875.

11. Suzdaltsev A.A., Alekseev O.A., Potapov V.S., Gavrilovskaya I.N. [A method of treating HFRS using a specific donor immunoglobulin]. Patent No. 1814903, published on May 15, 1993. Bulletin No. 18.

12. Gavrilovskaya I.N., Bogdanova S.B., Gorbachkova E.A., Chumakov M.P., Apekina N.S., Linev M.B., Myasnikov Yu.A., Mukhutdinov I.Z., Potapov V.S., Boiko V.A., Mukhutdinova R.G., Yagnova L.V., Kamalov F.Z. [Obtaining a preparation of human immunoglobulin against the virus of hemorrhagic fever with renal syndrome]. *Kazansky Meditsynsky Zhurnal* [Kazan Medical Journal]. 1988; 1:22–3.

13. Lyutov A.G., Aleshkin V.A., Mostovskaya E.V. [Therapeutic possibilities of a domestic preparation of immunoglobulin for intravenous administration of gabriglobin-IgG]. In: Revishvili A.Sh., Zemskov V.M., Zemskov A.M., editors. [Optimization of Diagnosis and Treatment of Pyoinflammatory Diseases (Innovative Technologies). Practice Guidelines]. St. Petersburg: "SpetsLit"; 2019. P. 268–300.

14. Aleshkin V.A., Lyutov A.G., Novikova L.I., Evseeva S.A., Nicolaeva I.V., Tkacheva S.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D. [Dynamics of the content of antiviral antibodies in patients with HFRS against the background of immunomodulatory therapy with gabriglobin]. In: [Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome: Epidemiology, Prevention and Diagnosis at the Present Stage: Collection of Materials of the Regional Scientific and Practical Conference]. Kazan; 2019. P. 37–9.

Authors:

Nikolaeva I.V., Mikhailova O.S., Tkacheva S.V. Kazan State Medical University. 49, Butlerova St., Kazan, 420012, Russian Federation.

Isaeva G.Sh. Kazan State Medical University; 49, Butlerova St., Kazan, 420012, Russian Federation. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru.

Reshetnikova I.D. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan (Privolzhsky) Federal University; 18, Kremlevskaya St., Kazan, 420008, Russian Federation.

Zaitdinov V.B. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation. E-mail: kniem@mail.ru.

Aleshkin V.A., Lyutov A.G. G.N. Gabrichevsky Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 10, Admirala Makarova St., Moscow, Russian Federation. E-mail: info@gabrich.com

Об авторах:

Николаева И.В., Михайлова О.С., Ткачева С.В. Казанский государственный медицинский университет. Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Бултерова, 49.

Исаева Г.Ш. Казанский государственный медицинский университет; Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Бултерова, 49. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67; e-mail: kniem@mail.ru.

Решетникова И.Д. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67; e-mail: kniem@mail.ru. Казанский (Приволжский) федеральный университет; Российская Федерация, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18.

Зайтдинов В.Б. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии. Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67. E-mail: kniem@mail.ru.

Алешкин В.А., Лютов А.Г. Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского. Российская Федерация, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10. E-mail: info@gabrich.com.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-86-91

УДК 616.91:615.37

О.А. Полежаева, А.В. Зыбкина, А.В. Зайковская, О.В. Пьянков, С.А. Пьянков, А.В. Семенова,
Г.В. Кочнева, Д.Н. Щербakov

ПОЛУЧЕНИЕ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ КЛАССА Y, НЕЙТРАЛИЗУЮЩИХ ВИРУС МАРБУРГ

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

Цель – изучение возможности индукции куриных антител, нейтрализующих вирус Марбург (MARV), с использованием различных иммуногенов. **Материалы и методы.** В качестве иммуногенов использовали рекомбинантный вирус осповакцины, экспрессирующий трансген поверхностного гликопротеина (GP) MARV штамма Musoke, и псевдовиральные частицы, экспонирующие GP трех штаммов MARV: Popp, Musoke и DRC2000, – на основе лентивируса и рекомбинантного штамма вируса везикулярного стоматита (VSV). В иммунизации участвовало две группы птиц. Кур иммунизировали девять раз: в первый раз вводили рекомбинантный вирус осповакцины, а затем 8 раз – псевдовиральные частицы (на основе лентивируса и рекомбинантного штамма вируса везикулярного стоматита). Первую группу иммунизировали очищенным и концентрированным иммуногеном, а вторую группу им же, но в комплексе с неполным адъювантом Фрейнда. Накопление специфических антител оценивали методом иммуноферментного анализа (ИФА). Для анализа накопления нейтрализующих антител использовали рекомбинантный VSV, экспонирующий GP MARV, и натуральный MARV штамма Popp. **Результаты и обсуждение.** Разработана эффективная схема иммунизации кур тремя рекомбинантными конструктами, презентующими GP MARV, в результате которой происходит индукция куриных антител класса IgY против вируса Марбург с титром в ИФА от 1:100 до 1:1 млн. Полученные IgY нейтрализуют псевдовirusы MARV (штаммы Popp, DRC2000, Musoke) в разведении от 1/256 до 1/1024 и натуральный вирус MARV штамма Popp в разведении 1/8. Более стабильные результаты продемонстрировала схема иммунизации с использованием неполного адъюванта Фрейнда.

Ключевые слова: вирус Марбург, антитела, IgY, вирусоподобные частицы.

Корреспондирующий автор: Щербakov Дмитрий Николаевич, e-mail: vector@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Полежаева О.А., Зыбкина А.В., Зайковская А.В., Пьянков О.В., Пьянков С.А., Семенова А.В., Кочнева Г.В., Щербakov Д.Н. Получение иммуноглобулинов класса Y, нейтрализующих вирус Марбург. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:86–91. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-86-91
Поступила 27.04.20. Принята к публ. 28.05.20.

O.A. Polezhaeva, A.V. Zybina, A.V. Zaikovskaya, O.V. P'yankov, S.A. P'yankov, A.V. Semenova,
G.V. Kochneva, D.N. Shcherbakov

Preparation of Class Y Immunoglobulins that Neutralize the Marburg Virus

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

Abstract. The aim was to study the possibility of inducing Marburg-neutralizing chicken antibodies (MARV) using various immunogens. **Materials and methods.** Recombinant vaccinia virus expressing the surface glycoprotein (GP) transgene MARV of Musoke strain and pseudovirus particles exhibiting GP of three strains of MARV – Popp, Musoke and DRC2000 based on lentivirus and recombinant strain of vesicular stomatitis virus (VSV) were used as immunogens. Two groups of birds were involved in the study. Chickens were immunized 9 times: first time they were injected with the recombinant vaccinia virus, and then 8 times – with pseudovirus particles (based on lentivirus and a recombinant strain of the vesicular stomatitis virus). The accumulation of specific antibodies was evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). We used recombinant VSV exhibiting GP MARV, and natural MARV strain Popp for the analysis of accumulation of neutralizing antibodies. **Results and discussion.** We have developed an effective immunization schedule for chickens with three recombinant constructs presenting GP MARV, which results in the induction of chicken IgY antibodies against Marburg virus with a titer in ELISA from 1:100 to 1:1 million. The obtained IgY neutralize MARV pseudoviruses (Popp, DRC2000, Musoke) at a dilution of 1/256 to 1/1024 and the natural MARV virus of the Popp strain at a dilution of 1/8. More stable results were demonstrated by immunization using Freund's incomplete adjuvant.

Key words: Marburg virus, antibodies, IgY, virus-like particles.

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

Funding: The study was conducted with the financial support of the Russian Foundation of Fundamental Research within the framework of the scientific project No. 18-34-00512 mol-a.

Corresponding author: Dmitry N. Shcherbakov, e-mail: vector@vector.nsc.ru.

Citation: Polezhaeva O.A., Zybina A.V., Zaikovskaya A.V., P'yankov O.V., P'yankov S.A., Semenova A.V., Kochneva G.V., Shcherbakov D.N. Preparation of Class Y Immunoglobulins that Neutralize the Marburg Virus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:86–91. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-86-91

Received 27.04.20. Accepted 28.05.20.

Polezhaeva O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4256-5064>

Zaikovskaya A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0450-5212>

Shcherbakov D.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8023-4453>

Согласно международной классификации, вирус Марбург (MARV) является представителем рода *Marburgvirus* семейства *Filoviridae* порядка *Mononegavirales*. MARV способен передаваться от рукокрылых к людям с последующей передачей от человека к человеку, при этом у людей он способен вызывать тяжелую геморрагическую лихорадку. Уровень смертности в очагах лихорадки Марбург варьирует от 24 до 88 %. Развитие международной торговли и туризма в последнее время, активный импорт животных для проведения биомедицинских исследований и в зоопарки создают реальную угрозу инфицирования людей, проживающих за пределами Экваториальной Африки.

Наиболее эффективным способом противодействия любой вирусной инфекции является использование профилактических вакцин, однако для MARV лицензированные вакцины отсутствуют. Другим способом борьбы с инфекцией могут быть противовирусные препараты. Эффективность на модели морских свинок показали препараты на основе антисмысловых РНК и малые интерферирующие РНК [1–3]. Ведутся работы по поиску низкомолекулярных веществ – блокаторов проникновения вируса в клетку [4]. Одной из групп перспективных противовирусных препаратов, обладающих высокой избирательностью действия, являются моноклональные антитела. Все существующие методы получения моноклональных антител базируются на отборе отдельных вариантов антител из разнообразия, представленного иммунной системой либо переболевшего человека, либо иммунизированных лабораторных животных. Так как лихорадка Марбург является редким заболеванием, наиболее доступным источником может служить иммунная система лабораторных животных.

Стимуляция выработки антител, нейтрализующих MARV в организме лабораторных животных, является нетривиальной задачей [5–8]. Так, иммунизация морских свинок инактивированным вирусом стимулировала выработку специфических антител, однако они не проявляли активность в тесте ингибирования бляшкообразования [6, 8]. Использование инактивированного вируса для иммунизации приматов привело к активации их гуморального иммунитета, но, несмотря на появление специфических антител в титре 1/2500, нейтрализующие антитела отсутствовали [9]. Иммунизация морских свинок вирусоподобными частицами на основе белков VP40 и GP или VP40, NP и GP обеспечивала полную защиту животных от заражения гомологичными и гетерологичными штаммами MARV, однако так же, как в случае с инактивированным вирусом, нейтрализующие антитела не обнаружены [6, 8]. Сходные результаты наблюдались при иммунизации вирусоподобными частицами приматов: животные выжили, однако нейтрализующие антитела отсутствовали [10]. Обнадешающие результаты показывают иммуногены на основе рекомбинантных вирусных векторов, при вакцинации которыми обнаружены

нейтрализующие антитела, что отражено в ряде работ [11, 12].

Целью настоящего исследования явилось изучение индукции нейтрализующих MARV антител у кур. Куры в качестве источника разнообразия антигенраспознающих доменов антител имеют ряд преимуществ. Все разнообразие нуклеотидных последовательностей, кодирующих переменные фрагменты тяжелой (VH) и легкой (VL) цепей антител, у птиц фланкировано тремя консенсусными последовательностями [13], что облегчает в дальнейшем получение моноклональных антител с использованием технологии фагового дисплея. Кроме того, динамику накопления специфических антител можно регистрировать для каждой курицы индивидуально, анализируя желток снесенных ею яиц, не прибегая к травматичным инвазивным процедурам.

Материалы и методы

В качестве иммуногена выбраны рекомбинантный вирус осповакцины, содержащий GP вируса Марбург штамма Musoke (GP_{mus}), и псевдовиральные частицы, экспонирующие GP MARV, на основе VSV и ВИЧ-1. Для псевдотипирования использовали нуклеотидные последовательности, кодирующие поверхностный гликопротеин трех штаммов MARV: Popp (GenBank: Z29337.1), Musoke (GenBank: DQ217792.1) и DRC 2000 (GenBank: JX458848.1), при этом также использовали варианты GP без муциноподобного домена (Δ MLD). Синтез нуклеотидных последовательностей осуществлен коммерческой фирмой («ДНК-синтез», Москва).

Рекомбинантный вирус осповакцины (штамм Л-ИВП, GenBank: KP233807) со встройкой трансгена GP_{mus} (VACV-GP_{mus}) получали методом временной доминантной селекции с использованием векторной плазмиды pGEM-Puro-UN-DS, которая является универсальной конструкцией для встройки любых трансгенов в геном штамма Л-ИВП в район делеции фрагмента гена C11R и экспрессии этих трансгенов под контролем ранне-позднего синтетического промотора pE/L [14]. Лентивирусные псевдовirusы MARV получали котрансфекцией эукариотических клеток HEK293T двумя плазмидами, одна из которых экспрессирует ген, кодирующий белок GP MARV, а вторая является пакующей плазмидой pSG3 Δ Env, как описано ранее [15]. Спустя двое суток после котрансфекции проводили сбор урожая псевдовirusов Lenti-GP Δ MLD-DRC.

Для получения псевдовirusов на основе VSV нами использован подход на основе рекомбинантного VSV (rVSV Δ G-G) с делецией гена поверхностного гликопротеина (G), описанный ранее [16]. Клетки HEK293FT трансфицировали плазмидой, кодирующей GP MARV, через 24 ч проводили смену ростовой среды и добавляли rVSV Δ G-G. Спустя двое суток после трансфекции производили сбор урожая псевдовirusов VSV-GP Δ MLD_{pop}.

Функциональную активность лентивирусных псевдовирусов определяли на клетках TZM-bl – генетически модифицированной клеточной линии HeLa, презентующей на своей поверхности большое число рецепторов для GP MARV и содержащей репортерный ген люциферазы светлячка под контролем Tat-индуцируемого промотора. Функциональную активность псевдовирусов на основе VSV определяли на культуре клеток HEK293T. В обоих случаях уровень вирусной инфекции оценивали по величине сигнала люминесценции, регистрируемого планшетным люминометром Stat Fax 4400. Величину сигнала люминесценции, которая прямо пропорциональна количеству зараженных клеток, выражали в относительных люциферазных единицах (RLU).

После наработки псевдовирусных частиц в эукариотических клетках HEK293FT (рабдовирусные псевдовирусы) и HEK293T (лентивирусные псевдовирусы) культуральную жидкость фильтровали через фильтр с диаметром пор 22 мкм и концентрировали центрифугированием через слой 20%-й сахарозы при 70000 g в течение 3–4 часов. Осадок растворяли в фосфатно-солевом буфере и хранили при температуре -80 °C.

Для иммунизации использовали 6 кур породы Лекгорн. На первом этапе всем курам однократно вводили рекомбинантный вирус осповакцины VACV-GP_{mus} в дозе $1 \cdot 10^8$ БОЕ на курицу (праймирование). Затем кур разделили на 2 равные группы и иммунизировали еще 8 раз псевдовирусами MARV. Для первых пяти иммунизаций использовали псевдовирусы на основе рабдовирусной системы, экспонирующие ΔMLD GP штамма Popp, в дозе $1,4 \cdot 10^7$ RLU на птицу. Во время следующих трех иммунизаций куриц прививали смесью лентивирусных псевдовирусов, экспонирующих ΔMLD GP штамма DRC 2000, и рабдовирусных псевдовирусов, экспонирующих ΔMLD GP штамма Popp MARV, в соотношении 1:1. Все иммунизации проводили внутримышечно, объем инокулята составил 500 мкл. Первой группе птиц псевдовирусы вводили в фосфатно-солевом буфере, второй – в комплексе с неполным адьювантом Фрейнда (НАФ). Все стадии исследования соответствовали законодательству РФ, международным этическим нормам и нормативным документам учреждения, а также одобрены соответствующими комитетами.

Выделение из яиц иммунизированных птиц желточных антител класса IgY проводили методом изоэлектрического осаждения, описанным ранее [17]. С этой целью из яиц извлекали желточный мешок и растворяли его содержимое в дистиллированной воде, доводили водородный показатель смеси до pH 5 и помещали в морозильную камеру с температурой -20 °C не менее чем на 12 часов. Далее раствор пропускали через бумажный фильтр, добавляли хлорид натрия до конечной концентрации 8,8 % и доводили pH раствора до 4. Выпавший осадок центрифугировали. Для очистки препарата антител от примесей хлорида натрия проводили диализ.

Анализ специфических антител проводили при помощи ИФА. В качестве специфического иммуносорбента использовали очищенный концентрированный инактивированный препарат вируса Марбург штамма Popp (номер V 626 в коллекции микроорганизмов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»). Для его получения на 7-е сутки инкубации собирали с монослоя зараженных клеток Vero 100 мл культуральной вируссодержащей жидкости. Осаждали вирусные частицы центрифугированием с 8 % полиэтиленгликоля ПЭГ-8000, полученный осадок ресуспендировали в растворе Хенкса и осаждали ультрацентрифугированием в градиенте плотности сахарозы, собирая опалесцирующую фракцию. Вирус инактивировали инкубацией раствора антигена с добавлением 0,2 % пропиолактона при 37 °C. Контроль отсутствия остаточной инфекционности проводили методом пассажа на инъецированных препаратом антигена восприимчивых к вирусу Марбург морских свинок, параллельно с пассажами контаминированного этим препаратом монослоя клеточной культуры Vero. Полученный препарат разводили в 100 раз в растворе 0,05 М натрия углекислого и вносили по 100 мкл в лунки полистиролового планшета. Сорбцию антигена проводили в течение 18 часов, после чего проводили ИФА.

Для оценки нейтрализующей активности IgY использовали псевдовирусы MARV на основе rVSVΔG. В иммунологическом 96-луночном планшете готовили 4-кратные разведения препарата антител, затем во все лунки добавляли одинаковое количество псевдовирусов (40000 RLU). После получасовой инкубации смеси антител и псевдовирусов переносили в соответствующие лунки 96-луночного планшета с клетками HEK293T. Через 48 ч проверяли уровень люминесценции на планшетном люминометре Stat Fax 4400.

Анализ нейтрализующей активности также проводили при помощи реакции ингибирования бляшкообразования MARV штамма Popp на монослое клеток Vero. Реакция проводилась на суточной культуре клеток Vero под полужидким агаровым покрытием, как описано ранее [18]. Полученные результаты учитывали на 7-е сутки.

Результаты и обсуждение

В нашей работе для индукции нейтрализующих MARV антител в качестве иммуногенов использовали рекомбинантный вирус осповакцины и псевдовирусы (рекомбинантные вирусы одного цикла). Выбор продиктован простотой и относительной безопасностью работы с такими иммуногенами при сохранении иммунологических особенностей, характерных для натурального вируса.

Для индукции кросс-нейтрализующих антител использовали прайм-бустерную стратегию, заключающуюся в использовании гетерологичных псевдовирусных частиц (лентивирусные и на осно-

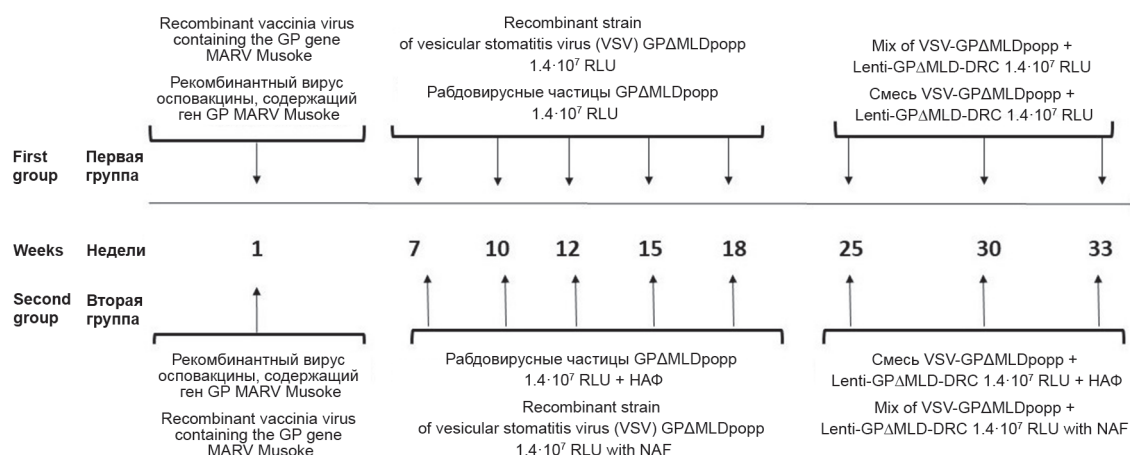


Рис. 1 Схема иммунизации кур. В первой иммунизации в качестве иммуногена использовался рекомбинантный вирус осповакцины, экспрессирующий трансген GP MARV штамма Musoke. Первая группа птиц далее иммунизирована очищенными псевдовirusами VSV-GPΔMLDpopp в концентрации $1.4 \cdot 10^7$ RLU. Вторая группа птиц получала тот же антиген в комплексе с ИФА. Последние три иммунизации выступали в роли буста и птицам вводили смесь VSV-GPΔMLDpopp и Lenti-GPΔMLD-DRC

Fig. 1. Chicken immunization schedule. During the first immunization, a recombinant vaccinia virus expressing the GP MARV transgene of the Musoke strain was used as an immunogen. The first group of birds was further immunized with purified VSV-GPΔMLDpopp pseudoviruses at a concentration of $1.4 \cdot 10^7$ RLU. The second group of birds received the same antigen in combination with Freund's incomplete adjuvant. The last 3 immunizations served as boost ones and the birds were injected with a mixture of VSV-GPΔMLDpopp and Lenti-GPΔMLD-DRC

ве рабдовирусной системы), а также гетерологичных GP MARV (Popp и DRC 2000). Известно, что присутствующий в составе GP муциноподобный домен филовирuсов способен негативно влиять на гуморальный иммунный ответ, направленный против MARV [19]. Поэтому для разработки иммуногена использовали варианты плазмид, в которых участок, кодирующий этот домен гликопротеина, удален. Во время иммунизации выбрано девять контрольных точек для оценки эффективности гуморального ответа: каждая через 19–20 дней после инъекции. Схема иммунизации представлена на рис. 1.

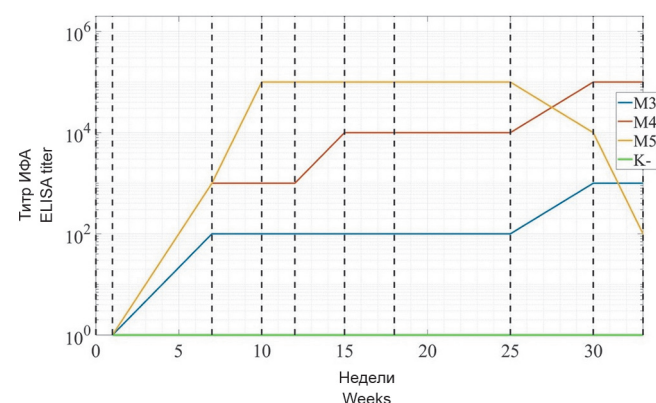


Рис. 2. Динамика накопления специфических антител против природного очищенного концентрированного инактивированного антигена вируса Марбург штамма Popp. Первая группа птиц:

Пунктирными линиями отмечены иммунизации. Синей линией обозначена курица М3, красной – М4, желтой – М5, зеленой – контрольная группа, иммунизированная физраствором. Титр ИФА выражен величиной, обратной разведению

Fig. 2. Dynamics of accumulation of specific antibodies against the natural purified concentrated inactivated antigen of the MARV Popp. The first group of birds:

Dotted lines indicate immunizations. The blue line indicates chicken M3, red – M4, yellow – M5, green – control group immunized with NaCl. The titer of ELISA is expressed as the reciprocal of the dilution

ИФА препаратов антител класса IgY, выделенных из желтков иммунизированных птиц, показал нарастание титров специфических антител. В первой группе титры специфических антител после последней иммунизации достигли значений от 1:100 до 1:100000. В образцах, полученных от птиц второй группы, титр антител оказался существенно выше и составил от 1:100000 до 1:1 млн (рис. 2, 3), что можно объяснить использованием адьюванта. Как следует из рис. 2 и 3, после четвертой иммунизации повышение титра специфических антител существенно затормозилось, поэтому решено провести

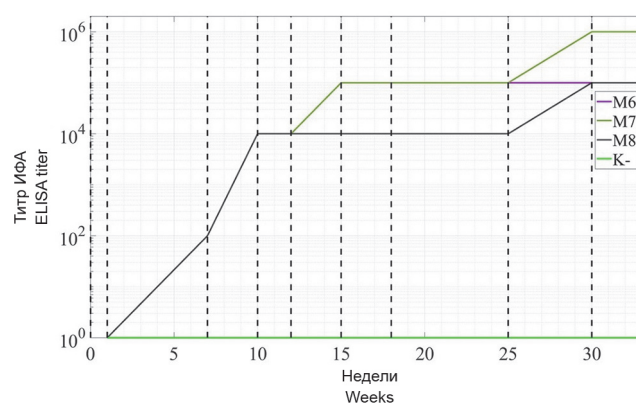


Рис. 3. Динамика накопления специфических антител против природного очищенного концентрированного инактивированного антигена вируса Марбург штамма Popp. Вторая группа птиц:

Пунктирными линиями отмечены даты иммунизации. Фиолетовой линией обозначена курица М6, зеленой – М7, черной – М8, светло-зеленой – контрольная неиммунизированная группа. Титр ИФА выражен величиной, обратной разведению

Fig. 3. Dynamics of accumulation of specific antibodies against the natural purified concentrated inactivated antigen of MARV Popp strain. The second group of birds:

Dotted lines indicate immunization dates. The violet line indicates chicken M6, green – M7, black – M8, light-green – control non-immunized group. The titer of ELISA is expressed as the reciprocal of the dilution

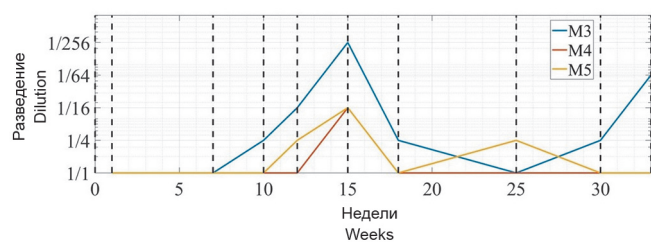


Рис. 4. Динамика накопления нейтрализующих антител. Первая группа птиц:

Пунктирными линиями отмечены даты иммунизации. Синей линией обозначена курица M3, красной – M4 и желтой – M5

Fig. 4. Dynamics of accumulation of neutralizing antibodies. The first group of birds:

Dotted lines indicate immunization dates. The blue line indicates the chicken M3, red – M4, and yellow – M5

бустирование при помощи гетерологичного иммуногена, представляющего собой смесь рабдовирусных и лентивирусных частиц. Это позволило добиться дополнительного увеличения титра специфических антител, за исключением одной птицы (M5) из первой группы, для которой наблюдался обратный эффект (рис. 2).

Анализ нейтрализующих антител при помощи гVSVΔG, экспонирующих GP MARV, выявил сходную картину (рис. 4–5). Пик нейтрализующих антител в обеих группах наблюдался после четвертой иммунизации, затем происходило снижение титров специфических антител. Введение гетерологического иммуногена стимулировало наработку нейтрализующих антител, однако этот эффект оказался нестабильным. Более стабильная наработка нейтрализующих антител наблюдается во второй группе птиц, иммунизированной по схеме с добавлением НАФ (рис. 5).

Интересно отметить, что рекомбинантный вирус осповакцины VACV-GP_{mus}, продуцирующий GP MARV в процессе вирусной репликации в виде неструктурного белка, не экспонированного на поверхности вирионов, не индуцировал образование вируснейтрализующих антител. Однако VACV-GP_{mus} эффективно «праймировал» синтез не нейтрализующих анти-MARV антител, выявляемых в ИФА. Нейтрализующие антитела детектировались уже после первой иммунизации рекомбинантным рабдовирусом VSV-GPΔMLD_{porr}, экспонирующим на поверхности вирионов GP_{porr} MARV. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости презентации GP MARV в виде мембранного поверхностного гликопротеина для повышения протективности вакцинации.

Анализ нейтрализующей активности в реакции ингибирования бляшкообразования с использованием натурального вируса Марбург штамма Porr показал наличие нейтрализующей активности антител в титрах от 1/8 до 1/16.

Таким образом, в ходе работы проведен сравнительный анализ иммуногенной активности анти-

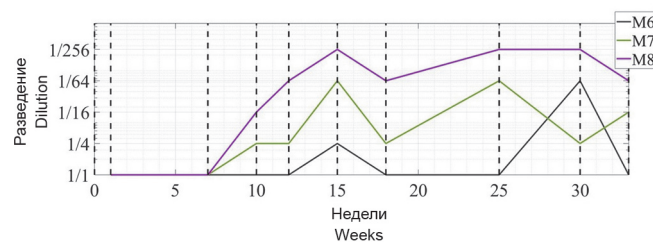


Рис. 5. Динамика накопления нейтрализующих антител. Вторая группа птиц:

Пунктирными линиями отмечены даты иммунизации. Черной линией обозначена курица M6, зеленой – M7 и фиолетовой – M8

Fig. 5. Dynamics of accumulation of neutralizing antibodies. The second group of birds:

Dotted lines indicate immunization dates. The black line indicates the chicken M6, green – M7 and purple – M8

генов на основе рекомбинантного вируса осповакцины, а также лентивирусной и рабдовирусной систем, представляющих собой псевдовирусные частицы, несущие на своей поверхности GP MARV (штампы Porr, DRC2000, Musoke). Определена наиболее эффективная схема иммунизации кур, стимулирующая наработку специфических антител класса IgY с титром в ИФА от 1:100 до 1:1 млн. Полученные IgY нейтрализуют псевдовирусы MARV (штампы Porr, DRC2000, Musoke) в разведении от 1/256 до 1/1024 и натуральный вирус MARV штамма Porr в разведении 1/8.

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

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00512 мол_а.

Список литературы

1. Geisbert T.W., Hensley L.E., Kagan E., Yu E.Z., Geisbert J.B., Daddario-DiCaprio K., Fritz E.A., Jahrling P.B., McClintock K., Phelps J.R., Lee A.C.H., Judge A., Jeffs L.B., MacLachlan I. Postexposure protection of guinea pigs against a lethal Ebola virus challenge is conferred by RNA interference. *J. Infect. Dis.* 2006; 193(12):1650–7. DOI: 10.1086/504267.
2. Enterlein S., Warfield K.L., Swenson D.L., Stein D.A., Smith J.L., Gamble C.S., Kroeker A.D., Iversen P.L., Bavari S., Mühlberger E. VP35 knockdown inhibits Ebola virus amplification and protects against lethal infection in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(3):984–93. DOI: 10.1128/AAC.50.3.984-993.2006.
3. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Nichols D.K., Pratt W.D., Blouch R., Stein D.A., Aman M.J., Iversen P.L., Bavari S. Gene-specific countermeasures against Ebola virus based on antisense phosphorodiamidate morpholino oligomers. *PLoS Pathog.* 2006; 2(1):e1. DOI: 10.1371/journal.ppat.0020001.
4. Sokolova A.S., Baranova D.V., Yarovaya O.I., Baev D.S., Tolstikova T.G., Salakhutdinov N.F., Polezhaeva O.A., Zybina A.V., Shcherbakov D.N. Synthesis of (1S)-(+)-camphor-10-sulfonic acid derivatives and investigations *in vitro* and *in silico* of their antiviral activity as the inhibitors of filovirus infections. *Russ. Chem. Bull.* 2019; 68(5):1041–6. DOI: 10.1007/s11172-019-2517-0.
5. Flyak A.I., Ilinykh P.A., Murin C.D., Garron T., Shen X., Fusco M.L., Hashiguchi T., Bornholdt Z.A., Slaughter J.C., Sappapapu G., Klages C., Ksiazek T.G., Ward A.B., Saphire E.O., Bukreyev A., Crowe J.E. Jr. Mechanism of human antibody-mediated neutralization of Marburg virus. *Cell.* 2015; 160(5):893–903. DOI: 10.1016/j.cell.2015.01.031.
6. Hevey M., Negley D., Geisbert J., Jahrling P., Schmaljohn A. Antigenicity and vaccine potential of Marburg virus glycoprotein expressed by baculovirus recombinants. *Virology.* 1997; 239(1):206–

16. DOI: 10.1006/viro.1997.8883.

7. Hevey M., Negley D., Pushko P., Smith J., Schmaljohn A. Marburg virus vaccines based upon alphavirus replicons protect guinea pigs and nonhuman primates. *Virology*. 1998; 251(1):28–37. DOI: 10.1006/viro.1998.9367.

8. Hevey M., Negley D., VanderZanden L., Tammariello R.F., Geisbert J., Schmaljohn C., Smith J.F., Jahrling P.B., Schmaljohn A.L. Marburg virus vaccines: comparing classical and new approaches. *Vaccine*. 2001; 20(3–4):586–93. DOI: 10.1016/S0264-410X(01)00353-X.

9. Ignatyev G.M., Agafonov A.P., Streltsova M.A., Kashentseva E.A. Inactivated Marburg virus elicits a nonprotective immune response in Rhesus monkeys. *J. Biotechnol.* 1996; 44(1–3):111–8. DOI: 10.1016/0168-1656(95)00104-2.

10. Dye J.M., Warfield K.L., Wells J.B., Unfer R.C., Shulenin S., Vu H., Nichols D.K., Aman M.J., Bavari S. Virus-like particle vaccination protects nonhuman primates from lethal aerosol exposure with Marburgvirus (VLP vaccination protects macaques against aerosol challenges). *Viruses*. 2016; 8(4):94. DOI: 10.3390/v8040094.

11. Daddario-DiCaprio K.M., Geisbert T.W., Geisbert J.B., Ströher U., Hensley L.E., Grolla A., Fritz E.A., Feldmann F., Feldmann H., Jones S.M. Cross-protection against Marburg virus strains by using a live, attenuated recombinant vaccine. *J. Virol.* 2006; 80(19):9659–66. DOI: 10.1128/JVI.00959-06.

12. Mire C.E., Geisbert J.B., Agans K.N., Satterfield B.A., Versteeg K.M., Fritz E.A., Feldmann H., Hensley L.E., Geisbert T.W. Durability of a vesicular stomatitis virus-based Marburg virus vaccine in nonhuman primates. *PLoS One*. 2014; 9(4):e94355. DOI: 10.1371/journal.pone.0094355.

13. Andris-Widhopf J., Rader C., Steinberger P., Fuller R., Barbas C.F. 3rd. Methods for the generation of chicken monoclonal antibody fragments by phage display. *J. Immunol. Methods*. 2000; 242(1–2):159–81. DOI: 10.1016/S0022-1759(00)00221-0.

14. Кочнева Г.В., Бабкина И.Н., Лупан Т.А., Гражданцева А.А., Юдин П.В., Сиволобова Г.Ф., Швалов А.Н., Попов Е.Г., Бакин И.В., Нетесов С.В., Чумаков П.М. Апоптин усиливает онколитическую активность вируса осповакцины *in vitro*. *Молекулярная биология*. 2013; 47(5):842–52. DOI: 10.7868/S0026898413050078.

15. Полежаева О.А., Щербakov Д.Н. Разработка панели псевдовиральных частиц, экспонирующих гликопротеин вируса Марбург. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017; 8-2:27–30. DOI: 10.23670/IRJ.2017.62.018.

16. Whitt M.A. Generation of VSV pseudotypes using recombinant ΔG-VSV for studies on virus entry, identification of entry inhibitors, and immune responses to vaccines. *J. Virol. Methods*. 2010; 169(2):365–74. DOI: 10.1016/j.jviromet.2010.08.006.

17. Hodek P., Trefil P., Simunek J., Hudecek J., Stiborova M. Optimized protocol of chicken antibody (IgY) purification providing electrophoretically homogenous preparations. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2013; 8:113–24.

18. Устинова Е.Н., Шестопалов А.М., Бакулина Л.Ф., Чепурнов А.А. Титрование вирусов Эбола и Марбург по бляшкообразованию под полужидким агаровым покрытием. *Вопросы вирусологии*. 2003; 48(1):43–4.

19. Hashiguchi T., Fusco M.L., Bornholdt Z.A., Lee J.E., Flyak A.I., Matsuoka R., Kohda D., Yanagi Y., Hammel M., Crowe J.E. Jr., Saphire E.O. Structural basis for Marburg virus neutralization by a cross-reactive human antibody. *Cell*. 2015; 160(5):904–12. DOI: 10.1016/j.cell.2015.01.041.

References

1. Geisbert T.W., Hensley L.E., Kagan E., Yu E.Z., Geisbert J.B., Daddario-DiCaprio K., Fritz E.A., Jahrling P.B., McClintock K., Phelps J.R., Lee A.C.H., Judge A., Jeffs L.B., MacLachlan I. Postexposure protection of guinea pigs against a lethal Ebola virus challenge is conferred by RNA interference. *J. Infect. Dis.* 2006; 193(12):1650–7. DOI: 10.1086/504267.

2. Enterlein S., Warfield K.L., Swenson D.L., Stein D.A., Smith J.L., Gamble C.S., Kroeker A.D., Iversen P.L., Bavari S., Mühlberger E. VP35 knockdown inhibits Ebola virus amplification and protects against lethal infection in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(3):984–93. DOI: 10.1128/AAC.50.3.984-993.2006.

3. Warfield K.L., Swenson D.L., Olinger G.G., Nichols D.K., Pratt W.D., Blouch R., Stein D.A., Aman M.J., Iversen P.L., Bavari S. Gene-specific countermeasures against Ebola virus based on antisense phosphorodiamidate morpholino oligomers. *PLoS Pathog.* 2006; 2(1):e1. DOI: 10.1371/journal.ppat.0020001.

4. Sokolova A.S., Baranova D.V., Yarovaia O.I., Baev D.S., Tolstikova T.G., Salakhutdinov N.F., Polezhaeva O.A., Zybikina A.V., Shcherbakov D.N. Synthesis of (1S)-(+)-camphor-10-sulfonic acid derivatives and investigations *in vitro* and *in silico* of their antiviral activity as the inhibitors of filovirus infections. *Russ. Chem. Bull.* 2019; 68(5):1041–6. DOI: 10.1007/s11172-019-2517-0.

5. Flyak A.I., Ilinykh P.A., Murin C.D., Garron T., Shen X., Fusco M.L., Hashiguchi T., Bornholdt Z.A., Slaughter J.C., Sapparapu G., Klages C., Ksiazek T.G., Ward A.B., Saphire E.O., Bukreyev A., Crowe J.E. Jr. Mechanism of human antibody-mediated neutralization of Marburg virus. *Cell*. 2015; 160(5):893–903. DOI: 10.1016/j.cell.2015.01.031.

6. Hevey M., Negley D., Geisbert J., Jahrling P., Schmaljohn A. Antigenicity and vaccine potential of Marburg virus glycoprotein expressed by baculovirus recombinants. *Virology*. 1997; 239(1):206–16. DOI: 10.1006/viro.1997.8883.

7. Hevey M., Negley D., Pushko P., Smith J., Schmaljohn A. Marburg virus vaccines based upon alphavirus replicons protect guinea pigs and nonhuman primates. *Virology*. 1998; 251(1):28–37. DOI: 10.1006/viro.1998.9367.

8. Hevey M., Negley D., VanderZanden L., Tammariello R.F., Geisbert J., Schmaljohn C., Smith J.F., Jahrling P.B., Schmaljohn A.L. Marburg virus vaccines: comparing classical and new approaches. *Vaccine*. 2001; 20(3–4):586–93. DOI: 10.1016/S0264-410X(01)00353-X.

9. Ignatyev G.M., Agafonov A.P., Streltsova M.A., Kashentseva E.A. Inactivated Marburg virus elicits a nonprotective immune response in Rhesus monkeys. *J. Biotechnol.* 1996; 44(1–3):111–8. DOI: 10.1016/0168-1656(95)00104-2.

10. Dye J.M., Warfield K.L., Wells J.B., Unfer R.C., Shulenin S., Vu H., Nichols D.K., Aman M.J., Bavari S. Virus-like particle vaccination protects nonhuman primates from lethal aerosol exposure with Marburgvirus (VLP vaccination protects macaques against aerosol challenges). *Viruses*. 2016; 8(4):94. DOI: 10.3390/v8040094.

11. Daddario-DiCaprio K.M., Geisbert T.W., Geisbert J.B., Ströher U., Hensley L.E., Grolla A., Fritz E.A., Feldmann F., Feldmann H., Jones S.M. Cross-protection against Marburg virus strains by using a live, attenuated recombinant vaccine. *J. Virol.* 2006; 80(19):9659–66. DOI: 10.1128/JVI.00959-06.

12. Mire C.E., Geisbert J.B., Agans K.N., Satterfield B.A., Versteeg K.M., Fritz E.A., Feldmann H., Hensley L.E., Geisbert T.W. Durability of a vesicular stomatitis virus-based Marburg virus vaccine in nonhuman primates. *PLoS One*. 2014; 9(4):e94355. DOI: 10.1371/journal.pone.0094355.

13. Andris-Widhopf J., Rader C., Steinberger P., Fuller R., Barbas C.F. 3rd. Methods for the generation of chicken monoclonal antibody fragments by phage display. *J. Immunol. Methods*. 2000; 242(1–2):159–81. DOI: 10.1016/S0022-1759(00)00221-0.

14. Кочнева Г.В., Бабкина И.Н., Лупан Т.А., Гражданцева А.А., Юдин П.В., Сиволобова Г.Ф., Швалов А.Н., Попов Е.Г., Бакин И.В., Нетесов С.В., Чумаков П.М. [Apoptin enhances the oncolytic activity of vaccinia virus *in vitro*]. *Молекулярная Биология [Molecular Biology]*. 2013; 47(5):842–52. DOI: 10.7868/S0026898413050078.

15. Polezhaeva O.A., Shcherbakov D.N. [Development of a panel of pseudoviral particles exhibiting the glycoprotein of the Marburg virus]. *Mezhdunarodny Nauchno-Issledovatel'sky Zhurnal [International Research Journal]*. 2017; 8-2:27–30. DOI: 10.23670/IRJ.2017.62.018.

16. Whitt M.A. Generation of VSV pseudotypes using recombinant ΔG-VSV for studies on virus entry, identification of entry inhibitors, and immune responses to vaccines. *J. Virol. Methods*. 2010; 169(2):365–74. DOI: 10.1016/j.jviromet.2010.08.006.

17. Hodek P., Trefil P., Simunek J., Hudecek J., Stiborova M. Optimized protocol of chicken antibody (IgY) purification providing electrophoretically homogenous preparations. *Int. J. Electrochem. Sci.* 2013; 8:113–24.

18. Устинова Е.Н., Шестопалов А.М., Бакулина Л.Ф., Чепурнов А.А. [Titration of Ebola and Marburg viruses by plaque formation under semi-liquid agar coating]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2003; 48(1):43–4.

19. Hashiguchi T., Fusco M.L., Bornholdt Z.A., Lee J.E., Flyak A.I., Matsuoka R., Kohda D., Yanagi Y., Hammel M., Crowe J.E. Jr., Saphire E.O. Structural basis for Marburg virus neutralization by a cross-reactive human antibody. *Cell*. 2015; 160(5):904–12. DOI: 10.1016/j.cell.2015.01.041.

Authors:

Polezhaeva O.A., Zybikina A.V., Zaikovskaya A.V., Pyankov O.V., Pyankov S.A., Semenova A.V., Kochneva G.V., Shcherbakov D.N. State Scientific Centre of Virology and Biotechnology "Vector". Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

Полежаева О.А., Зыбикина А.В., Зайковская А.В., Пьянков О.В., Пьянков С.А., Семенова А.В., Кочнева Г.В., Щербakov Д.Н. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-92-98

УДК 616.98:578.2

А.Ю. Попова^{1,2}, Е.Б. Ежлова¹, Ю.В. Демина¹, А.Н. Куличенко³, О.В. Малецкая³, А.Г. Рязанова³,
И.В. Кузнецова³, О.А. Гнусарева³, М.Е. Михайлова³, Ю.В. Сирица³, Е.А. Манин³, С.А. Портенко⁴,
Т.Ю. Красовская⁴, В.Е. Куклев⁴, Е.С. Казакова⁴, М.М. Данилевская⁵, М.В. Сафонова⁵, Н.В. Тельнова⁵,
С.М. Иванова⁵, А.А. Лопатин⁵

МОБИЛЬНЫЕ КОМПЛЕКСЫ СПЭБ РОСПОТРЕБНАДЗОРА КАК ДЕЙСТВЕННЫЙ ИНСТРУМЕНТ ПРИ РЕАЛИЗАЦИИ МЕРОПРИЯТИЙ ПО ПРОТИВОДЕЙСТВИЮ НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19

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

²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация;

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

⁴ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;

⁵ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

Для реализации оперативных мероприятий по противодействию COVID-19 в Российской Федерации с целью организации и проведения диагностических исследований активно задействованы мобильные комплексы специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) Роспотребнадзора (на базе автошасси). Анализ деятельности мобильных СПЭБ в Москве и Махачкале в наиболее сложный период негативного развития ситуации, роста заболеваемости и недостаточной готовности лабораторных баз к массовым исследованиям позволил сформулировать основные принципы организации их работы в этот период: тактика опережающих действий, гибкость использования потенциала мобильных комплексов СПЭБ, контроль выполнения противоконтаминационных мероприятий на всех этапах ПЦР-анализа и развитие консультативно-методического (образовательного) направления деятельности специалистов бригад. Использование мобильных СПЭБ Роспотребнадзора в очередной раз продемонстрировало их значение в качестве универсального инструмента противодействия эпидемиям инфекционных болезней.

Ключевые слова: мобильный комплекс СПЭБ, COVID-19, лабораторная диагностика, ПЦР.

Корреспондирующий автор: Малецкая Ольга Викторовна, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Для цитирования: Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Рязанова А.Г., Кузнецова И.В., Гнусарева О.А., Михайлова М.Е., Сирица Ю.В., Манин Е.А., Портенко С.А., Красовская Т.Ю., Куклев В.Е., Казакова Е.С., Данилевская М.М., Сафонова М.В., Тельнова Н.В., Иванова С.М., Лопатин А.А. Мобильные комплексы СПЭБ Роспотребнадзора как действенный инструмент при реализации мероприятий по противодействию новой коронавирусной инфекции COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:92–98. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-92-98

Поступила 22.10.20. Принята к публ. 20.11.20.

A.Yu. Popova^{1,2}, E.B. Ezhlova¹, Yu.V. Demina¹, A.N. Kulichenko³, O.V. Maletskaya³, A.G. Ryazanova³,
I.V. Kuznetsova³, O.A. Gnusareva³, M.E. Mikhailova³, Yu.V. Siritsa³, E.A. Manin³, S.A. Portenko⁴,
T.Yu. Krasovskaya⁴, V.E. Kuklev⁴, E.S. Kazakova⁴, M.M. Danilevskaya⁵, M.V. Safonova⁵,
N.V. Tel'nova⁵, S.M. Ivanova⁵, A.A. Lopatin⁵

Mobile Complexes of the Specialized Anti-Epidemic Teams (SAET) of the Rospotrebnadzor as an Effective Tool in the Implementation of Measures to Counter New Coronavirus Infection COVID-19

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

²Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation;

³Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation;

⁴Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

⁵Plague Control Center, Moscow, Russian Federation

Abstract. The mobile complexes of the specialized anti-epidemic teams (SAET) of the Rospotrebnadzor (mounted on the platform of auto chassis) have been actively involved in implementation of operational measures to counter COVID-19 in the Russian Federation, aimed at management and conducting of diagnostic studies. Analysis of the activities of mobile SAET in Moscow and Makhachkala made it possible to formulate the basic principles of organizing their work in the most difficult period of negative development of the situation, increasing incidence and insufficient readiness of laboratory bases for mass research: tactics of advance actions, flexibility in using the potential of SAET mobile complexes, monitoring over the implementation of anti-contamination measures at all stages of PCR analysis and the development of a consultative and methodological (training) aspects of activities of the team specialists. The use of mobile SAETs of the Rospotrebnadzor once again demonstrated their significance as a universal tool to counter epidemics of infectious diseases.

Key words: mobile complex of SAET, COVID-19, laboratory diagnostics, PCR.

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

Corresponding author: Olga V. Maletskaya, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Citation: Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Ryazanova A.G., Kuznetsova I.V., Gnusareva O.A., Mikhailova M.E., Siritsa Yu.V., Manin E.A., Portenko S.A., Krasovskaya T.Yu., Kuklev V.E., Kazakova E.S., Danilevskaya M.M., Safonova M.V., Tel'nova N.V., Ivanova S.M., Lopatin A.A. Mobile

Complexes of the Specialized Anti-Epidemic Teams (SAET) of the Rospotrebnadzor as an Effective Tool in the Implementation of Measures to Counter New Coronavirus Infection COVID-19. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:92–98. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-92-98

Received 22.10.20. Accepted 20.11.20.

Popova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4315-5307>
Kulichenko A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>
Maletskaya O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3003-4952>
Kuznetsova I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9513-0761>
Siritsa Yu.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9442-6966>

Сложившаяся в 2020 г. напряженная эпидемиологическая обстановка, связанная с распространением в Российской Федерации новой коронавирусной инфекции COVID-19 (вызванной вирусом тяжелого острого респираторного синдрома 2-го типа SARS-CoV-2, Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2), потребовала организации беспрецедентных мер предотвращения эпидемиологических последствий в условиях объявленной пандемии. Одной из первостепенных задач в комплексе противоэпидемических мероприятий являлось экстренное выявление больных COVID-19 и лиц с неманифестной формой заболевания, массовое обследование лиц, контактировавших с больными и/или прибывших из государств, неблагополучных по этой инфекции [1–3]. Для выполнения больших объемов исследований, требующих соблюдения усиленных мер по обеспечению биологической безопасности работ, задействованы мобильные комплексы специализированных противоэпидемических бригад Роспотребнадзора (МК СПЭБ) – автономно функционирующие формирования экстренного реагирования, укомплектованные современным диагностическим оборудованием. СПЭБ Роспотребнадзора ранее неоднократно использовались для решения задач по предупреждению и ликвидации чрезвычайных ситуаций в сфере санитарно-эпидемиологического благополучия населения, при проведении важных массовых мероприятий как на территории Российской Федерации, так и за ее пределами.

Поскольку первый и главный удар инфекции приняла на себя Москва, в рамках упреждающих действий по обеспечению необходимых объемов лабораторной диагностики COVID-19 на период экстренного перепрофилирования стационарной лабораторной базы ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора на массовые исследования и в соответствии с указанием Руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, в Москву направлен мобильный комплекс СПЭБ первого поколения ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора в составе четырех лабораторных модулей и группа высококвалифицированных специалистов, подготовленных к работе в условиях чрезвычайных ситуаций.

Работа СПЭБ на базе ФКУЗ «Противочумный центр». СПЭБ приступила к работе 15.03.2020. Все работы осуществлялись совместно со специалистами СПЭБ ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» и специалистами ФКУЗ «Противочумный центр», в даль-

нейшем – также со специалистами СПЭБ ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» и СПЭБ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт». Перед СПЭБ поставлена задача по организации на базе лабораторий МК СПЭБ ПЦР-диагностики COVID-19 с целью обеспечения мощности молекулярно-генетических исследований до 1500 проб в сутки материала от больных и пациентов с подозрением на COVID-19 из медицинских организаций Москвы, а также секционного материала.

Всю работу СПЭБ в Москве можно условно разделить на четыре этапа.

1 этап. Развертывание СПЭБ. Организация работы. На первом этапе решены следующие первоочередные задачи:

- бригада СПЭБ Ставропольского противочумного института, в соответствии с планом работ, полностью укомплектована высококвалифицированными специалистами, лабораторным оборудованием, диагностическими препаратами, переносным информационно-коммуникационным оборудованием и другим расходным имуществом;
- адаптирован порядок функционирования лабораторий МК СПЭБ к работе на базе развертывания с учетом включения в состав бригад специалистов Противочумного центра и РосНИПЧИ «Микроб»;
- разработана схема движения проб исследуемого материала и персонала;
- адаптированы рабочие инструкции для каждого этапа лабораторной диагностики;
- обеспечена биологическая безопасность личного состава и окружающей среды;
- разработан порядок взаимодействия СПЭБ с другими организациями лабораторно-диагностической и лечебно-профилактической сети.

На выделенной территории ФКУЗ «Противочумный центр» в течение 6 ч проведено развертывание МК СПЭБ в составе четырех лабораторных модулей на базе автошасси: индикационная, бактериологическая, санитарно-гигиеническая лаборатории и лаборатория поддержки бактериологических исследований. Место дислокации модулей, маршруты движения ПБА и персонала обозначены как «зона строгого противоэпидемического режима», вход на территорию ограничен сигнальной лентой.

В помещениях здания Противочумного центра организованы:

- штаб для координации всей работы;
- прием и временное хранение транспортировочных контейнеров с пробами;

- хранение расходных материалов и реагентов, санитарный пропускник, гардероб и помещение для отдыха сотрудников.

При участии Департамента здравоохранения города Москвы организованы и обеспечены необходимым техническим оборудованием 14 рабочих мест для регистрации поступающих проб в системе ЕМИАС и последующего внесения результатов исследований. Для проведения данной работы задействованы специалисты Противочумного центра, ФБУН НИИ дезинфектологии Роспотребнадзора, ФБУН ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана, ГБУ МФЦ города Москвы.

II этап. Выполнение на базе СПЭБ всего комплекса лабораторных исследований методом ПЦР. Материал для исследования в контейнерах, биксах или сумках-холодильниках передавали в лабораторию индикации (блок для работы с инфицированным материалом), где осуществляли разбор и кодирование, первичную подготовку и обеззараживание проб для последующего исследования методом ПЦР в режиме реального времени. Для проведения молекулярно-генетических исследований перепрофилированы бактериологическая и санитарно-гигиеническая лаборатории, а также блок для работы с обеззараженным материалом индикационной лаборатории. При этом в бактериологической и санитарно-гигиенической лабораториях оборудованы рабочие места по экстракции нуклеиновых кислот из обеззараженного материала и рабочие места по проведению обратной транскрипции и ПЦР, на базе индикационной лаборатории – рабочее место по проведению обратной транскрипции и ПЦР.

Для проведения ПЦР в реальном времени использовали амплификаторы роторного типа Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH, Германия): два – в индикационной лаборатории (блок для работы с обеззараженным материалом) и два – в санитарно-гигиенической лаборатории. Дополнительно индикационная, бактериологическая и санитарно-гигиеническая лаборатории оснащены амплификатором планшетного типа CFX 96 (BioRad, США) и термоциклерами «Терцик» (ООО «НПО ДНК-технология», Россия) для проведения реакции обратной транскрипции.

Исходно СПЭБ обеспечена наборами реагентов, расходными материалами, средствами индивидуальной защиты, дезинфицирующими средствами для работы в течение одной недели. В дальнейшем по мере необходимости расходными материалами и дополнительным оборудованием обеспечивал ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора.

Для защиты персонала и окружающей среды в лабораторных модулях МК СПЭБ задействованы типовые инженерно-технические системы биологической безопасности уровня BSL 3, включающие:

- автономную приточную и вытяжную системы вентиляции, оборудованные фильтрами очистки воздуха класса HEPA и системой постоянного контроля и поддержания отрицательного давления в «заразной» зоне каждой мобильной лаборатории;

- санпропускники с душем и взаимоблокировкой дверей;

- бактерицидные облучатели рециркуляторного и открытого типа;

- БМБ II и III класса для обеспечения безопасности работ с инфицированным материалом.

Обеззараживание отходов осуществляли в лаборатории поддержки бактериологических исследований методом автоклавирования.

Работа проводилась в круглосуточном трехсменном режиме без выходных, среднесуточная мощность составила 750 исследований.

Полученные результаты ПЦР (внутренние протоколы) на бумажных носителях передавались в штаб, где формировалась единая база данных результатов исследований. Далее информация размещалась в Единой медицинской информационно-аналитической системе г. Москвы (ЕМИАС).

За период работы с 15.03.2020 по 20.03.2020 в МК СПЭБ проведено 3663 исследования методом ПЦР, генетические маркеры коронавируса SARS-CoV-2 детектированы в 162 пробах клинического материала.

В связи с резким увеличением объема поступающего на исследование материала на фоне ухудшения эпидемиологической обстановки, перепрофилированием стационарных лабораторий Противочумного центра, включением в единую бригаду специалистов других противочумных институтов и учреждений Роспотребнадзора, с 21.03.2020 алгоритм использования МК СПЭБ изменен.

III этап. Выполнение на базе модулей СПЭБ этапов выделения РНК и ПЦР с проведением пробоподготовки на стационарной базе ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора. С 21.03.2020 по 04.04.2020 с целью обеспечения биологической безопасности и деконтаминационного режима этапы разбора, пробоподготовки, обеззараживания материала и выделения РНК осуществляли на стационарной базе ФКУЗ «Противочумный центр». Работу с необеззараженным материалом проводили в специализированном блоке максимальной защиты Центра, далее обеззараженный материал поступал через передаточный шлюз в оборудованные стационарные помещения, в которых организованы рабочие места для проведения экстракции РНК из биологического материала. В МК СПЭБ проводили постановку обратной транскрипции и ПЦР. Для проведения ПЦР на данном этапе привлекались и сотрудники консультационно-диагностического центра ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского». Всего за данный период исследовано 21530 проб биологического материала, из них в 1218 пробах выявлена РНК коронавируса SARS-CoV-2. Среднесуточная мощность лабораторий МК СПЭБ, с учетом частичного задействования стационарной лабораторной базы Противочумного центра, составила 1500 проб.

IV этап. Резервирование мощностей мобильных модулей СПЭБ и организация работы всех специалистов на стационарной базе Противочумного центра. С 04.04.2020 все этапы лабораторной диагностики осуществлялись в стационарных помещениях Противочумного центра. Движение материала организовано с соблюдением принципов поточности с территориальным разобщением каждого этапа ПЦР-анализа.

Благодаря увеличению числа специалистов и организации работ в трехсменном режиме мощность лаборатории увеличилась до 3000–3500 проб в сутки. Повышению производительности лаборатории также способствовал переход с ручного выделения нуклеиновых кислот из биологического материала на экстракцию с помощью шести автоматических станций KingFisher (Thermo Fisher Scientific, США), позволивший увеличить пропускную способность участка выделения нуклеиновых кислот.

Всего за период с 15.03.2020 по 04.04.2020 (21 день) проведено 25193 исследования клинического и аутопсийного материала методом ПЦР. В работе объединенной бригады приняли участие 11 специалистов Противочумного центра, 15 – Ставропольского НИПЧИ, 32 – РосНИПЧИ «Микроб», 22 – Ростовского-на-Дону НИПЧИ, 12 – Волгоградского НИПЧИ, 5 – ФБУН МНИЭМ им. Г.Н. Габричевского. Всего в проведении лабораторных исследований на новую коронавирусную инфекцию методом ПЦР на базе ФКУЗ «Противочумный центр» с 15.03.2020 по 01.09.2020 при посменной работе задействовано более 250 человек из 7 учреждений Роспотребнадзора: 23 специалиста Противочумного центра, 29 – Став-

ропольского НИПЧИ, 71 – РосНИПЧИ «Микроб», 92 – Ростовского-на-Дону НИПЧИ, 31 – Волгоградского НИПЧИ, 13 – ФБУН МНИЭМ им. Г.Н. Габричевского, 3 – ФБУН ЦНИИ эпидемиологии. За данный период работы проведено более 195 тыс. исследований клинического и аутопсийного материала методом ПЦР, получено более 50 тыс. положительных результатов (рис. 1).

Таким образом, организация лабораторной диагностики COVID-19 на базе лабораторий МК СПЭБ Роспотребнадзора позволила выполнять до 750 исследований методом ПЦР в сутки. Гибкий алгоритм работы, предусматривающий динамичное профильное задействование лабораторий МК СПЭБ и стационарных лабораторий Центра, позволил увеличить мощность до 3500 исследований в сутки.

Работа специалистов СПЭБ ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» в Республике Дагестан. В апреле 2020 г. в связи с серьезным осложнением эпидемической ситуации по COVID-19 в Республике Дагестан с целью оказания помощи в организации и проведении диагностических исследований в республику в соответствии с письмом руководителя Роспотребнадзора от 23.04.2020 № 02/7817-2020-26 направлена группа из пяти специалистов СПЭБ ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт». Группа работала на базе ФКУЗ «Дагестанская противочумная станция» (Махачкала) с 19.04.2020 по 19.05.2020. Специалисты СПЭБ осуществляли все этапы ПЦР-анализа. Организован и ежедневно производился отбор респираторных мазков у лиц по показаниям.

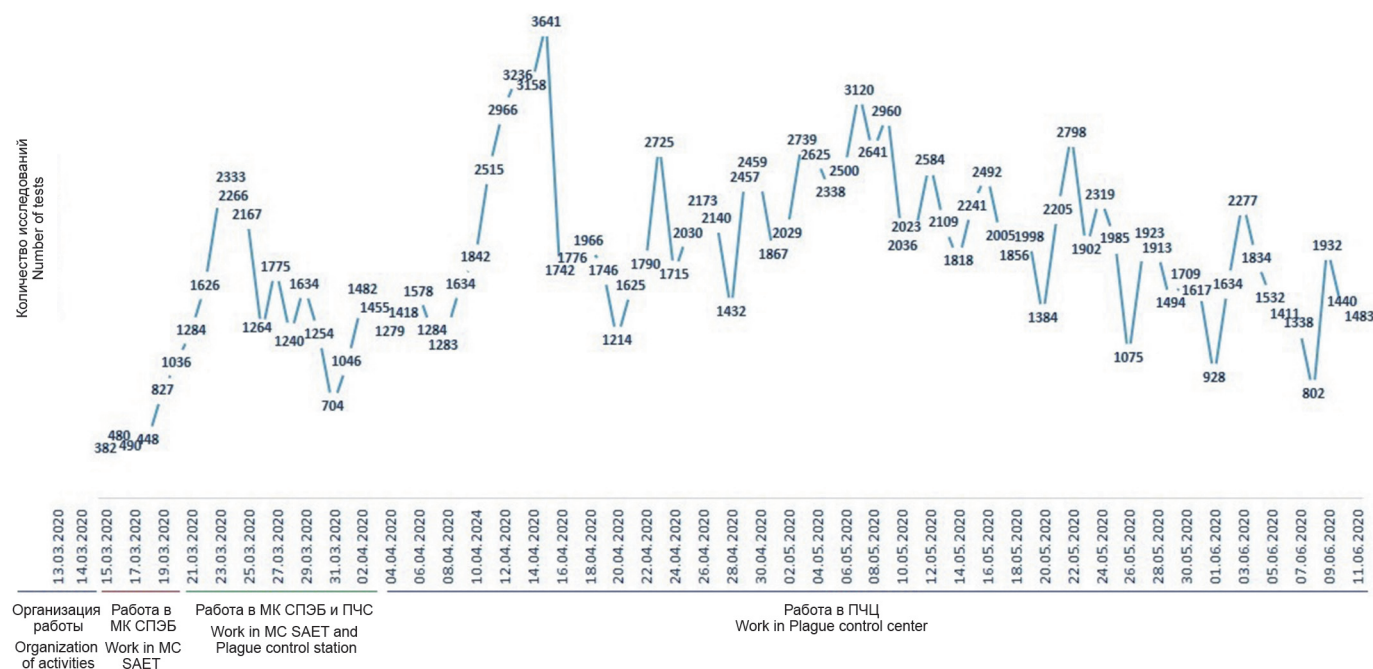


Рис. 1. Количество исследований (ПЦР-анализ) по диагностике COVID-19, выполненных на базе ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора в марте–июне 2020 г.

Fig. 1. The number of studies (PCR analysis) for the diagnosis of COVID-19, performed at the premises of Plague Control Center in March – June 2020

В связи с дальнейшим ухудшением ситуации по новой коронавирусной инфекции в Республике Дагестан в апреле–мае 2020 г., значительным ослаблением потенциала местной лабораторной службы из-за заболевания COVID-19 сотрудников учреждений Роспотребнадзора, в соответствии с приказом руководителя Роспотребнадзора от 20.05.2020 № 278 в Махачкалу направлен МК СПЭБ ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» второго поколения в составе двух лабораторий на автошасси: индикационной и бактериологической.

Работа на базе мобильных комплексов СПЭБ в Республике Дагестан осуществлялась в период с 20.05.2020 по 16.06.2020 с учетом опыта работы в Москве. Однако перед СПЭБ поставлен более широкий круг задач, включающий, кроме организации и проведения лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции, следующие мероприятия:

- проведение инструктажей сотрудников медицинских учреждений Республики Дагестан по соблюдению режима безопасности работ с клиническим материалом и при проведении лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции;

- обучение специалистов учреждений Роспотребнадзора Республики Дагестан диагностике COVID-19 методом ПЦР;

- оказание консультативно-методической помощи медицинским учреждениям Республики Дагестан по организации лабораторной диагностики COVID-19.

Всего задействованы 14 сотрудников ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», включая инженеров. Бригада оснащена двумя линиями оборудования для ПЦР-исследований с детекцией результатов в формате реального времени, диагностическими наборами, расходными материалами, средствами индивидуальной защиты, дезинфектантами в полном объеме.

МК СПЭБ развернут на территории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Дагестан» (Махачкала). В индикационной лаборатории МК СПЭБ проводились разбор, кодировка, обеззараживание проб клинического материала, работа первой ПЦР-линии (экстракция РНК, обратная транскрипция, ПЦР), в бактериологической лаборатории МК СПЭБ функционировала вторая линия ПЦР. Специалисты СПЭБ также осуществляли диагностические исследования на стационарной базе бактериологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Дагестан», дополнительно оснащенной вспомогательным оборудованием СПЭБ, и задействованы на этапах выделения РНК, обратной транскрипции, ПЦР.

Диагностическая работа. За период с 20.04.2020 по 18.05.2020 специалистами СПЭБ исследовано 6026 проб клинического материала, получено 1946 положительных результатов, из них 1912 – первично положительных. Среднее количество исследований составляло 200 проб в день, доля первичных положительных результатов в среднем равнялась 31,42 %, в отдельные дни достигая 45–57 % (рис. 2). За данный период количество исследований СПЭБ составило 22 % от общего числа анализов по диагностике COVID-19 в Республике Дагестан, доля положительных результатов – 58 % от совокупного количества полученных положительных тестов в республике.

В период с 24.05.2020 по 16.06.2020 специалистами СПЭБ в лабораториях МК СПЭБ и бактериологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Дагестан» исследовано 14979 проб клинического материала, получено 1600 положительных результатов. По сравнению с периодом работы с 20.04.2020 по 18.05.2020, при возросшем более чем в 3 раза количестве исследований в день (в среднем свыше 600 тестов в день), доля полученных положительных результатов уменьшилась втрое, составляя в среднем 10,73 % (рис. 3).

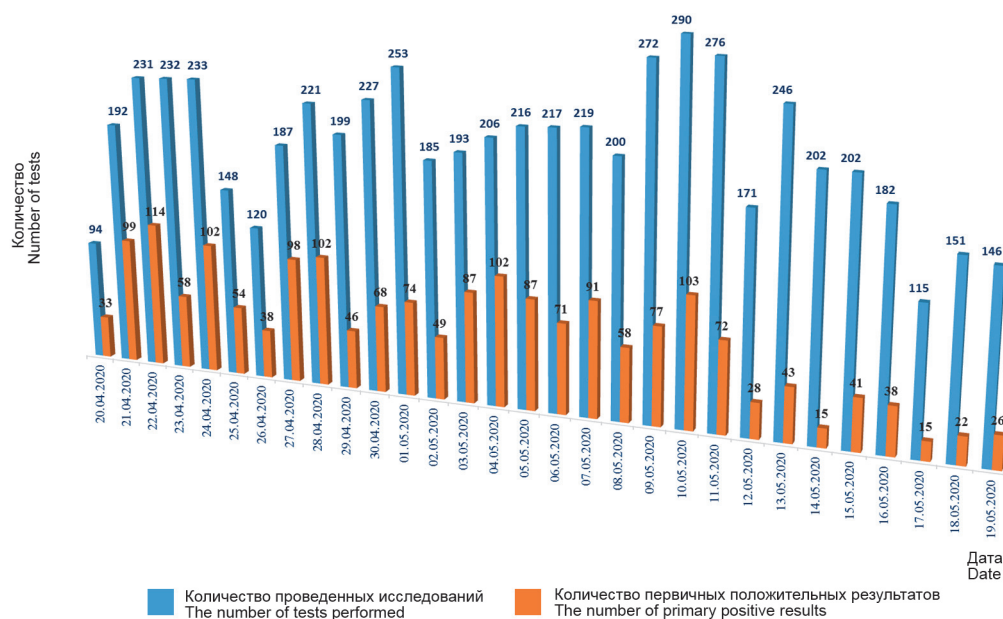


Рис. 2. Количество и результаты анализов по лабораторной диагностике COVID-19 (ПЦР), выполненных СПЭБ ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора в Республике Дагестан с 20.04.2020 по 19.05.2020

Fig. 2. The number and results of tests for laboratory diagnosis of COVID-19 (PCR) performed by the SAET of the Stavropol Research Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor in the Dagestan Republic between April 20, 2020 and May 19, 2020

Кроме первичной ПЦР-диагностики COVID-19, СПЭБ осуществляла функции референс-лаборатории по верификации результатов исследований, проведенных в ООО «Единая клинико-диагностическая лаборатория» (Буйнакск), лабораторных отделениях мобильного многопрофильного полевого госпиталя воинской части № 74814 (Буйнакск) и мобильного многопрофильного полевого госпиталя, развернутого в н.п. Ботлих.

Всего за весь период работы с 20.04.2020 по 16.06.2020 специалистами СПЭБ исследовано 21005 проб клинического материала, получено 3546 положительных результатов. Количество анализов, проведенных СПЭБ, составило 19 % от общего числа исследований по ПЦР-диагностике новой коронавирусной инфекции в Республике Дагестан за данный период, доля положительных результатов – 54 %.

Также оказана консультативно-методическая помощь с проведением обучающих занятий для персонала четырех организаций Роспотребнадзора и четырех учреждений Минздрава Республики Дагестан (Махачкала, Буйнакск, Кизляр). Проведен инструктаж по соблюдению режима безопасности работ с клиническим материалом при проведении лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции, обучение методикам отбора респираторных мазков, разбора, пробоподготовки и обеззараживания проб клинического материала, экстракции РНК, проведения реакции обратной транскрипции, постановки ПЦР и интерпретации полученных результатов при ПЦР-диагностике COVID-19.

Таким образом, СПЭБ Роспотребнадзора выполнила не только поставленные задачи по лабораторной диагностике опасной инфекционной болезни, но и задачи по обучению специалистов республики методам выявления нуклеиновых кислот вируса SARS-CoV-2 с помощью ПЦР, организации работ

и соблюдению требований режима биологической безопасности.

Работа мобильных комплексов СПЭБ Роспотребнадзора (на базе автошасси) при реализации мероприятий по противодействию новой коронавирусной инфекции COVID-19 в Москве и Махачкале осуществлялась в наиболее сложный период негативного развития ситуации, роста заболеваемости и недостаточной готовности лабораторных баз. Во всех случаях использованы форматы как автономного функционирования, так и во взаимодействии со стационарными лабораториями.

Анализ деятельности СПЭБ позволяет сформулировать основные принципы организации их работы в этот период:

1. Тактика опережающих действий на основе прогноза ситуации в конкретном регионе, расчета потребности в кадровых и материальных ресурсах на основе накопленного опыта работы СПЭБ при крупных вспышках и массовых обследованиях.

2. Гибкая тактика использования потенциала мобильных комплексов СПЭБ: в режиме автономной работы и во взаимодействии со стационарными лабораториями учреждений Роспотребнадзора.

3. Дифференцированный подход к организации каждого этапа с целью обеспечения максимальной эффективности и производительности работ.

4. Оперативная и эффективная организация работы объединенных бригад специалистов из различных учреждений Роспотребнадзора за счет унифицированной структуры МК СПЭБ.

5. Усиленный контроль и анализ данных на этапе учета и выдачи результатов ПЦР-исследования с целью правильной интерпретации ПЦР и исключения выдачи ложноположительных ответов, риск получения которых возрастает при больших объемах тестирования.

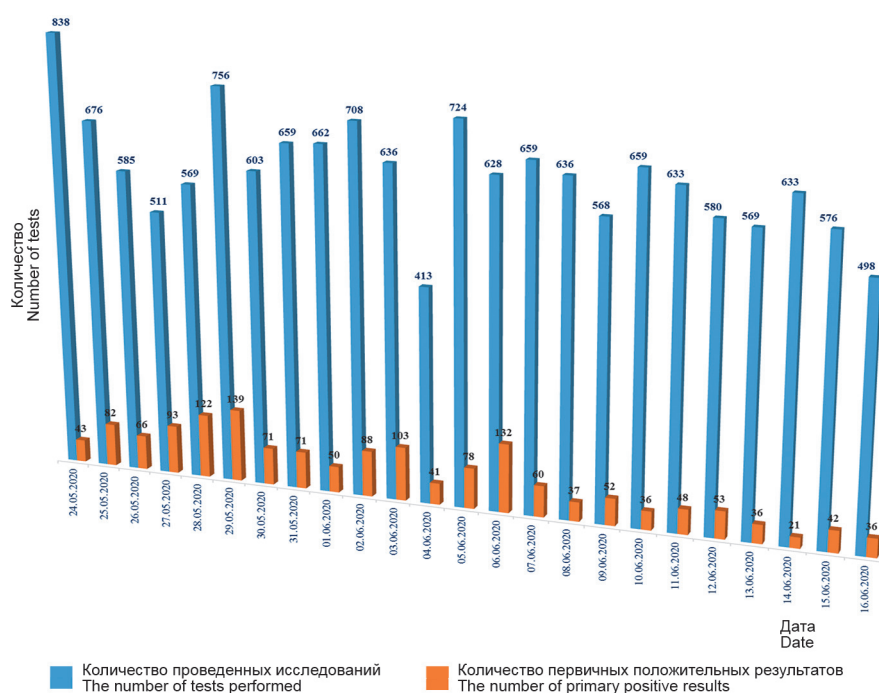


Рис. 3. Количество и результаты анализов по лабораторной диагностике COVID-19 (ПЦР), выполненных СПЭБ ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора в Республике Дагестан с 24.05.2020 по 16.06.2020

Fig. 3. The number and results of tests for laboratory diagnosis of COVID-19 (PCR) performed by the SAET of Stavropol Research Anti-Plague Institute in the Dagestan Republic between May 24, 2020 and June 16, 2020

6. Усиленный контроль деконтаминационных мероприятий на этапах выделения нуклеиновых кислот, проведения обратной транскрипции и ПЦР в соответствии с действующими нормативно-методическими документами («контроль контроля») для обеспечения бесперебойной работы лабораторий в условиях высокой поточности.

7. Дальнейшее развитие консультативно-методического (образовательного) направления деятельности специалистов бригад как важного инструмента повышения уровня диагностических исследований в регионе и инструмента межведомственного взаимодействия.

Тактика эпидемиологического мониторинга COVID-19 в Российской Федерации, основанная на поэтапном расширении сети диагностических лабораторий, тотальном контроле точности лабораторной диагностики на первых этапах пандемии, обеспечение лабораторных баз отечественными лабораторными реагентами способствовали высокому качественному и количественному уровню диагностики, своевременному выявлению бессимптомных форм.

Очевидно, что именно современные научно-методические подходы к решению этой проблемы, полноценное использование имеющейся технологической базы позволили добиться необходимых результатов по защите населения Российской Федерации от новой коронавирусной инфекции COVID-19.

Использование мобильных СПЭБ Роспотребнадзора в очередной раз продемонстрировало их роль в качестве универсального инструмента противодействия эпидемиям инфекций как бактериальной, так и вирусной природы.

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

Список литературы

1. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. COVID-19 коронавирус. Информация для граждан. [Электронный ресурс]. URL: https://www.rosпотребнадзор.ru/about/info/news_time/news_details.php?ELEMENT_ID=13566 (дата обращения 14.10.2020).
2. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербак С.А. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 1: Модели реализации профилактических и противоэпидемических мероприятий. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 1:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.
3. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербак С.А. Эпидемиологические особенности новой коро-

навирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 2: Особенности течения эпидемического процесса COVID-19 во взаимосвязи с проводимыми противоэпидемическими мероприятиями в мире и Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:6–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12.

References

1. [Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. COVID-19 Coronavirus. Information for citizens]. (Cited 15 June 2020). [Internet]. Available from: https://www.rosпотребнадзор.ru/about/info/news_time/news_details.php?ELEMENT_ID=13566.
2. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. [Epidemiological Features of New Coronavirus Infection (COVID-19). Communication 1: Modes of Implementation of Preventive and Anti-Epidemic Measures]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 1:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.
3. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. [Epidemiological Features of New Coronavirus Infection (COVID-19). Communication 2: Peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 2:6–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12.

Authors:

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

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

Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Ryazanova A.G., Kuznetsova I.V., Gnusareva O.A., Mikhailova M.E., Sirtsa Yu.V., Manin E.A. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Portenko S.A., Krasovskaya T.Yu., Kuklev V.E., Kazakova E.S. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Danilevskaya M.M., Safoanova M.V., Tel'nova N.V., Ivanova S.M., Lopatin A.A. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nl.n.ru.

Об авторах:

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

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

Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Рязанова А.Г., Кузнецова И.В., Гнусарева О.А., Михайлова М.Е., Сирца Ю.В., Манин Е.А. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Портенко С.А., Красовская Т.Ю., Куклев В.Е., Казакова Е.С. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Данилевская М.М., Сафонова М.В., Тельнова Н.В., Иванова С.М., Лопатин А.А. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nl.n.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105

УДК 616.98:578.2

А.Ю. Попова^{1,2}, Е.Б. Ежлова¹, Ю.В. Демина^{1,2}, А.К. Носков³, Е.В. Ковалев⁴, О.С. Чемисова³,
Т.И. Твердохлебова⁵, Н.В. Павлович³, С.О. Водопьянов³, М.В. Цимбалистова³, Н.Е. Гаевская³,
С.Ф. Воловикова³, С.И. Стенина³, Е.Н. Гудуева³, М.М. Сагакянц³, А.В. Алешукина⁵, С.С. Слись⁴

ОСОБЕННОСТИ ЭТИОЛОГИИ ВНЕБОЛЬНИЧНЫХ ПНЕВМОНИЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С COVID-19

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

²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация;

³ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

⁴Управление Роспотребнадзора по Ростовской области, Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ⁵ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Цель исследования – сравнительное изучение этиологической структуры внебольничных пневмоний у SARS-CoV-2 «+» и SARS-CoV-2 «-» больных, обратившихся за помощью в медицинские организации Ростовской области. **Материалы и методы.** Исследовали биологический материал (мазки из носоглотки и мокроту) от 508 пациентов с диагнозом «внебольничная пневмония», находившихся на амбулаторном лечении или в стационарах г. Ростова-на-Дону. Верификация респираторных вирусов, включая РНК SARS-CoV-2, а также *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila* выполнена методом полимеразной цепной реакции в мазках носоглотки (n=508). Бактериологический анализ мокроты проводили с использованием дифференциально-диагностических сред, идентификацию выделенных патогенов осуществляли с помощью времяпролетной масс-спектрометрии на приборе Autoflex (Bruker Daltonics, Германия) с программным обеспечением BioTyper 3.0. **Результаты и обсуждение.** В период распространения новой коронавирусной инфекции в Ростовской области основным этиологическим агентом внебольничных пневмоний является новый коронавирус SARS-CoV-2. Особенностью внебольничных пневмоний (ВП) у пациентов с лабораторно подтвержденным COVID-19 является более высокая частота микст-инфекций как вирусной, так и бактериальной этиологии. На фоне выявления у пациентов с ВП РНК SARS-CoV-2 зарегистрированы случаи обнаружения коронавирусов других типов (HKU-1, OC43, NL-63 или 229E). Наиболее часто этиологическим агентом ВП бактериальной природы являлись бактерии рода *Streptococcus* как у пациентов с ВП, ассоциированной с COVID-19, так и у пациентов с отрицательным результатом на SARS-CoV-2. Коронавирусные больные представляют группу высокого риска по развитию микотических поражений легких.

Ключевые слова: COVID-19, внебольничная пневмония, виды бактерий, респираторные вирусы, Ростовская область.

Корреспондирующий автор: Носков Алексей Кимович, e-mail: plague@aaanet.ru.

Для цитирования: Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Чемисова О.С., Твердохлебова Т.И., Павлович Н.В., Водопьянов С.О., Цимбалистова М.В., Гаевская Н.Е., Воловикова С.Ф., Стенина С.И., Гудуева Е.Н., Сагакянц М.М., Алешукина А.В., Слись С.С. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:99–105. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105

Поступила 01.12.20. Принята к публ. 23.12.20.

A.Yu. Popova^{1,2}, E.B. Ezhlova¹, Yu.V. Demina^{1,2}, A.K. Noskov³, E.V. Kovalev⁴, O.S. Chemisova³,
T.I. Tverdokhlebova⁵, N.V. Pavlovich³, S.O. Vodopyanov³, M.V. Tsimbalistova³, N.E. Gaevskaya³,
S.V. Volovikova³, S.I. Stenina³, E.N. Gudueva³, M.M. Sagakyants³, A.V. Aleshukina⁵, S.S. Slis⁴

Features of Etiology of Community-Acquired Pneumonia Associated with COVID-19

¹Federal Service for Surveillance on Consumer's Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation;

²Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation;

³Rostov-on-Don Anti-Plague Research Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

⁴Rospotrebnadzor Administration in the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russian Federation;

⁵Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. Objective: comparative study of the etiological structure of community-acquired pneumonia in SARS-CoV-2 “+” and SARS-CoV-2 “-” patients who sought help from medical organizations in the Rostov Region. **Materials and methods.** Biological material from 508 patients diagnosed with community-acquired pneumonia who were on outpatient treatment or in hospitals in Rostov-on-Don was studied. Verification of respiratory viruses, including SARS-CoV-2 RNA, as well as *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae*, and *L. pneumophila* was performed by polymerase chain reaction in nasopharyngeal smears. Bacteriological analysis of sputum was carried out using differential diagnostic media, identification of isolated pathogens was carried out using time-of-flight mass spectrometry on Autoflex (Bruker Daltonics) with BioTyper 3.0 software. **Results and discussion.** During the spread of a new coronavirus infection in the Rostov Region, the main etiological agent of community-acquired pneumonia is the new SARS-CoV-2 coronavirus. Specific character of pneumonia in patients with laboratory-confirmed COVID-19 is a higher incidence of mixed infection of both viral and bacterial etiology. Against the background of detection of a new coronavirus infection in patients with pneumonia, cases of detection of other types of coronaviruses have been registered (HKU-1, OC43, NL-63 and 229E). The most common etiological agent of bacterial pneumonia in patients was *Streptococcus spp.*, both in patients with COVID-19-associated

pneumonia and in patients who tested negative for SARS-CoV-2. Coronavirus patients represent a high risk group for the development of mycotic lung lesions.

Key words: COVID-19, community-acquired pneumonia, types of bacteria, respiratory viruses, Rostov Region.

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

Corresponding author: Aleksey K. Noskov, e-mail: plague@aanet.ru.

Citation: Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Noskov A.K., Kovalev E.V., Chemisova O.S., Tverdokhlebova T.I., Pavlovich N.V., Vodopyanov S.O., Tsimbalistova M.V., Gaevskaya N.E., Volovikova S.V., Stenina S.I., Gudueva E.N., Sagakyants M.M., Aleshukina A.V., Slis' S.S. Features of Etiology of Community-Acquired Pneumonia Associated with COVID-19. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:99–105. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105

Received 01.12.20. Accepted 23.12.20.

Popova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4315-5307>
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>
Kovalev E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0840-4638>
Chemisova O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>
Tverdokhlebova T.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3912-0291>
Pavlovich N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8287-4294>
Vodopyanov S.O., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>
Tsimbalistova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4091-649X>

Gaevskaya N.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0762-3628>
Volovikova S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3064-8177>
Stenina S.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4879-6717>
Gudueva E.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6114-9891>
Sagakyants M.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8235-3288>
Aleshukina A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9797-2441>
Slis' S.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2649-8949>

Внебольничные пневмонии (ВП) представляют серьезную проблему инфекционной патологии человека и являются одной из ведущих причин смерти от инфекционных болезней. Внебольничная пневмония – острое заболевание, возникшее во внебольничных условиях (вне стационара или позднее 4 недель после выписки из него), сопровождающееся симптомами инфекции нижних отделов дыхательных путей [1]. Согласно данным статистических материалов Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Форма 2) за 2019 г., заболеваемость ВП в РФ в 2018 г. составила 492,2 на 100 тыс. населения, что на 19,1 % выше по сравнению с 2017 г. Ведущими возбудителями ВП являются *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, бактерии семейства *Enterobacteriaceae* – *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* и др., *Staphylococcus aureus* [1]. К известным атипичным бактериальным возбудителям ВП относятся такие микроорганизмы, как *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Chlamydophila psittaci* и *Coxiella burnetii* [2]. Такие условно патогенные бактерии – представители резидентной микрофлоры носоглотки человека, как *Streptococcus viridans*, коагулазанегативные стафилококки, *Enterococcus spp.*, *Neisseria spp.*, *Candida spp.*, могут иметь этиологическое значение только при их неконтролируемом размножении на фоне резкого снижения иммунного статуса организма. Их выделение в незначительных количествах из мокроты у пациентов без выраженного иммунодефицита с высокой степенью вероятности может свидетельствовать о контаминации материала микрофлорой верхних отделов дыхательных путей. Возбудителями ВП могут быть и респираторные вирусы, наиболее часто – вирусы гриппа, коронавирусы, риносинцитиальный вирус (РС-вирус), метапневмовирус и бокавирус человека [1]. При ВП может иметь место ко-инфекция двумя и более возбудителями, вызванная как ассоциацией различных бактериальных возбудителей, так и их сочетанием с респираторными вирусами. Частота встречаемости ВП, вызванной ассоциацией возбудителей, варьирует от 3 до 40 % [3].

Пандемия новой коронавирусной инфекции сопровождается высоким уровнем заболеваемости ВП, с большой долей осложненных и затяжных случаев. Известно, что вирусы вызывают нарушения работы иммунной системы, что делает людей более восприимчивыми к другим патогенам [4]. G. Zahariadis *et al.* в 2006 г., основываясь на результатах серологических исследований пациентов, перенесших ОРВИ, выявили случаи острой или недавней инфекции *S. pneumoniae* (30 %) или *M. pneumoniae* (9 %) [5]. Многоцентровое ретроспективное когортное исследование пациентов с тяжелым течением Ближневосточного респираторного синдрома, вызванного коронавирусом (БВРС-КоВ), показало, что 18 и 5 % имели бактериальные и вирусные ко-инфекции соответственно [6].

Предыдущие исследования показали, что коронавирус наносит серьезный удар по иммунной системе человека. Например, одним из наиболее распространенных симптомов у пациентов с COVID-19 является временное или стойкое снижение уровня лимфоцитов в крови. Разрушение иммунных клеток вирусом SARS-CoV-2 делает пациентов уязвимыми к вторичным бактериальным инфекциям. Пневмония у пациентов с COVID-19 отличается от SARS-CoV-2-негативной внебольничной пневмонии [7].

С.-С. Lai *et al.* (2020 г.) провели анализ лабораторных данных о вторичных инфекциях при COVID-19, опубликованных исследователями Китая, США, Сингапура и Италии [8]. При обследовании 18 пациентов в Сингапуре ни у одного из них не было сопутствующих или вторичных инфекций. Напротив, результаты других десяти исследовательских групп выявили распространенность вторичных осложнений, ассоциированных с COVID-19, частота которых колебалась от 0,6 до 45,0 %. В других шести независимых исследованиях зарегистрированы осложнения, обусловленные присоединением бактериальной ко-инфекции, этиологические агенты которых включали *M. pneumoniae*, *L. pneumophila*, *S. pneumoniae* и *K. pneumoniae*. В литературе имеются также сообщения о вирусных сопутствующих ко-инфекциях; риновирус/энтеровирус и грипп А являются наиболее

распространенными ассоциантами. Кроме того, в качестве сопутствующих патогенов зарегистрированы коронавирус, респираторно-синцитиальный вирус, парагрипп, метапневмовирус и вирус гриппа В [8]. В исследовании N. Chen *et al.* (2020 г.) 99 пациентов с COVID-19 у 4,0 % выявлены грибковые сопутствующие инфекции, включая *Candida albicans* и *Candida glabrata* [9]. М.В. Стуловой с соавт. (2020 г.) при исследовании пациентов с ВП, ассоциированной с COVID-19, наиболее частыми бактериальными агентами определены *S. pneumoniae* (70,0 %), *Streptococcus agalactiae* (10,0 %), *S. pneumoniae* + *S. aureus* (6,6 %), *S. pneumoniae* + *Pseudomonas aeruginosa* (13,3 %) [10].

По данным Управления Роспотребнадзора по Ростовской области, за первые семь месяцев 2020 г. в области зарегистрирован 13621 случай ВП – 324,1 на 100 тыс. населения, что в 1,8 раза выше аналогичного периода 2019 г. и выше среднесезонного уровня так же в 1,8 раза. За семь месяцев 2020 г. 253 случая пневмонии завершились летальным исходом (за семь месяцев 2019 г. – 36), летальность увеличилась в 7,1 раза (6,0 против 0,9). Во всех случаях имелся отягощенный преморбидный фон: ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, ожирение, алкоголизм и т.д.; диагноз COVID-19 подтвержден в 225 случаях (88,9 %).

Неотъемлемой частью диагностики ВП и основной адекватного лечения, снижения летальности является определение этиологического агента, а в случае выявления возбудителя бактериальной природы – определение его чувствительности к антибиотикам для дальнейшей корректировки этиотропной терапии.

Целью настоящей работы являлось сравнительное изучение этиологической структуры внебольничных пневмоний у SARS-CoV-2 «+» и SARS-CoV-2 «-» больных, обратившихся за помощью в медицинские организации Ростовской области.

Материалы и методы

В период 6–23 августа 2020 г. обследовано 508 больных внебольничной пневмонией, находившихся в стационарах или на амбулаторном лечении. Критерии включения в исследование: возраст старше 18 лет, установленный диагноз внебольничной пневмонии (J 18.9) согласно Российским национальным рекомендациям по внебольничной пневмонии (2019), информированное согласие пациента на участие в исследовании.

Материал для исследования: мазки из носоглотки и мокрота. Сбор, транспортирование и исследование биоматериала соответствовали требованиям нормативной документации МР 4.2.0114-16 и МУК 4.2.3115-13.

Верификация респираторных вирусов, включая РНК SARS-CoV-2, а также *M. pneumoniae*, *S. pneumoniae*, *L. pneumophila* выполнена методом

полимеразной цепной реакции в мазках носоглотки (n=508). Сравнительный анализ результативности обнаружения РНК SARS-CoV-2 проведен путем параллельного ПЦР-исследования мазков носоглотки и мокроты (n=406). Исследование клинического материала осуществляли при помощи коммерческих наборов реагентов: «РИБО-преп», «Реверта-L», «АмплиСенс ОРВИ-скрин-FL», «АмплиСенс Influenza virus A/B-FL», «АмплиСенс Mycoplasma pneumoniae / Chlamydia pneumoniae-FL», «АмплиСенс Legionella pneumophila-FL» (ФБУН «ЦНИИЭ», Россия), «Вектор-ПЦР-2019-nCoV-RG» (ГНЦ «Вектор», Россия).

Проведено микроскопическое исследование мокроты, окрашенной по Граму (n=508), посев мокроты с определением концентрации возбудителя (n=508). Клинически значимыми считали микроорганизмы, выделенные из мокроты в количестве $\geq 10^5$ КОЕ/мл. Идентификацию выделенных штаммов бактерий осуществляли с помощью времяпролетной масс-спектрометрии на приборе Autoflex (Bruker Daltonics, Германия) с программным обеспечением BioTyper 3.0. Уровень достоверности (Score) выше 2,3 свидетельствовал о точной видовой идентификации.

Анализ данных проведен с помощью пакета статистических программ STATISTICA версия 10.0 (StatSoft Inc., США). Сравнение количественных показателей выполнено с применением критерия Стьюдента. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На исследование поступили пробы биологического материала от 508 больных с диагнозом «внебольничная пневмония» (J 18.9), в том числе от женщин – 283 (55,7 %), мужчин – 225 (44,3 %). Возраст пациентов составлял от 21 года до 94 лет (медиана – 61 год). В результате исследования показано, что частота случаев ВП увеличивается пропорционально возрасту пациентов. Так, 73,6 % случаев ВП зарегистрировано у лиц старше 50 лет, при этом наибольшее (29,1 %) число заболевших отмечено среди пациентов от 60 до 69 лет (табл. 1).

Среди обследованных 412 (81,1 %) пациентов госпитализированы в медицинские организации г. Ростова-на-Дону, 96 (18,9 %) – находились на амбулаторном лечении. Наибольшее число (69,9 %) госпитализаций пациентов пришлось на 3–10-е сутки после начала заболевания независимо от выявления SARS-CoV-2.

С целью оценки результативности обнаружения РНК нового коронавируса в зависимости от вида клинического материала параллельно исследованы в ПЦР пробы мазков из носоглотки и мокроты у 406 пациентов (табл. 2). РНК вируса SARS-CoV-2 обнаружена в 289 (71,2 %) образцах, из них положительный результат получен только в мазках из носоглотки в

Таблица 1 / Table 1

Распределение по возрасту пациентов с внебольничной пневмонией

Age structure of patients with community-acquired pneumonia

Возрастная группа Age group	SARS-CoV-2 «+» (n=307)		SARS-CoV-2 «-» (n=201)		Всего Total (n=508)		p
	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%	
18–29 лет 18–29 years	10	1,97	11	2,16	21	4,13	> 0,05
30–39 лет 30–39 years	27	5,31	14	2,76	41	8,07	> 0,05
40–49 лет 40–49 years	39	7,67	33	6,50	72	14,17	> 0,05
50–59 лет 50–59 years	58	11,42	45	8,85	103	20,27	> 0,05
60–69 лет 60–69 years	91	17,91	57	11,22	148	29,13	> 0,05
> 70 лет > 70 years	82	16,14	41	8,07	123	24,21	> 0,05
Всего Total	307	60,43	201	39,57	508	100	< 0,01

Примечание: n – количество наблюдений; p – статистическая значимость различий в группах SARS-CoV-2 «+» и SARS-CoV-2 «-».

Note: n is the number of observations; p – statistical significance of differences in groups SARS-CoV-2 «+» and SARS-CoV-2 «-».

182 (44,8 %) случаях, только в мокроте – в 23 (5,7 %). Вирус идентифицирован и в мазках носоглотки, и в мокроте у 84 (20,7 %) пациентов. Низкая частота выявления РНК SARS-CoV-2 в мокроте может быть обусловлена как непродуктивным кашлем, характерным для вирусной пневмонии, так и погрешностями отбора материала. Учитывая отсутствие статистически значимых различий результатов, полученных в образцах «мазок» и «мазок + мокрота» (соответственно 266 и 289 из 406, $p > 0,05$), исследование мазков носоглотки на наличие РНК SARS-CoV-2 можно считать репрезентативным.

Общее число пациентов с положительным тестом на SARS-CoV-2 составило 307 из 508 исследованных (60,4 %). Доля больных с COVID-19 колебалась от 47,6 до 66,7 %, в зависимости от возрастной группы, однако статистически достоверных различий между ними не выявлено ($p > 0,05$). При этом у госпитализированных пациентов лабораторно подтвержденных случаев COVID-19 в 1,3 раза больше, чем при амбулаторном лечении (соответственно 63,3 и 47,9 %, $p < 0,01$). В зависимости от выявления РНК SARS-CoV-2 сформированы группы исследования: 1-я группа (n=307) – пациенты с внебольничной пневмонией, вирус идентифицирован (SARS-CoV-2 «+»), 2-я группа (n=201) – пациенты с внебольничной пневмонией, вирус не идентифицирован (SARS-CoV-2 «-»).

Результаты исследования клинического материала на наличие других возбудителей инфекций дыхательных путей вирусной природы представлены в табл. 3. У 12,0 % пациентов (61 человек) выявлены коронавирусы типов HKU-1, OC43, NL-63 или 229E (3,3 % от всех исследованных проб), рино-

Таблица 2 / Table 2

Сравнительный анализ результативности ПЦР-исследования на SARS-CoV-2 при внебольничных пневмониях

Comparative analysis of the effectiveness of PCR research on SARS-CoV-2

Вид материала Type of material	Количество исследованных проб, абс. Number of samples examined, abs.	Количество положительных проб, абс. Number of positive samples, abs.	Доля положительных проб, % Percentage of positive samples, %
Мазок из носоглотки Nasopharyngeal swab	406	266	65,5
Мокрота Sputum	406	107	26,4
Мазки + мокрота (хотя бы один результат положительный) A swab + sputum (at least one result is positive)	406	289	71,2

Примечание. Статистическая значимость различий в группах: а) «мазок из носоглотки» и «мокрота» ($p < 0,01$); б) «мазок из носоглотки» и «мазки + мокрота» ($p > 0,05$); в) «мокрота» и «мазки + мокрота» ($p < 0,01$).

Note. Statistical significance of differences in groups: a) “nasopharyngeal swab” and “sputum” ($p < 0,01$); b) “nasopharyngeal swab” and “smears + sputum” ($p > 0,05$); c) “sputum” and “smears + sputum” ($p < 0,01$).

вирусы (2,4 %), вирус парагриппа 2-го типа (2,0 %). Не зарегистрированы положительные результаты при исследовании на вирус гриппа типов А и В, что связано с летним сезоном. Среди пациентов с положительным результатом на SARS-CoV-2 вирусные микст-инфекции обнаружены у 31 (10,1 %) пациента. В группе с отрицательным результатом на SARS-CoV-2 доля проб с установленным возбудителем вирусной этиологии составила 30 (14,9 %). Статистически достоверных различий в обнаружении респираторных вирусов у пациентов SARS-CoV-2 «+» и SARS-CoV-2 «-» не выявлено ($p > 0,05$). Однако обращает на себя внимание тот факт, что у 25 (8,1 %) пациентов SARS-CoV-2 «+» выявлена ассоциация двух, у 5 (1,6 %) пациентов – трех, в одном случае – четырех этиологических агентов вирусной природы. Преимущественно зарегистрирована микст-инфекция «SARS-CoV-2 + риносинцитиальный вирус», «SARS-CoV-2 + коронавирус других типов» (по 6 пациентов). При внебольничных пневмониях с отрицательным результатом на SARS-CoV-2 одновременное сочетание двух вирусных возбудителей обнаружено лишь у 4 (1,99 %) пациентов. Таким образом, у пациентов с внебольничной пневмонией и лабораторно подтвержденным COVID-19 выше частота выявления инфекции полиэтиологического характера. Нельзя исключить, что первоначально коронавирус выступает триггером резкой иммуносупрессии организма, на фоне которой присоединяются другие, возможно, менее агрессивные ассоцианты вирусной природы.

У 299 (58,9 %) пациентов с внебольничной пневмонией выявлены возбудители бактериальной и грибковой природы 36 видов (табл. 4). Наиболее

Таблица 3 / Table 3

Этиологический спектр возбудителей вирусной природы
 Etiological spectrum of viral pathogens

Возбудитель Pathogen	Группы Group				Всего (n=508) Total (n=508)		p
	SARS-CoV-2 «+» (n=307)		SARS-CoV-2 «-» (n=201)				
	абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%	
РНК коронавируса (HKU-1,OC43, HL-63 или 229E) Coronavirus RNA (HKU-1,OC43, HL-63 or 229E)	9	2,9	8	4,0	17	3,3	> 0,05
РНК риновируса Rhinovirus RNA	4	1,3	8	4,0	12	2,4	> 0,05
РНК вируса парагриппа 2 типа RNA of type 2 parainfluenza virus	5	1,6	5	2,5	10	2,0	> 0,05
РНК РС-вируса RS-virus RNA	7	2,3	2	1,0	9	1,8	> 0,05
РНК бокавируса Bocavirus RNA	6	2,0	3	1,5	9	1,8	> 0,05
РНК вируса парагриппа 3 типа RNA of type 3 parainfluenza virus	4	1,3	5	2,5	9	1,8	> 0,05
РНК вируса парагриппа 1 типа RNA of type 1 parainfluenza virus	2	0,7	2	1,0	4	0,8	> 0,05
РНК метапневмовируса Metapneumovirus RNA	2	0,7	1	0,5	3	0,6	> 0,05
РНК аденовируса Adenovirus RNA	0	0	0	0	0	0	> 0,05
РНК вируса парагриппа 4 типа RNA of type 4 Parainfluenza virus	0	0	0	0	0	0	> 0,05
РНК вируса гриппа А RNA of Influenza virus A	0	0	0	0	0	0	> 0,05
РНК вируса гриппа В RNA of Influenza virus B	0	0	0	0	0	0	> 0,05
Всего Total	39	12,7	34	16,9	73	14,4	> 0,05

Примечание: n – количество наблюдений; p – статистическая значимость различий в группах SARS-CoV-2 «+» и SARS-CoV-2 «-».

Note: n is the number of observations; p – statistical significance of differences in groups SARS-CoV-2 «+» and SARS-CoV-2 «-».

частым этиологическим агентом ВП бактериальной природы являлись бактерии рода *Streptococcus*, которые обнаружены у 148 (29,1 %) пациентов, *S. pneumoniae* определен в качестве этиологического агента у 15 (5,4 %) SARS-CoV-2 «+» и у 12 (5,5 %) SARS-CoV-2 «-» пациентов. Среди других представителей стрептококков наиболее высокий удельный вес составили культуры *S. viridans*, выделенные у 60 (19,5 %) пациентов с COVID-19 и у 24 (11,9 %) пациентов с отрицательным результатом на новую коронавирусную инфекцию ($p < 0,05$).

Достоверно более частыми бактериальными этиологическими агентами ВП у пациентов с отрицательным результатом исследования на SARS-CoV-2 являлись *S. mitis*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. parausanguinis*, *Rothia mucilaginosa*, *Neisseria meningitidis*, *N. mucosa*.

В обеих группах пациентов (SARS-CoV-2 «+» и SARS-CoV-2 «-») в небольшом количестве случаев с помощью бактериологического метода изолировали различные плазмокоагулирующие (*S. aureus*) и некоагулирующие (*S. epidermidis*) стафилококки. Однако обращает на себя внимание тот факт, что

если у больных с отрицательным результатом на SARS-CoV-2 стафилококковое поражение легких (*S. aureus*) сопровождалось, по данным микроскопии, выраженным нейтрофильным лейкоцитозом, то у SARS-CoV-2 «+» больных наблюдалось отсутствие какой-либо лейкоцитозной реакции. Эта закономерность зарегистрирована и в случае выявления других бактериальных возбудителей: *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и др. Это еще раз свидетельствует в пользу того, что коронавирус резко подавляет иммунную систему макроорганизма.

Согласно имеющимся в нашем распоряжении данным, лечение антибактериальными препаратами на момент обследования проводилось у 29 % пациентов. Возможно, на фоне антибиотикотерапии у 86 (16,9 %) пациентов выделены дрожжи р. *Candida* в диагностических количествах ($\geq 10^4$). У SARS-CoV-2 «+» больных дрожжевая микрофлора выявлена в 20,2 % случаев, у SARS-CoV-2 «-» больных – 11,9 % ($p < 0,05$).

Не выявлено зависимости удельного веса пациентов с микст-инфекциями от дня госпитализации после начала заболевания. Отсутствовали различия

Таблица 4 / Table 4

Этиологически значимые микроорганизмы, изолированные из мокроты больных внебольничными пневмониями

Etologically significant microorganisms isolated from sputum of patients with community-acquired pneumonia

Вид микроорганизма Microorganism species		Всего (n=508) Total (n=508)		SARS-CoV-2 «+» (n=307)		SARS-CoV-2 «-» (n=201)		p
		абс. abs.	%	абс. abs.	%	абс. abs.	%	
<i>Streptococcus</i>	<i>pneumoniae</i>	28	5,5	17	5,4	12	5,5	> 0,05
	<i>viridans</i>	84	16,5	60	19,5	24	11,9	< 0,05
	<i>acidominimus</i>	1	0,2	0	0	1	0,5	> 0,05
	<i>agalactiae</i>	1	0,2	0	0	1	0,5	> 0,05
	<i>infantis</i>	1	0,2	0	0	1	0,5	> 0,05
	<i>mitis</i>	8	1,6	0	0	8	4,0	< 0,01
	<i>oralis</i>	8	1,6	0	0	8	4,0	< 0,01
	<i>salivarius</i>	11	2,2	0	0	11	5,5	< 0,001
<i>Candida</i>	<i>parasanguinis</i>	6	1,2	0	0	6	3,0	< 0,01
	<i>albicans</i>	86	16,9	62	20,2	24	11,9	< 0,05
	<i>krusei</i>	4	0,8	4	1,3	0	0,0	> 0,05
	<i>kefir</i>	1	0,2	0	0	1	0,5	> 0,05
	<i>tropicalis</i>	21	4,1	16	5,2	5	2,5	> 0,05
	<i>guilliermondii</i>	1	0,2	1	0,3	0	0,0	> 0,05
<i>Geotrichum capitatum</i>		1	0,2	0	0,0	1	0,5	> 0,05
<i>Neisseria</i>	<i>lusitaniae</i>	2	0,4	2	0,7	0	0,0	> 0,05
	<i>meningitidis</i>	5	1,0	0	0	5	2,5	< 0,01
	<i>flavescens</i>	26	5,1	11	3,6	15	7,5	> 0,05
	<i>subflavescens</i>	6	1,2	5	1,6	1	0,5	> 0,05
	<i>flava</i>	1	0,2	1	0,3	0	0,0	> 0,05
	<i>subflava</i>	1	0,2	1	0,3	0	0,0	> 0,05
	<i>sicca</i>	4	0,8	3	1,0	1	0,5	> 0,05
<i>Rothia mucilaginosa</i>		3	0,6	0	0	3	1,5	< 0,05
<i>Staphylococcus</i>	<i>mucosa</i>	16	3,2	3	1,0	13	6,5	< 0,01
	<i>aureus</i>	51	10,0	36	11,7	15	7,5	> 0,05
	<i>capitis</i>	2	0,4	0	0	2	1,0	> 0,05
	<i>epidermidis</i>	2	0,4	0	0	2	1,0	> 0,05
<i>Escherichia coli</i>		4	0,8	0	0	4	2,0	< 0,05
<i>Enterococcus faecalis</i>		6	1,2	6	2,0	0	0,0	< 0,05
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		9	1,8	5	1,6	4	2,0	> 0,05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		2	0,4	1	0,3	1	0,5	> 0,05
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>	2	0,4	1	0,3	1	0,5	> 0,05
	<i>oxytoca</i>	10	2,0	5	1,6	5	2,5	> 0,05
<i>M. pneumoniae</i>		3	0,6	1	0,3	2	1,0	> 0,05
<i>C. pneumoniae</i>		1	0,2	1	0,3	0	0	> 0,05
		1	0,2	1	0,3	0	0	> 0,05

Примечание: n – количество наблюдений; p – статистическая значимость различий в группах SARS-CoV-2 «+» и SARS-CoV-2 «-».

Note: n is the number of observations; p – statistical significance of differences in groups SARS-CoV-2 «+» and SARS-CoV-2 «-».

в спектре вирусных или бактериальных этиологических агентов в зависимости от продолжительности болезни. В то же время у пациентов с отрицательным результатом на SARS-CoV-2 обнаружен более широкий спектр представителей патогенной и условно-патогенной бактериальной микрофлоры во всех возрастных группах. Также наблюдалось увеличение числа внебольничных пневмоний, вызванных пневмококком, в возрастных группах старше 40 лет. Доля пациентов с микст-инфекцией достоверно не отличалась среди пациентов, находящихся на амбулаторном и стационарном лечении (соответственно

58,3 и 58,5 %; $p > 0,05$).

Таким образом, проведенное исследование показало, что на фоне иммуносупрессии, вызванной коронавирусной инфекцией, организм человека становится уязвимым для активизации условно-патогенной микрофлоры и развития вторичных осложнений бактериального или вирусного генеза.

В период распространения новой коронавирусной инфекции в Ростовской области основным этиологическим агентом внебольничных пневмоний является новый коронавирус SARS-CoV-2. Особенностью ВП у пациентов с лабораторно под-

твержденным COVID-19 является более высокая частота микст-инфекций как вирусной, так и бактериальной этиологии.

На фоне выявления у пациентов с ВП РНК SARS-CoV-2 зарегистрированы случаи обнаружения коронавирусов других типов (HKU-1, OC43, NL-63 или 229E).

Наиболее часто этиологическим агентом ВП бактериальной природы являлись бактерии рода *Streptococcus* как у пациентов с ВП, ассоциированной с COVID-19, так и пациентов с отрицательным результатом на SARS-CoV-2.

Коронавирусные больные представляют группу высокого риска по развитию микотических поражений легких, возможно, на фоне лечения антибактериальными препаратами.

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

Список литературы

1. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Козлов Р.С., Авдеев С.Н., Тюрин И.Е., Руднов В.А., Рачина С.А., Фесенко О.В. Клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике тяжелой внебольничной пневмонии у взрослых. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2015; 17(2):84–126.
2. Рачина С.А., Бобылев А.А. Атипичные возбудители внебольничной пневмонии: от эпидемиологии к особенностям диагностики и лечения. *Практическая пульмонология*. 2016; 2:20–7.
3. Рачина С.А., Иванчик Н.В., Козлов Р.С. Особенности микробиологической диагностики при внебольничной пневмонии у взрослых. *Практическая пульмонология*. 2016; 4:40–7.
4. Du Toit A. Measles increases the risk of other infections. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 18(1):2. DOI: 10.1038/s41579-019-0301-7.
5. Zahariadis G., Gooley T.A., Ryall P., Hutchinson C., Latchford M.I., Fearon M.A., Jamieson F.B., Richardson S., Kuschak T., Mederski B. Risk of ruling out severe acute respiratory syndrome by ruling in another diagnosis: variable incidence of atypical bacteria coinfection based on diagnostic assays. *Can. Respir. J.* 2006; 13(1):17–22. DOI: 10.1155/2006/862797.
6. Arabi Y.M., Al-Omari A., Mandourah Y., Al-Hameed F., Sindi A.A., Alraddadi B., Shalhoub S., Almotairi A., Al Khatib K., Abdulmomen A., Qushmaq I., Mady A., Solaiman O., Al-Aithan A.M., Al-Raddadi R., Ragab A., Al Mekhlafi G.A., Al Harthy A., Kharaba A., Ahmadi M.A., Sadat M., Mutairi H.A., Qasim E.A., Jose J., Nasim M., Al-Dawood A., Merson L., Fowler R., Hayden F.G., Balkhy H.H. Critically ill patients with the Middle East respiratory syndrome: a multicenter retrospective cohort study. *Crit. Care Med.* 2017; 45:1683–95. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002621.
7. Zhou Y., Guo S., He Y., Zuo Q., Liu D., Xiao M., Fan J., Li X. COVID-19 is distinct from SARS-CoV-2-negative community-acquired pneumonia. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10:322. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00322.
8. Lai C.-C., Wang C.-Y., Hsueh P.-R. Co-infections among patients with COVID-19: The need for combination therapy with non-anti-SARS-CoV-2 agents? *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2020; 53(4):505–12. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.05.013.
9. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395(10223):507–13. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
10. Стулова М.В., Кудряшева И.А., Полунина О.С., Черенова Л.П., Аршба Т.Е., Лисина О.А., Казакова Е.А. Сравнительный клинико-лабораторный анализ COVID-19 ассоциированной пневмонии с внебольничной пневмонией бактериальной этиологии. *Современные проблемы науки и образования*. 2020; 3. DOI: 10.17513/spno.29905.

References

1. Chuchalin A.G., Sinopalnikov A.I., Kozlov R.S., Avdeev S.N., Tyurin I.E., Rudnov V.A., Rachina S.A., Fesenko O.V. [Community-acquired pneumonia in adults: practical recommendations for diagnosis, treatment and prevention. Manual for doctors]. *Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimoterapiya*

[*Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*]. 2010; 12(3):186–225.

2. Rachina S.A., Bobylev A.A. [Atypical pathogens of community-acquired pneumonia: from epidemiology to features of diagnosis and treatment]. *Prakticheskaya Pulmonologia [Practical Pulmonology]*. 2016; 2:20–7.

3. Rachina S.A., Ivanchik N.V., Kozlov R.S. [Features of microbiological diagnostics in community-acquired pneumonia in adults]. *Prakticheskaya Pulmonologia [Practical Pulmonology]*. 2016; 4:40–7.

4. Du Toit A. Measles increases the risk of other infections. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 18(1):2. DOI: 10.1038/s41579-019-0301-7.

5. Zahariadis G., Gooley T.A., Ryall P., Hutchinson C., Latchford M.I., Fearon M.A., Jamieson F.B., Richardson S., Kuschak T., Mederski B. Risk of ruling out severe acute respiratory syndrome by ruling in another diagnosis: variable incidence of atypical bacteria coinfection based on diagnostic assays. *Can. Respir. J.* 2006; 13(1):17–22. DOI: 10.1155/2006/862797.

6. Arabi Y.M., Al-Omari A., Mandourah Y., Al-Hameed F., Sindi A.A., Alraddadi B., Shalhoub S., Almotairi A., Al Khatib K., Abdulmomen A., Qushmaq I., Mady A., Solaiman O., Al-Aithan A.M., Al-Raddadi R., Ragab A., Al Mekhlafi G.A., Al Harthy A., Kharaba A., Ahmadi M.A., Sadat M., Mutairi H.A., Qasim E.A., Jose J., Nasim M., Al-Dawood A., Merson L., Fowler R., Hayden F.G., Balkhy H.H. Critically ill patients with the Middle East respiratory syndrome: a multicenter retrospective cohort study. *Crit. Care Med.* 2017; 45:1683–95. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002621.

7. Zhou Y., Guo S., He Y., Zuo Q., Liu D., Xiao M., Fan J., Li X. COVID-19 is distinct from SARS-CoV-2-negative community-acquired pneumonia. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10:322. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00322.

8. Lai C.-C., Wang C.-Y., Hsueh P.-R. Co-infections among patients with COVID-19: The need for combination therapy with non-anti-SARS-CoV-2 agents? *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2020; 53(4):505–12. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.05.013.

9. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395(10223):507–13. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

10. Stulova M.V., Kudryasheva I.A., Polunina O.S., Cherenova L.P., Arshba T.E., Lisina O.A., Kazakova E.A. [Comparative clinical and laboratory analysis of COVID-19 associated pneumonia with community-acquired pneumonia of bacterial etiology]. *Sovremennyye Problemy Nauki i Obrazovaniya [Modern Problems of Science and Education]*. 2020; 3. DOI: 10.17513/spno.29905.

Authors:

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

Ezhlova E.B. 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.

Noskov A.K., Chemisova O.S., Pavlovich N.V., Vodopyanov S.O., Tsimbalistova M.V., Gaevskaya N.E., Volovikova S.V., Stenina S.I., Gudueva E.N., Sagakyan M.M. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Kovalev E.V., Slis' S.S. Rosпотребнадзор Administration in the Rostov Region. 17, 18th Line, Rostov-on-Don, 344109, Russian Federation. E-mail: master@61.rosпотребнадзор.ru.

Tverdokhlebova T.I., Aleshukina A.V. Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology. Rostov-on-Don, Russian Federation.

Об авторах:

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

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

Носков А.К., Чемисова О.С., Павлович Н.В., Водопьянов С.О., Цимбалистова М.В., Гаевская Н.Е., Воловикова С.Ф., Стенина С.И., Гудуева Е.Н., Сагакянц М.М. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Ковалев Е.В., Слиш С.С. Управление Роспотребнадзора по Ростовской области. Российская Федерация, Ростов-на-Дону, 344109, ул. 18-я линия, 17. E-mail: master@61.rosпотребнадзор.ru.

Твердохлеб Т.И., Аleshukina A.B. Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии. Российская Федерация, Ростов-на-Дону.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-106-116

УДК 616.98:578.2(470.44)

А.Ю. Попова^{1,2}, Е.Б. Ежлова¹, А.А. Мельникова¹, В.В. Кутырев³, О.И. Кожанова⁴, Т.С. Черкасская⁵,
В.И. Лялина⁶, В.С. Смирнов⁶, С.А. Бугоркова³, С.А. Портенко³, Е.В. Найденова³, С.А. Щербакова³,
В.И. Ломоносова⁶, А.А. Тотолян⁶

ХАРАКТЕРИСТИКА ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К SARS-CoV-2 У ЖИТЕЛЕЙ САРАТОВА И САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ В ПЕРИОД ЭПИДЕМИИ COVID-19

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

²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация;

³ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;

⁴Управление Роспотребнадзора по Саратовской области, Саратов, Российская Федерация; ⁵ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области», Саратов, Российская Федерация; ⁶ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель исследования – оценка состояния популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди жителей Саратова и Саратовской области в период эпидемии COVID-19. **Материалы и методы.** В период с 23 июня по 26 июля 2020 г. проведено серологическое исследование образцов крови от 3372 добровольцев разных возрастных групп. Содержание антител к SARS-CoV-2 определяли методом ИФА с использованием набора реагентов «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» производства ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора (Россия). **Результаты и обсуждение.** В целом заболеваемость COVID-19 в Саратовской области протекает на фоне умеренной серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2, сопровождается высокой частотой случаев инapparантных форм течения инфекционного процесса. Отсутствие клинических симптомов заболевания в условиях ограниченного применения методов определения РНК вируса SARS-CoV-2 в ПЦР (11 % населения региона) затрудняет достоверность оценки реального распространения вируса в популяции и установления сроков формирования стойкого популяционного иммунитета. Низкий показатель антительного ответа среди лиц с позитивным результатом ПЦР-анализа, как и у добровольцев, перенесших инфекцию в мае–июне 2020 г., свидетельствует о слабом формировании иммунного ответа либо превалировании в популяции индивидуумов, реагирующих преимущественно активацией клеточного звена иммунной системы. Полученные результаты, хотя и нуждаются в объяснении по целому ряду позиций, могут применяться для организации профилактических мероприятий, включая вакцинацию, на территории региона.

Ключевые слова: COVID-19, популяционный иммунитет, специфические антитела, Саратовская область, население.

Корреспондирующий автор: Бугоркова Светлана Александровна, e-mail: rusrapl@microbe.ru.

Для цитирования: Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Кутырев В.В., Кожанова О.И., Черкасская Т.С., Лялина В.И., Смирнов В.С., Бугоркова С.А., Портенко С.А., Найденова Е.В., Щербакова С.А., Ломоносова В.И., Тотолян А.А. Характеристика популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 у жителей Саратова и Саратовской области в период эпидемии COVID-19. Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 4:106–116. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-106-116

Поступила 06.10.20. Отправлена на доработку 11.11.20. Принята к публ. 10.12.20.

A.Yu. Popova^{1,2}, E.B. Ezhlova¹, A.A. Mel'nikova¹, V.V. Kutyrev³, O.I. Kozhanova⁴, T.S. Cherkasskaya⁵,
V.I. Lyalina⁶, V.S. Smirnov⁶, S.A. Bugorkova³, S.A. Portenko³, E.V. Naydenova³, S.A. Shcherbakova³,
V.I. Lomonosova⁶, A.A. Totolyan⁶

Characteristics of the Herd Immunity to SARS-CoV-2 in Residents of the Saratov Region under COVID-19 Epidemic

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

²Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation;

³Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

⁴Rospotrebnadzor Administration for the Saratov Region, Saratov, Russian Federation;

⁵Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region, Saratov, Russia;

⁶Saint-Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The global community is experiencing one of the largest infectious disease outbreaks in the 21st century. In the Saratov Region, the first case of new coronavirus infection was confirmed on March 19, 2020. The maximum increase in cases was noted between May 15 and June 30, during that time the total number of infected people in the region increased from 1526 to 6444. Since July 2020, a stable incidence level of new coronavirus infection has been observed in the Saratov Region, without a steady decline. **The aim** of the study was to assess the status of population immunity to the SARS-CoV-2 virus among residents of Saratov and the Saratov Region under the COVID-19 epidemic. **Materials and methods.** In the period from June 23 to July 26, 2020, a serological study of blood samples from 3372 volunteers of different age groups was conducted. The content of antibodies to SARS-CoV-2 was determined by ELISA using a set of reagents "ELISA anti-SARS-CoV-2 IgG" produced by the State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology of the Rospotrebnadzor (Russia). **Results and discussion.** In general, the incidence of COVID-19 in the Saratov Region is taking place against the background of moderate seroprevalence to the SARS-CoV-2 virus, accompanied by a high incidence of non-apparent (asymptomatic) forms of the infectious process. The absence of clinical symptoms of the disease, in the context of the limited use of methods for determining the RNA of the SARS-CoV-2 virus in PCR (11 % of the region's population) makes it difficult to assess the real spread of the virus in the population and to

establish the timing of the formation of persistent herd immunity. A low rate of antibody response among individuals with a positive result of PCR analysis, as well as among volunteers who had an infection in May, June 2020, indicates a weak formation of the immune response, or the prevalence of individuals reacting mainly by activating the cellular link of the immune system in the population. The obtained results, although they need to be explained in a number of respects, can be applied to the organization of preventive measures, including vaccination, in the region.

Key words: COVID-19, herd immunity, specific antibodies, Saratov Region, population.

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

Corresponding author: Svetlana A. Bugorkova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Kutyrev V.V., Kozhanova O.I., Cherkasskaya T.S., Lyalina V.I., Smirnov V.S., Bugorkova S.A., Portenko S.A., Naydenova E.V., Shcherbakova S.A., Lomonosova V.I., Totolyan A.A. Characteristics of the Herd Immunity to SARS-CoV-2 in Residents of the Saratov Region under COVID-19 Epidemic. *Problemny Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; 4:106–116. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-106-116

Received 06.10.20. Revised 11.11.20. Accepted 10.12.20.

Popova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4315-5307>
Kutyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>
Lyalina V.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9921-3505>
Smirnov V.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2723-1496>
Bugorkova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7548-4845>
Naydenova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6474-3696>
Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>
Totolyan A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Мировое сообщество переживает одну из крупнейших вспышек инфекционных заболеваний в XXI веке. Новый коронавирус SARS-CoV-2, ставший причиной заболевания тяжелой пневмонией в декабре 2019 г. жителей города Ухань китайской провинции Хубэй, в течение нескольких месяцев распространился по планете. ВОЗ объявила 11 марта 2020 г. о начале пандемии заболевания, вызываемого вирусом SARS-CoV-2, которое назвали Corona Virus Disease 2019 (COVID-19) [1].

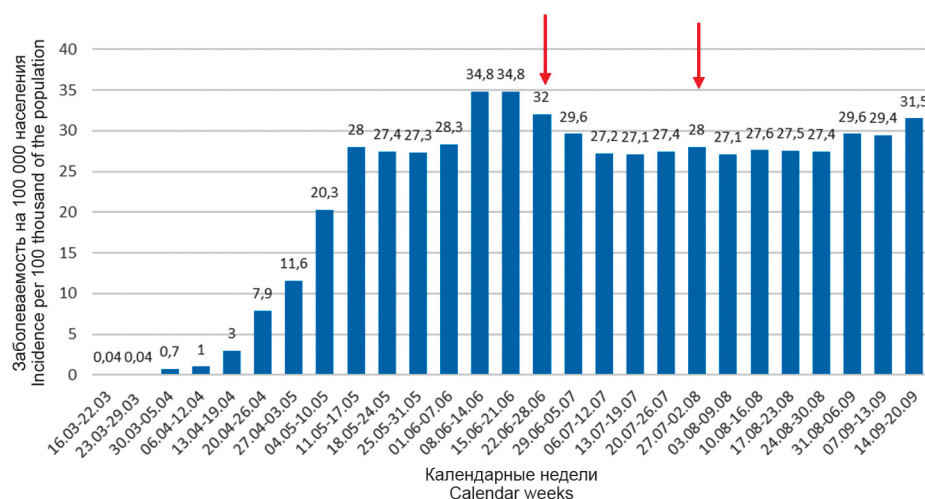
Передача инфекции от человека к человеку происходит воздушно-капельным путем при непосредственном контакте с инфицированным лицом. На 4 августа 2020 г. в мире уже зарегистрировано 18142718 подтвержденных случаев инфицирования SARS-CoV-2, из них 691013 – с летальным исходом [2]. В Российской Федерации на эту дату выявлено 861423 случая инфицирования, из них с клиникой заболевания – 185601, умерло более 14 тыс. человек.

В Саратовской области первый случай новой коронавирусной инфекции подтвержден 19 марта

2020 г. На протяжении последующих пяти недель (рисунок) отмечали единичные случаи инфицирования, после чего уровень заболеваемости экспоненциально увеличился и достиг максимума к 25–26-й неделе года.

В последующем наблюдалась некоторая стабилизация на уровнях 270–300 случаев на 100 тыс. населения. В этот период проведено исследование добровольцев на серопревалентность. Начиная с 35-й календарной недели (к.н.) наблюдалась слабая тенденция к росту числа зараженных на уровнях 295–315 случаев на 100 тыс. населения.

Больше всего ежедневно выявляемых случаев заражения SARS-CoV-2 приходится на областной центр – г. Саратов, но за время эпидемии в регионе отмечали периоды резкого увеличения заболеваемости в ряде районов области: Балтайский и Ершовский районы (апрель 2020 г.), Вольский, Аткарский, Краснокутский, Самойловский и Новоузенский районы (май 2020 г.). Причиной резкого подъема заболеваемости в этих районах, как правило, становилась вспышка болезни среди персонала лечебных учреж-



Понедельная заболеваемость COVID-19 в Саратовской области. Красными стрелками отмечены начало и окончание обследования добровольцев на серопревалентность к SARS-CoV-2 (с 23.06.2020 по 26.07.2020)

The weekly incidence of COVID-19 in the Saratov Region. The red arrows indicate the beginning and end of the survey of volunteers for seroprevalence to SARS-CoV-2 (from June 23, 2020 to July 26, 2020)

дений или пациентов закрытых учреждений (дома престарелых, интернаты). На момент планирования и проведения исследования популяционного иммунитета (с 23 июня по 26 июля 2020 г.) в Саратовской области отмечался стабильный уровень заболеваемости новой коронавирусной инфекцией без его устойчивого снижения, а область находилась в состоянии введения ограничительных мероприятий в связи с угрозой распространения новой коронавирусной инфекции (постановление правительства Саратовской области от 26.03.2020 № 208-П с доп. от 10.05.2020 и 18.06.2020).

Популяционный иммунитет – приобретенное состояние специфической защищенности популяции или отдельных групп населения, состоящее из иммунитета индивидуумов, входящих в эту популяцию. Оценка иммунной структуры населения к новому коронавирусу позволяет не только установить реальную частоту контактов с вирусом, но и способствует выявлению легких и бессимптомных форм заболевания. Такого рода исследования инициированы не только в России, но и в ряде зарубежных стран [3], что должно помочь отслеживанию распространения инфекции, вызванной SARS-CoV-2, среди населения в целом для прогнозирования эпидемиологической ситуации в стране. Скорость и выраженность формирования иммунной прослойки (популяционный иммунитет) среди населения региона имеет решающее значение для определения прогноза дальнейшего распространения инфекции и выбора комплекса мер ее профилактики. Коллективный иммунитет – это эффект сопротивления распространению инфекции в популяции при существовании значимой доли лиц с выработанными механизмами защиты [4]. Для решения вопросов, связанных с эффективной защитой от SARS-CoV-2, необходимо определить пороговый уровень иммунитета, который для COVID-19 пока остается не установленным.

В связи с вышеизложенным определена **цель** исследования – оценить состояние популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди жителей Саратова и Саратовской области в период эпидемии COVID-19.

Материалы и методы

Работа проведена в рамках выполнения первого этапа научных исследований по оценке популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у населения Российской Федерации – широкомасштабного проекта, инициированного Роспотребнадзором. Исследование выполнялось по протоколу, разработанному с учетом рекомендаций ВОЗ и одобренному локальным этическим комитетом при ФБУН НИИЭМ им. Пастера [5].

Отбор добровольцев для исследования проводили методом анкетирования и последующей рандомизации выборки. Критерием исключения стала активная инфекция COVID-19 в момент анкетирования.

Объем выборки определяли по формуле [5, 6].

До начала исследования все добровольцы ознакомлены с целью и методикой исследования, проанкетированы и включались в исследование на основании подписания ими или их юридическими представителями добровольного информированного согласия.

Для участия в исследовании подано 6688 анкет, в работу отобрано 3375 анкет, в исследовании приняли участие 3372 волонтера, включены в анализ 3369 волонтеров.

По численности все возрастные группы сопоставимы и варьировали в диапазоне от 226 до 653 волонтеров (табл. 1). Возраст обследованных добровольцев варьировал от 1 года до 70 лет и старше. Соотношение мужчин и женщин в выборке составило 1:2,7; в группе детей – 1:1; в группах от 18 до 39 лет – 1:2,5; в группе 40–49 лет – 1:3; в группах 50–69 лет – 1:4; в группе старше 70 лет – 1:3.

Среди всех волонтеров доля лиц с наличием в анамнезе верифицированного диагноза COVID-19 составила 0,6 % (21 человек), лиц с признаками ОРВИ неуточненной этиологии в течение месяца до обследования – 5,2 % (175 человек).

Забор крови проводили из кубитальной вены в утренние часы, натощак, в положении сидя. Кровь собирали в вакуумные пробирки с активатором свертывания крови в объеме 5 мл. Место венепункции дезинфицировали марлевой салфеткой или специальной безворсовой салфеткой, смоченной 70 % спиртом. Забор материала, его маркировку, упаковку и транспортировку выполняли работники региональных медицинских учреждений. При транспортировке и хранении образцы находились в контейнерах в вертикальном положении. Температура при транспортировке и хранении до обработки образцов поддерживалась от 4 до 8 °С. Материал поступал на преаналитический этап подготовки проб не позднее чем через 4 ч от момента его забора. Для отделения сыворотки от клеточных элементов крови вакуумную пробирку оставляли при комнатной температуре на 30 мин. После отделения сыворотки от сгустка пробирку центрифугировали при 1500 об./мин (400 g) в течение 20 мин. Затем сыворотку отбирали пипеткой в три пластиковые микропробирки по 1,5 мл. Исследование проводили в день поступления материала, резервные образцы плотно закрывали и хранили в условиях морозильной камеры при температуре минус 20 °С.

Содержание антител к SARS-CoV-2 определяли методом ИФА с использованием набора реагентов «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Результаты учитывали качественным методом по изменению окрашивания раствора в лунках с использованием фотометра iMark (Bio-Rad Laboratories, Россия) при длине волны 405 нм. При инструментальном учете измеряли оптическую плотность (ОП) в лунках, результат представляли в соответствии с инструкцией производителя.

Таблица 1 / Table 1

Распределение волонтеров по возрасту
Distribution of volunteers by age

Группа Group		Количество обследованных Total number of the examined people	Доля обследованных, % Percentage, %	Распределение по полу Gender distribution			
				абс. значения abs. values		доля, % percentage, %	
				М M	Ж F	М M	Ж F
1–17 лет 1–17 years		409	12,1	205	204	50,1	49,9
В том числе: Including:	1–6	92	23,1	40	52	42,0	58,0
	7–13	194	47,1	103	91	53,0	47,0
	14–17	123	29,8	62	61	50,4	49,6
18–29		474	14,1	134	340	28,3	71,7
30–39		653	19,4	182	471	27,9	72,1
40–49		634	18,8	145	489	22,9	77,1
50–59		541	16,1	100	441	18,5	81,5
60–69		432	12,8	85	347	19,7	80,3
70 лет и старше 70 and above		226	6,7	57	169	25,2	74,8
Итого: Total:		3369	100	908	2461	26,9±10,8	73,1±13,9

Статистическую обработку проводили с использованием методов вариационной статистики с помощью статистического пакета Microsoft Excel 2010–2016 и стандартного пакета прикладных программ Statistica 10.0 (StatSoft Inc.). Различия считали достоверными при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Распределение серопозитивных лиц среди населения Саратовской области по полу, возрасту и географии проживания. Доля добровольцев, принявших участие в исследовании по оценке популяционного иммунитета, составила 0,1 % от числа всех жителей Саратовской области. На долю городского населения в Саратовской области приходится 75,6 % жителей, а сельского – 24,4 %, то есть соотношение «жители города / сельское население» составляет 3:1. Соотношение городского (2609 человек) и сельского населения (766 человек) среди лиц, принявших участие в исследовании, составляло 3,4:1. Данные по серологическому мониторингу среди жителей города областного значения (Саратов) и районов Саратовской области разных гендерных и возрастных групп приведены в табл. 2.

Если доля серопозитивных лиц среди жителей областного центра составляла $(17,7 \pm 0,5) \%$, Саратовской области – $(14,5 \pm 1,7) \%$, что несколько ниже, чем в других регионах [5, 6], то в различных гендерных и возрастных группах этот показатель был на более высоком уровне. Так, в разных возрастных группах количество серопозитивных добровольцев варьировало в диапазоне от $(14,5 \pm 1,4) \%$ в группе «40–49 лет» до $(18,8 \pm 1,8) \%$ среди 18–29-летних участников исследования. Максимальный уровень серопозитивных лиц отмечали в группе «18–29 лет»

($p < 0,05$), особенно среди добровольцев мужского пола ($23,1 \pm 4,1 \%$), что можно объяснить распространением «ковидного нигилизма» среди молодежи. В возрастных группах после 30 лет достоверного отличия между показателями серопревалентности не выявлено. Также обращает на себя внимание более высокая доля серопозитивных лиц ($18,1 \pm 1,9 \%$) среди детского населения, несмотря на удаленный характер обучения и разобщение коллективов на длительный временной промежуток. Но в возрастном аспекте, если среди детей в возрасте от 1 года до 6 лет показатель серопревалентности был минимальным для региона ($13,0 \pm 3,5 \%$), то в подгруппе «7–13 лет» даже превышал средний по региону в 1,3 раза ($20,6 \pm 2,9 \%$) и был выше, чем в подгруппе «14–17 лет» ($17,9 \pm 3,5 \%$). Это можно объяснить только снижением внимания родителей к детям, пребывающим на домашнем обучении и нарушающим режим самоизоляции.

Если в целом не выявлено статистически значимых гендерных различий среди серопозитивных жителей региона, то в отдельных возрастных группах гендерное превалирование заметно. Так, в молодежных группах в долевом отношении серопозитивными лицами в основном являлись представители мужского пола, что объясняется большей законопослушностью женщин, принимающих ограничительные меры, связанные с распространением SARS-CoV-2. В группе старше 70 лет более высокая доля серопозитивных лиц среди женщин, по-видимому, объясняется необходимостью ведения домашнего хозяйства, связанной с посещением магазинов, рынков и иных мест скопления людей.

Влияние внешних факторов риска на распределение серопозитивных лиц среди населения Саратовской области. Представляет интерес оценка

Таблица 2 / Table 2

Серопозитивность среди жителей Саратовской области разных гендерных и возрастных групп

Seropositivity among residents of the Saratov Region of different gender and age groups

Группа Group		Пол Sex	Результаты тестирования на наличие IgG к SARS-CoV-2 The results of testing for the presence of IgG antibodies to SARS-CoV-2				Серопревалентность, % (M±m) Seroprevalence, % (M±m)	
			серопозитивные, чел. seropositive, pers.		серонегативные, чел. seronegative, pers.		всего total	по полу by gender
			всего total	по полу by gender	всего total	по полу by gender		
1–17		м/м	74	36	335	166	18,1±1,9	17,6±1,6
		ж/ф		38		169		18,6±4,8
В том числе: Including:	1–6	м/м	12	6	80	34	13,0±3,5	15,0±2,7
		ж/ф		6		46		11,5±1,7
	7–13	м/м	40	19	154	84	20,6±2,9*	18,4±0,8
		ж/ф		21		70		23,1±3,6
	14–17	м/м	22	11	101	51	17,9±3,5	17,7±0,9
		ж/ф		11		50		18,0±1,3
18–29		м/м	89	31	385	103	18,8±1,8*	23,1±4,1*
		ж/ф		58		282		17,1±1,2
30–39		м/м	101	28	552	154	15,5±1,4	15,4±0,2
		ж/ф		73		398		12,3±0,3
40–49		м/м	92	26	542	119	14,5±1,4	17,9±2,2
		ж/ф		66		423		13,9±2,9
50–59		м/м	91	13	450	87	16,8±1,6	13,0±2,7
		ж/ф		78		363		17,7±0,6
60–69		м/м	68	16	364	69	15,7±1,7	18,8±2,4
		ж/ф		52		295		14,9±0,9
70 лет и старше 70 and above		м/м	33	6	193	51	14,6±2,4	10,5±9,3
		ж/ф		27		142		16,0±0,2
Итого: Total:		м/м	548	156	2821	752	16,3±0,6	17,2±3,3
		ж/ф		392		2069		15,9±1,9

* – различия достоверны по сравнению со среднепопуляционным значением.

* – the differences are significant compared to the average population value for the region.

влияния на серопозитивность у добровольцев такого свойства обследуемой популяции, как профессия, рассматриваемого через призму эпидемиологического риска, повышающего вероятность заболевания COVID-19, и/или распространенность доли серопозитивных лиц в определенной профессиональной группе. В зарубежных странах более высокий риск по инфицированию SARS-CoV-2 отмечен в профессиональных секторах здравоохранения и социального обеспечения, а также в крупных профессиональных группах производственного сектора, среди работников офисов [7]. Результаты оценки влияния социально-профессиональных факторов на структуру серопревалентности среди населения Саратова и Саратовской области представлены в табл. 3.

Согласно полученным данным, социально-профессиональные факторы оказывают определенное влияние на уровень серопозитивности, но ожидаемого преваляирования доли серопозитивных лиц среди медицинских работников не выявлено. Показатель серопозитивности в этой группе в 1,4 раза ниже, чем в целом по региону ($p < 0,05$). Хотя, по данным ряда исследований, именно на показатель серо-

позитивности среди медицинских работников стоит опираться, ожидая верхнего предела доли серопозитивных лиц среди населения [8]. Невысокий уровень серопозитивных добровольцев среди работников медицинских организаций, возможно, обусловлен должной готовностью медицинской сети региона к началу эпидемии на территории Саратовской области и рациональным использованием медицинскими работниками средств индивидуальной защиты.

Если выявленные высокие показатели серопозитивности среди представителей различных производств объяснимы сосредоточением работников и тесными контактами между ними, то значимая доля серопозитивных лиц среди служащих министерств и ведомств, отнесенных к государственной службе, не совсем понятна. Показатели серопревалентности, в 1,3 раза превышающие средние по региону значения среди учащихся средних и высших учебных заведений, свидетельствуют, что, несмотря на принятые ограничительные мероприятия и онлайн-характер обучения, «ковидный нигилизм», характерный для этой когорты лиц, приводит к высокой частоте инфицирования. Напротив, среди безработных доля

Таблица 3 / Table 3

Влияние социально-профессиональных факторов на структуру серопревалентности среди населения Саратова и Саратовской области
Influence of socio-professional factors on the structure of seroprevalence among the population of Saratov and the Saratov Region

Группа Group	Объем группы, чел. The amount of group, pers.	Результаты тестирования на наличие IgG к SARS-CoV-2 The results of testing for the presence of IgG antibodies to SARS-CoV-2		Серопревалентность, % (M±m) Seroprevalence, % (M±m)
		серопозитивные seropositive	серонегативные seronegative	
Медицинские работники Medical workers	664	77	587	11,6±2,4*
Работники науки Academic workers	15	0	15	0
Бизнесмены Businessmen	69	12	57	17,4±0,6
Работники образования Education professionals	395	69	326	17,4±1,1
Творческие деятели Creative artists	48	6	42	12,5±2,4
Промышленные работники Industry employees	165	36	129	21,8±2,8*
Работники транспорта Transport workers	32	3	29	9,4±2,8
Военнослужащие Military personnel	33	2	31	6,1±3,2
Госслужащие Civil servants	130	34	96	26,2±2,9*
Офисные работники Office workers	374	60	314	16,0±0,6
Безработные Unemployed	209	30	179	14,4±1,2
Пенсионеры Retirees	425	72	353	16,9±0,5
Учащиеся и студенты Students and schoolchildren	375	79	296	21,0±2,0*
Организованные дошкольники Organized preschoolers	69	11	58	15,9±1,2
Неорганизованные дети Unorganized children	13	1	12	7,7±1,6*
Прочие Other	353	56	297	15,9±0,5
Итого: Total:	3369	548	2821	16,3±0,6

* – различия достоверны по сравнению со среднепопуляционным значением по региону.

* – the differences are significant compared to the average population value for the region.

сероположительных лиц ниже среднего по региону значения, а среди лиц старшего возраста (пенсионеры) – лишь незначительно превышала средний по региону.

Распределение серопозитивных лиц среди жителей областного центра и населения Саратовской области. Данные по серопревалентности среди жителей города областного значения (Саратов) и районов Саратовской области представлены в табл. 4. К сожалению, на долю участников популяционного исследования, проживающих в районах Саратовской области, пришлось менее 17,3 % волонтеров.

Для иллюстрации распределения серопозитивных лиц в районах области взяты лишь данные по тем районам, от которых в исследовании приняли участие 100 и более человек. Адекватно представля-

ется возможным сравнить серопревалентность жителей областного центра и двух районных центров – Балаково и Энгельс. Именно эти районы на протяжении последних месяцев по росту заболеваемости лишь немногим уступают областному центру. Если в целом по районам области серопревалентность регистрировали на уровне чуть ниже средней по региону (табл. 4), то среди выбранных районов показатель серопревалентности варьировал в диапазоне от (10,3±2,9) % в Энгельсе (Энгельсский район) до (18,6±0,8) % в Саратове. Достоверно более высокий уровень серопревалентности отмечали среди жителей областного центра ($p < 0,05$), что, возможно, обусловлено тесными социальными и производственными контактами населения Саратова. Но если сравнить число жителей указанных населенных пунктов, то на территории областного центра в 2,3 раза

Таблица 4 / Table 4

Серопревалентность к SARS-CoV-2 среди жителей Саратова и районов Саратовской области
Seroprevalence to SARS-CoV-2 among residents of Saratov and districts of the Saratov Region

Город / район City / district	Число инфицированных, 0/0000* The number of the infected, 0/0000*	Всего обследовано, чел. Total number of examined, pers.	Серопозитивные, чел. Seropositive, pers.	Серонегативные, чел. Seronegative, (pers.)	Серопревалентность, % (M±m) Seroprevalence, % (M±m)
Саратов / Саратовский район Saratov / Saratov district	2423 / 272	1935	360	1575	18,6±0,8*
Балаково / Балаковский район Balakovo / Balakovo district	560 / 104	524	68	456	13,0±1,7
Энгельс / Энгельсский район Engels / Engels district	530 / 134	329	34	295	10,3±2,9
Прочие районы Other districts	3132 / -	581	86	495	14,8±1,1
Итого: Total:	6645	3369	548	2821	16,3±0,6

* – по состоянию на дату начала исследования.

* – as of the date of the study commencement.

больше жителей, чем в районных центрах Балаково и Энгельс соответственно, а заболеваемость составляла на дату обследования порядка 0,27 % для Саратова и до 0,1 % среди жителей Балаковского и Энгельсского районов, что и объясняет выявленные различия, несмотря на более жесткие ограничительные мероприятия, принятые в областном центре.

Распространенность серопозитивных лиц среди добровольцев, переболевших или имеющих контакт с больными COVID-19. Инфицирование SARS-CoV-2 в большинстве случаев сопровождается сероконверсией, аналогично другим вирусным инфекциям. Суммарные антитела IgM и IgG, как правило, обнаруживают в 95–98 % случаев в интервале (12±5) – (35±5) дней после инфицирования [9].

При обследовании лиц, никогда не имевших явного контакта с больными COVID-19 (2891 волонтер), доля серопозитивных составила (16,3±1,4) % (471 человек). Из 478 обследованных добровольцев, отметивших контакт с больными COVID-19, только 77 человек (16,1±0,6 %) оказались серопозитивными, причем у 6 человек контакт сопровождался последующим заболеванием с подтверждением диагноза COVID-19, а 9 участников отмечали те или иные симптомы ОРВИ.

Из 478 обследованных добровольцев, отметивших контакт с больными COVID-19, 232 (49 %) – жители областного центра и Саратовского района, среди них у 48 (20,7 %) добровольцев выявлены антитела IgG к SARS-CoV-2. В целом по области у 246 добровольцев, отметивших контакт с больными COVID-19, антитела IgG к SARS-CoV-2 выявлены у 29 человек (11,8 %).

Стоит также отметить, что уровень серопозитивных добровольцев среди контактных лиц в Саратове был в 2 раза выше, чем в Саратовской области, что, по-видимому, объясняется более высоким уровнем обследования контактных лиц в областном центре.

Анализ связи между серопревалентностью и результатами определения РНК вируса SARS-CoV-2

в полимеразной цепной реакции (ПЦР) показал, что из 478 контактных лиц, методом ПЦР обследовано только 223 человека (47 %), а положительный результат получен у 20 (9 %). При этом среди ПЦР (-) серопозитивными оказались 29 человек (14,3 %), тогда как среди ПЦР (+) сероконверсия отмечена у 7 человек (35,0 %).

Согласно полученным данным, уровень серопревалентности у ПЦР-негативных лиц (14,6±1,7 %) достоверно не отличался от среднепопуляционного по региону (16,3±0,6 %). При этом обнаружение РНК вируса в ПЦР закономерно сопровождалось развитием адаптивного иммунитета и соответственно ростом числа серопозитивных субъектов в 3,8 раза по сравнению со среднепопуляционным по региону.

Опираясь на данные о вероятности существования перекрестного иммунитета в отношении сезонных коронавирусов, циркулирующих на территории России и вызывающих развитие ОРВИ [10], вычисляли долю серопозитивных лиц среди 175 добровольцев, отметивших наличие признаков респираторного заболевания в течение месяца до исследования. В этой группе специфические антитела IgG к SARS-CoV-2 регистрировали у 40 человек (22,9 %), среди этих добровольцев только у четырех был клинический диагноз COVID-19.

Анализ распространенности бессимптомных форм инфицирования SARS-CoV-2 среди жителей областного и районных центров. Для расчета распространенности бессимптомных форм придерживались методического подхода, изложенного в статье А.Ю. Поповой и соавт. [6], вычисляя среди серопозитивных долю лиц, у которых отсутствует хотя бы один признак: либо диагноз COVID-19, либо положительная ПЦР, либо признаки ОРВИ. Данные по распределению серопозитивных лиц из числа жителей с бессимптомным инфицированием SARS-CoV-2 на территории Саратовской области и в разных возрастных группах приведены в табл. 5 и 6.

Доля лиц с бессимптомным течением инфек-

Таблица 5 / Table 5

Доля лиц с бессимптомным инфицированием SARS-CoV-2 среди серопозитивных жителей Саратова и районных центров
 Percentage of people with asymptomatic SARS-CoV-2 infection among seropositive residents of Saratov and regional centers

Город, район City, district	Всего обследовано Total number of the examined	Серопозитивных Seropositive	Без симптомов инфекции No symptoms of infection	Доля лиц с бессимптомной формой, % Percentage of people with an asymptomatic form, %
Саратов, Саратовский район Saratov, Saratov district	1935	360	334	92,7±2,59
Балаково, Балаковский район Balakovo, Balakovo district	524	68	64	94,1±1,51
Энгельс, Энгельсский район Engels, Engels district	329	34	30	88,2±4,71
Прочие районы Other districts	581	86	77	89,5±3,41
Итого: Total:	3372	548	499	91,1±1,2

ции варьировала в районах области от (88,2±4,71) до (94,1±1,5) % (табл. 5), а среди разных возрастных групп – от (87,0±3,5) до (97,0±2,9) % (табл. 6). Достоверных межгрупповых различий в анализе бессимптомного течения инфекции не выявлено.

Результаты и обсуждение

Саратовская область на период исследования занимает 35-е место в Российской Федерации и 7-е в Приволжском федеральном округе по заболеваемости COVID-19 (4 человека на 100 тыс. населения), а также 19-е место в стране по смертности от этой болезни (2,4 случая на 100 тыс. населения), поэтому результаты серологического исследования важны для планирования дальнейших противоэпидемических мероприятий в регионе. Результаты популяционного исследования распространенности лиц, серопозитивных к SARS-CoV-2, в Саратовской области показывают, что специфические антитела (IgG) к новому коронавирусу выявлены у более 16 % обследованных лиц. Распространенность серопозитивных лиц в областном центре в среднем в 1,5 раза выше, чем в крупных районных центрах (Балаково и Энгельс), что согласо-

ется с данными по другим территориям РФ и результатами исследований за рубежом [5, 6, 11]. Несмотря на явное превалирование гендерных особенностей в распространенности серопозитивных к SARS-CoV-2 лиц в отдельных возрастных группах, тем не менее не выявлено достоверных различий по полу среди обследованных добровольцев при оценке популяционного иммунитета в регионе. Как и в исследовании на территории Испании [11], регистрировали некоторое увеличение серопозитивных лиц в подростковой группе. Низкая распространенность серопозитивных лиц среди детей от 1 года до 6 лет может быть связана как с соблюдением ограничительных мероприятий их родителями, так и с более низкой экспрессией в носу детей младшего возраста гена ангиотензин-превращающего фермента 2 [12].

Если низкая доля серопозитивных лиц среди медицинских работников объяснима с позиции их профессионализма, то высокие показатели серопревалентности среди государственных служащих, возможно, обусловленные более частыми перемещениями по региону, стране и общением с гражданами, свидетельствуют о недостаточном внимании отдельных представителей госслужбы к соблюдению

Таблица 6 / Table 6

Доля лиц с бессимптомным инфицированием SARS-CoV-2 по возрастам среди серопозитивных жителей региона
 Percentage of people with asymptomatic SARS-CoV-2 infection by age among seropositive residents of the region

Группа Group	Серопозитивных Seropositive	Без симптомов инфекции No symptoms of infection	Доля лиц с бессимптомной формой, % Percentage of people with an asymptomatic form, %
1–17	74	68	91,9±3,2
18–29	89	78	87,6±3,5
30–39	101	97	96,0±1,9*
40–49	92	80	87,0±3,5
50–59	91	82	90,1±3,1
60–69	68	62	91,2±3,4
70 лет и старше 70 and above	33	32	97,0±2,9*
Итого: Total:	548	499	91,1±1,2

* – различия достоверны по сравнению со среднепопуляционным значением по региону.

* – the differences are significant compared to the average population value for the region.

принятых мер по предотвращению заражения новой коронавирусной инфекцией.

Серологическое исследование – это инструмент для оценки распространенности инфекционного заболевания и, особенно, его бессимптомных форм [13]. Доля лиц с бессимптомным инфицированием SARS-CoV-2 по возрастам среди серопозитивных жителей региона достигала 97 %, тогда как в ряде исследований отмечается, что на долю бессимптомной инфекции приходится от 4 до 41 % [14]. Такое резкое отличие, возможно, объясняется недостаточным охватом населения ПЦР-исследованиями на SARS-CoV-2 на территории Саратовской области. Но, учитывая, что за период с марта по август 2020 г. в Саратовской области проведено свыше 273 тыс. лабораторных исследований клинического материала на SARS-CoV-2, вероятнее, это обусловлено неоднозначной формулировкой отдельных вопросов в анкете участника исследования, а также представлением неполной информации анкетирруемыми. Хотя, по данным японских исследований, доля серопозитивных лиц превышает число случаев положительного результата ПЦР-анализа на наличие РНК SARS-CoV-2 [15]. Стоит обратить внимание, что из 175 человек, отметивших в анкете признаки ОРВИ, только 33 человека (18,9 %) обследованы ПЦР на SARS-CoV-2 и все они серопозитивные, что согласуется с данными других исследователей о формировании антительного ответа у инфицированных лиц [9]. В то же время среди ПЦР-негативных лиц уровень серопревалентности не превышал 14,3 %, а в группе ПЦР-позитивных достигал 35 %, причем на обнаружение антител среди ПЦР-позитивных лиц оказывало влияние время, прошедшее после проведения ПЦР, которое у серопозитивных добровольцев составило не менее 1 месяца после положительного результата мазка из носоглотки.

Учитывая невысокие показатели серопревалентности на территории Саратовской области, уместно обратить внимание на возможность ложноотрицательных или ложноположительных результатов серологического исследования. Из 175 добровольцев, отметивших признаки ОРВИ, специфические антитела IgG к SARS-CoV-2 регистрировали лишь у 40 человек (22,9 %), а клинический диагноз COVID-19 указан лишь в четырех случаях. Возможно, параллельное применение нескольких тестов для оценки антительного ответа позволило бы получить более достоверные сведения.

В целом заболеваемость COVID-19 в Саратовской области протекает на фоне умеренной серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2, сопровождается высокой частотой (до 97 %) развития инapparантных форм течения инфекционного процесса. Отсутствие клинических симптомов заболевания в условиях ограниченного применения методов определения РНК вируса SARS-CoV-2 в ПЦР затрудняет достоверность оценки реального распространения вируса в популяции и установления сроков фор-

мирования стойкого популяционного иммунитета. Низкий показатель антительного ответа среди лиц с позитивным результатом ПЦР-анализа, как и у добровольцев, перенесших инфекцию в мае–июне 2020 г., свидетельствует о слабом формировании иммунного ответа либо превалировании в популяции индивидуумов, реагирующих преимущественно активацией клеточного звена иммунной системы. Полученные результаты, хотя и нуждаются в объяснении по целому ряду позиций, могут применяться для организации на территории региона профилактических мероприятий, включая вакцинацию.

Таким образом, популяционный иммунитет к SARS-CoV-2 среди населения Саратовской области составил 16,3 % при максимальном его уровне в возрастной группе детей от 7 до 13 лет (20,6 %) и молодежи от 18 до 29 лет (18,8 %). В профессиональном плане наибольший уровень серопозитивных лиц выявлен среди работников крупных производств (21,8 %) и государственных служащих (26,2 %), при этом среди медицинских работников этот показатель не превышал 11,6 %. Отличительной особенностью течения эпидемии новой коронавирусной инфекции на территории Саратовской области является выявление среди серопозитивных к SARS-CoV-2 жителей региона до 91,1 % бессимптомных форм инфекции.

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

Благодарности

Авторы выражают благодарность сотрудникам ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области» (У.А. Кресовой, М.А. Мызникову, Р.П. Мукаеву, В.В. Кудря, Ю.С. Калинин), Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Саратовской области (Н.И. Матвеевой, Г.Н. Архиповой, И.Н. Вяткину) и ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (О.В. Кедровой, С.Н. Ключевой, Т.Н. Каштановой) за помощь при организации и проведении исследования.

Список литературы

1. A public health emergency of international concern over the global outbreak of novel coronavirus declared by WHO. [Электронный ресурс]. URL: [https://www.who.int/dg/speeches/detail/whodirector-general-s-statement-on-ihf-emergency-committee-on-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/dg/speeches/detail/whodirector-general-s-statement-on-ihf-emergency-committee-on-novel-coronavirus-(2019-ncov)).
2. WHO. Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. Data last updated: 2020/8/4, 1:04pm CEST. [Электронный ресурс]. URL: <https://covid19.who.int/>.
3. Iacobucci G. Covid-19: New government study aims to track infection and immunity in population. *BMJ*. 2020; 369:m1636. DOI: 10.1136/bmj.m1636.
4. Randolph H.E., Barreiro L.B. Herd immunity: understanding COVID-19. *Immunity*. 2020; 52(5):737–41. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.04.012.
5. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Фридман Р.К., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Чхинджерия И.Г., Гречанинова Т.А., Агапов К.А., Арсентьева Н.А., Баженова Н.А., Бацунов О.К., Данилова Е.М., Зуева Е.В., Комкова Д.В., Кузнецова Р.Н., Любимова Н.Е., Маркова А.Н., Хамитова И.В., Ломоносова В.И., Ветров В.В., Миличкина А.М., Дедков В.Г.,

Тотоян А.А. Популяционный иммунитет к SARS-CoV-2 среди населения Санкт-Петербурга в период эпидемии COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 3:124–30. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.

6. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Историк О.А., Мосевич О.С., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Черный М.А., Балабашева Н.С., Логинова И.С., Владимиров О.С., Самогладова И.С., Васев Н.А., Румянцев С.В., Чупалова Е.Ю., Селиванова Г.В., Муравьева М.В., Тимофеева Л.В., Ханкишиева Э.Н., Тылчевская В.Д., Никитенко Н.Д., Костеницкая Т.И., Виркунен Н.В., Климкина И.М., Кузьмина Т.М., Дегтяренко Н.В., Базунова А.И., Филиппова Л.А., Пальчикова Н.А., Кукишкин А.В., Арсентьева Н.А., Бацунов О.К., Богумильчик Е.А., Воскресенская Е.А., Дробышевская В.Г., Зуева Е.В., Кокорина Г.И., Курова Н.Н., Любимова Н.Е., Ферман Р.С., Хамдулаева Г.Н., Хамитова И.В., Хорькова Е.В., Миличкина А.М., Дедков В.Г., Тотоян А.А. Оценка популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 среди населения Ленинградской области в период эпидемии COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 3:114–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-114-123.

7. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). COVID-19 clusters and outbreaks in occupational settings in the EU/EEA and the UK. Aug 11, 2020. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/COVID-19-in-occupational-settings.pdf>.

8. Garcia-Basteiro A.L., Moncunill G., Tortajada M., Vidal M., Guinovart C., Jimenez A., Santano R., Sanz S., Mendez S., Llopia A., Aguilar R., Alonso S., Barrios D., Carolis C., Cistero P., Cholz E., Cruz A., Fochs S., Jairoce Ch., Hecht J., Lamoglia M., Martinez M.J., Mitchell R.A., Ortega N., Pey N., Puyol L., Ribes M., Rosell N., Sotomayor P., Torres S., Williams S., Barroso S., Vilella A., Munoz J., Trilla A., Varela P., Mayor A., Dobaño C. Seroprevalence of antibodies against SARS-CoV-2 among health care workers in a large Spanish reference hospital. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):3500. DOI: 10.1038/s41467-020-17318-x.

9. Health information and quality authority. Evidence summary of the immune response following infection with SARS-CoV-2 or other human coronaviruses. Aug 6, 2020. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.hiqa.ie/sites/default/files/2020-08/Evidence-summary SARS-CoV-2-immune-response.pdf>.

10. Писарева М.М., Едер В.А., Бузицкая Ж.В., Мусаева Т.Д., Афанасьева В.С., Го А.А., Образцова Е.А., Суховецкая В.Г., Комиссаров А.Б. Этиологическая структура гриппа и других и других ОРВИ в Санкт-Петербурге в эпидемические сезоны 2012–2016 гг. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(5):233–9. DOI: 10.18821/0507-4088-2018-63-5-233-239.

11. Pollán M., Pérez-Gómez B., Pastor-Barriuso R., Oteo J., Hernán M.A., Pérez-Olmeda M., Sanmartín J.L., Fernández-García A., Cruz I., Fernández de Arrea N., Molina M., Rodríguez-Cabrera F., Martín M., Merino-Amador P., León Paniagua J., Muñoz-Montalvo J.F., Blanco F., Yotti R. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet*. 2020; 396(10250):535–44. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31483-5.

12. Bunyavanich S., Do A., Vicencio A. Nasal gene expression of angiotensin-converting enzyme 2 in children and adults. *JAMA*. 2020; 323(23):2427–9. DOI: 10.1001/jama.2020.8707.

13. Metcalf C.J.E., Farrar J., Cutts F.T., Basta N.E., Graham A.L., Lessler J., Ferguson N.M., Burke D.S., Grenfell B.T. Use of serological surveys to generate key insights into the changing global landscape of infectious disease. *Lancet*. 2016; 388(10045):728–30. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30164-7.

14. Byambasuren O., Cardona M., Bell K., Clark J., McLaws M.-L., Glasziou P. Estimating the extent of true asymptomatic COVID-19 and its potential for community transmission: systematic review and meta-analysis. *SSRN Electronic Journal*. 2020, Jun 04. DOI: 10.2139/ssrn.3586675.

15. Doi A., Iwata K., Kuroda H., Hasuike T., Nasu S., Kanda A., Nagao T., Nishioka H., Tomii K., Morimoto T., Kihara Y. Estimation of seroprevalence of novel coronavirus disease (COVID-19) using preserved serum at an outpatient setting in Kobe, Japan: A cross-sectional study (Preprint). *medRxiv*. 2020, May 05. DOI: 10.1101/2020.04.26.20079822.

References

1. A public health emergency of international concern over the global outbreak of novel coronavirus declared by WHO. [Internet]. Available from: [https://www.who.int/dg/speeches/detail/whodirector-general-s-statement-on-ihf-emergency-committee-on-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/dg/speeches/detail/whodirector-general-s-statement-on-ihf-emergency-committee-on-novel-coronavirus-(2019-ncov)).

2. WHO. Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. Data last updated: 2020/8/4, 1:04pm CEST. [Internet]. Available from: <https://covid19.who.int/>.

3. Iacobucci G. Covid-19: New government study aims to track

infection and immunity in population. *BMJ*. 2020; 369:m1636. DOI: 10.1136/bmj.m1636.

4. Randolph H.E., Barreiro L.B. Herd immunity: understanding COVID-19. *Immunity*. 2020; 52(5):737–41. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.04.012.

5. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Bashketova N.S., Fridman R.K., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Chkhindzheriya I.G., Grechaninova T.A., Agapov K.A., Arsent'eva N.A., Bazhenova N.A., Batsunov O.K., Danilova E.M., Zueva E.V., Komkova D.V., Kuznetsova R.N., Lyubimova N.E., Markova A.N., Khamitova I.V., Lomonosova V.I., Vetrov V.V., Milichkina A.M., Dedkov V.G., Totolyan A.A. [Herd Immunity to SARS-CoV-2 among the Population in Saint-Petersburg during the COVID-19 Epidemic]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):124–30. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.

6. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Historik O.A., Mosevich O.S., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Cherny M.A., Balabysheva N.S., Loginova I.S., Vladimirova O.S., Samoglyadova I.S., Vasev N.A., Rummyantseva S.V., Chupalova E.Yu., Selivanova G.V., Muraviova M.V., Timofeeva L.V., Khankishieva E.N., Tylchevskaya V.D., Nikitenko N.D., Kostenitskaya T.I., Virkunen N.V., Klimkina I.M., Kuzmina T.M., Degtyarenko N.V., Bazunova A.I., Filippova L.A., Palchikova N.A., Kukshkin A.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Bogumilchik E.A., Voskresenskaya E.A., Drobyshevskaya V.G., Zueva E.V., Kokorina G.I., Kurova N.N., Lyubimova N.E., Ferman R.S., Khamdulaeva G.N., Khamitova I.V., Khorkova E.V., Milichkina A.M., Dedkov V.G., Totolyan A.A. [Assessment of the Herd Immunity to SARS-CoV-2 among the Population of the Leningrad Region during the COVID-19 Epidemic]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):114–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-114-123.

7. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). COVID-19 clusters and outbreaks in occupational settings in the EU/EEA and the UK. Aug 11, 2020. [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/COVID-19-in-occupational-settings.pdf>.

8. Garcia-Basteiro A.L., Moncunill G., Tortajada M., Vidal M., Guinovart C., Jimenez A., Santano R., Sanz S., Mendez S., Llopia A., Aguilar R., Alonso S., Barrios D., Carolis C., Cistero P., Cholz E., Cruz A., Fochs S., Jairoce Ch., Hecht J., Lamoglia M., Martinez M.J., Mitchell R.A., Ortega N., Pey N., Puyol L., Ribes M., Rosell N., Sotomayor P., Torres S., Williams S., Barroso S., Vilella A., Munoz J., Trilla A., Varela P., Mayor A., Dobaño C. Seroprevalence of antibodies against SARS-CoV-2 among health care workers in a large Spanish reference hospital. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):3500. DOI: 10.1038/s41467-020-17318-x.

9. Health information and quality authority. Evidence summary of the immune response following infection with SARS-CoV-2 or other human coronaviruses. Aug 6, 2020. [Электронный ресурс]. Available from: <https://www.hiqa.ie/sites/default/files/2020-08/Evidence-summary SARS-CoV-2-immune-response.pdf>.

10. Pisareva M. M., Eder V.A., Buzitskaya Zh.V., Musaeva T.D., Afanaseva V.S., Go A.A., Obratsova E.A., Sukhovetskaya V.F., Komissarov A.B. [Etiological Structure of Influenza and Other ARVI in St. Petersburg during Epidemic Seasons 2012–2016]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2018; 63(5):233–9. DOI: 10.18821/0507-4088-2018-63-5-233-239.

11. Pollán M., Pérez-Gómez B., Pastor-Barriuso R., Oteo J., Hernán M.A., Pérez-Olmeda M., Sanmartín J.L., Fernández-García A., Cruz I., Fernández de Arrea N., Molina M., Rodríguez-Cabrera F., Martín M., Merino-Amador P., León Paniagua J., Muñoz-Montalvo J.F., Blanco F., Yotti R. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet*. 2020; 396(10250):535–44. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31483-5.

12. Bunyavanich S., Do A., Vicencio A. Nasal gene expression of angiotensin-converting enzyme 2 in children and adults. *JAMA*. 2020; 323(23):2427–9. DOI: 10.1001/jama.2020.8707.

13. Metcalf C.J.E., Farrar J., Cutts F.T., Basta N.E., Graham A.L., Lessler J., Ferguson N.M., Burke D.S., Grenfell B.T. Use of serological surveys to generate key insights into the changing global landscape of infectious disease. *Lancet*. 2016; 388(10045):728–30. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30164-7.

14. Byambasuren O., Cardona M., Bell K., Clark J., McLaws M.-L., Glasziou P. Estimating the extent of true asymptomatic COVID-19 and its potential for community transmission: systematic review and meta-analysis. *SSRN Electronic Journal*. 2020, Jun 04. DOI: 10.2139/ssrn.3586675.

15. Doi A., Iwata K., Kuroda H., Hasuike T., Nasu S., Kanda A., Nagao T., Nishioka H., Tomii K., Morimoto T., Kihara Y. Estimation of seroprevalence of novel coronavirus disease (COVID-19) using preserved serum at an outpatient setting in Kobe, Japan: A cross-sectional study (Preprint). *medRxiv*. 2020, May 05. DOI: 10.1101/2020.04.26.20079822.

Authors:

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

Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A. 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.

Kutyrev V.V., Bugorkova S.A., Portenko S.A., Naydenova E.V., Shcherbakova S.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Kozhanova O.I. Rospotrebnadzor Administration for the Saratov Region. 7, Volskaya St., Saratov, 410028, Russian Federation. E-mail: sarprn@san.ru.

Cherkasskaya T.S. Center of Hygiene and Epidemiology in the Saratov Region. 69, Bolshaya Gornaya St., Saratov, 410031, Russian Federation. E-mail: fguz@gigiena-saratov.ru.

Lyalina V.I., Smirnov V.S., Lomonosova V.I., Totolyan A.A. Saint Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 14, Mira St., Saint Petersburg, 197101, Russian Federation. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Об авторах:

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

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

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

Кожанова О.И. Управление Роспотребнадзора по Саратовской области. Российская Федерация, 410028, Саратов, ул. Вольская, д. 7. E-mail: sarprn@san.ru.

Черкасская Т.С. Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области. Российская Федерация, 410031, Саратов, ул. Большая Горная, 69. E-mail: fguz@gigiena-saratov.ru.

Лялина В.И., Смирнов В.С., Ломоносова В.И., Тотолян А.А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера. Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-117-124

УДК 616.98:578.2(470.61)

А.Ю. Попова^{1,2}, Е.Б. Ежлова¹, А.А. Мельникова¹, А.К. Носков³, Е.В. Ковалев⁴, Г.В. Карпущенко⁵,
Л.В. Лялина⁶, В.С. Смирнов⁶, О.С. Чемисова³, А.В. Тришина³, Е.А. Березняк³, С.В. Воловикова³,
С.И. Стенина³, Е.Г. Янович³, М.Г. Мелоян³, Н.Ю. Асмолова⁵, А.А. Усова⁵, С.С. Слись⁴, А.А. Тотолян⁶

ОЦЕНКА ПОПУЛЯЦИОННОГО ИММУНИТЕТА К SARS-CoV-2 НА ТЕРРИТОРИИ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

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

²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Российская Федерация;

³ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

⁴Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ростовской области, Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ⁵ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области», Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ⁶ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

В Российской Федерации к августу 2020 г. подтверждено более 850 тыс. случаев заболевания новой корона-вирусной инфекцией (COVID-19), вызванной SARS-CoV-2. Ростовская область вошла в число десяти наиболее пораженных регионов России. Распространение болезни во многом определяется состоянием популяционного иммунитета на определенной территории. **Целью** настоящего исследования являлись изучение специфического гуморального иммунного ответа и оценка уровня популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди населения Ростовской области. **Материалы и методы.** В исследовании приняли участие 3048 человек. Волонтеры распределялись по семи возрастным группам. Содержание антител к SARS-CoV-2 определяли методом ИФА с использованием набора для анализа сыворотки или плазмы крови человека на наличие специфических IgG к нуклеокапсиду вируса SARS-CoV-2 производства Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии (Оболensk) в соответствии с инструкцией по применению. **Результаты и обсуждение.** Проведенная оценка серопревалентности к SARS-CoV-2 жителей Ростовской области показала, что доля лиц с положительными результатами теста на антитела IgG к новому коронавирусу составила 16,5 %, доля серопозитивных лиц в генеральной совокупности находится в пределах от 13,9 до 19,1 % ($p < 0,05$). Достоверных гендерных различий в уровне серопревалентности не установлено, положительный результат зарегистрирован у 16,6 % обследованных женщин и 16,5 % мужчин. Установлен высокий уровень гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 на фоне низких показателей заболеваемости у лиц в возрасте от 1 года до 17 лет, что может свидетельствовать о доминировании бессимптомных форм болезни среди данной возрастной группы. Наибольший уровень серопозитивности выявлен среди дошкольников (33,6 %), учащихся (29,3 %), служащих (17,3 %), работников образования (15,3 %).

Ключевые слова: COVID-19, популяционный иммунитет, антитела IgG, Ростовская область.

Корреспондирующий автор: Носков Алексей Кимович, e-mail: plague@aaaanet.ru.

Для цитирования: Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Носков А.К., Ковалев Е.В., Карпущенко Г.В., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Чемисова О.С., Тришина А.В., Березняк Е.А., Воловикова С.В., Стенина С.И., Янович Е.Г., Мелоян М.Г., Асмолова Н.Ю., Усова А.А., Слись С.С., Тотолян А.А. Оценка популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 на территории Ростовской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:117–124. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-117-124

Поступила 21.09.20. Отправлена на доработку 09.11.20. Принята к публ. 20.11.20.

A.Yu. Popova^{1,2}, E.B. Ezhlova¹, A.A. Mel'nikova¹, A.K. Noskov³, E.V. Kovalev⁴, G.V. Karpushchenko⁵,
L.V. Lyalina⁶, V.S. Smirnov⁶, O.S. Chemisova³, A.V. Trishina³, E.A. Bereznayk³, S.V. Volovikova³,
S.I. Stenina³, E.G. Yanovich³, M.G. Meloyan³, N.Yu. Asmolova⁵, A.A. Usova⁵, S.S. Slis⁴, A.A. Totolyan⁶

Assessment of Population Immunity to SARS-CoV-2 Virus in the Rostov Region

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

²Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation;

³Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

⁴Rospotrebnadzor Administration in the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russian Federation;

⁵Saint of Hygiene and Epidemiology in the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russian Federation;

⁶Saint-Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. By August 2020, more than 850000 cases of new coronavirus infection (COVID-19) caused by SARS-CoV-2 were confirmed in the Russian Federation, with the Rostov Region as one of the ten most affected regions in Russia. The spread of the disease is largely determined by the state of population immunity in a certain area. Our research focuses on specific humoral immune response and estimates the level of herd immunity to SARS-CoV-2 virus among the population of the Rostov Region. **Materials and methods.** The study involved 3,048 people; the volunteers participating in the study were divided into seven age groups. The content of antibodies to SARS-CoV-2 was determined applying ELISA using a kit for the analysis of human serum or blood plasma for the presence of specific IgG to the nucleocapsid of the SARS-CoV-2 virus, manufactured by the State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology (Obolensk) in accordance with the instructions for use. **Results and discussion.** The assessment of seroprevalence to SARS-CoV-2 in the Rostov Region showed that the proportion of people positive for IgG to the new coronavirus was 16.5 %, the range of seropositive individuals in the general population was between 13.9 % and 19.1 % ($p < 0.05$). There

were no significant gender differences in the degree of seroprevalence with a positive result registered in 16.6 % of women and 16.5 % of men. A high level of humoral immunity to SARS-CoV-2 was established in individuals aged 1–17 against the background of low incidence rates, which may indicate the dominance of asymptomatic forms of the disease in this age group. The highest level of seropositivity was found in preschool children (33.6 %), students (29.3 %), employees (17.3 %), and education professionals (15.3 %).

Key words: COVID-19, population immunity, antibody IgG, Rostov Region.

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

Corresponding author: Aleksey K. Noskov, e-mail: plague@aaanet.ru.

Citation: Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Noskov A.K., Kovalev E.V., Karpushchenko G.V., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Chemisova O.S., Trishina A.V., Bereznayak E.A., Volovikova S.V., Stenina S.I., Yanovich E.G., Meloyan M.G., Asmolova N.Yu., Usova A.A., Slis' S.S., Totolyan A.A. Assessment of Population Immunity to SARS-CoV-2 Virus in the Rostov Region. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:117–124. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-117-124

Received 21.09.20. Revised 09.11.20. Accepted 20.11.20.

Popova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4315-5307>
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>
Kovalev E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0840-4638>
Karpushchenko G.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4672-8753>
Lyalina L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9921-3505>
Smirnov V.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2723-1496>
Chemisova O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>
Trishina A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8249-6577>
Bereznayak E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9416-2291>

Volovikova S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3064-8177>
Stenina S.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4879-6717>
Yanovich E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7571-7848>
Meloyan M.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7268-9298>
Asmolova N.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9087-8081>
Usova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2258-118X>
Slis' S.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2649-8949>
Totolyan A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Коронавирусы – это семейство РНК-содержащих вирусов, включающее виды, патогенные как для животных, так и для человека. Впервые коронавирусы человека выделены D.A. Tyrrell и M.L. Vynoe в 1965 г. от пациента с острым ринитом [1]. До 2002 г. считалось, что у людей представители семейства *Coronaviridae* вызывают легкие по течению острые респираторные инфекции (ОРВИ) с поражением верхних дыхательных путей. Однако в 2002–2003 гг. болезнь, вызванная SARS-CoV (ТОРС, SARS), получила эпидемическое распространение среди населения 26 стран. По официальным данным, в этот период заболело 8422 человека, в 916 случаях тяжелое течение болезни окончилось летальным исходом [2]. В 2012 г. в Саудовской Аравии зарегистрирована болезнь, получившая название «ближневосточный респираторный синдром» (ББРС, MERS). Всего в мире зарегистрировано 2519 случаев MERS, в том числе 866 – с летальными исходами. Эпидемическое распространение MERS отмечено в основном среди населения стран Аравийского полуострова [3].

В декабре 2019 г. в городе Ухань (КНР) официально зарегистрирован первый случай новой коронавирусной инфекции (COVID-19), вызванной SARS-CoV-2. Пандемическое распространение COVID-19 оказало существенное влияние на общественное здравоохранение многих стран, и 30.01.2020 Всемирная организация здравоохранения объявила о введении режима чрезвычайной ситуации в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение [4]. Заболевания людей COVID-19 отмечены более чем в 200 странах. Кумулятивный показатель числа заболеваний на 6 августа 2020 г. составил 872403 человека, из них 677365 выздоровело и 14638 умерло (<https://coronavirus-monitor.ru/coronavirus-v-rossii/>).

В Ростовской области первый случай новой коронавирусной инфекции (COVID-19) выявлен 25 марта 2020 г. (13-я календарная неделя) у вернувшейся из Таиланда жительницы г. Ростова-на-Дону

с признаками болезни. Достоверный рост числа случаев COVID-19 приходится на 15-ю неделю, когда зафиксировано 43 больных. Кривая заболеваемости жителей Ростовской области характеризуется максимальными показателями в период с 1 по 7 июня 2020 г., после чего отмечена нисходящая тенденция, пришедшаяся на период 6–12 июля 2020 г. После достижения минимальных значений вновь наметилась тенденция к росту заболеваемости, что, вероятно, связано с отменой ряда противоэпидемических ограничений и началом сезона, сопровождающегося интенсивной миграцией туристов. В связи с этим важно отметить точность выбора срока исследования серопревалентности, пришедшегося на 23 июня – 10 июля 2020 г. Можно полагать, что в период нисходящего тренда результаты исследования в максимальной степени отражают серопревалентность коренного населения, но не туристов, приехавших на отдых из других регионов. Не исключено, что тенденция к росту заболеваемости, наблюдающаяся с 13 июля 2020 г., потребует более пристального внимания к соблюдению мер противоэпидемической безопасности, интерес представляет исследование динамики популяционного иммунитета, формирующегося на фоне тенденции к росту заболеваемости.

Распространение болезни во многом определяется состоянием популяционного иммунитета на определенной территории. Приобретенный иммунитет формируется на уровне индивида путем естественного заражения патогеном либо путем специфической иммунизации. Популяционный иммунитет складывается из иммунитета индивидуумов и является косвенной защитой от эпидемического распространения болезни, когда в популяции существует достаточно большая доля иммунных лиц. Точка, в которой доля восприимчивых лиц ниже порога, необходимого для передачи инфекции, называется порогом популяционного иммунитета [5]. Порог популяционного иммунитета зависит от базового репродуктивного числа (R_0). В своей простейшей форме

популяционный иммунитет начинает действовать, когда доля лиц, обладающих иммунитетом к патогену, пересечет $(1-1/R_0)$. На R_0 влияют многочисленные биологические, социально-поведенческие и экологические факторы. Часть этих факторов (инфекционность возбудителя и ее продолжительность, механизм передачи возбудителя) являются биологическими константами, другие могут изменяться, например плотность населения, социальная организация, возрастная структура, климатические условия, что может привести к искажению прогнозов и требует обоснованной интерпретации [6].

В период распространения SARS-CoV-2 различными исследователями базовое репродуктивное число вируса оценивалось в диапазоне от 2 до 6. При R_0 , равном 3 для SARS-CoV-2, порог популяционного иммунитета составляет приблизительно 67 % [7]. Поскольку SARS-CoV-2 является новым патогеном, многие аспекты его передачи от человека к человеку и развития инфекционного процесса недостаточно охарактеризованы. Необходим систематизированный серологический мониторинг, результаты которого могут составлять основу для эпидемиологического прогноза, а также для разработки стратегии специфической профилактики.

Целью настоящего исследования являлось изучение специфического гуморального иммунного ответа и оценка уровня популяционного иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 среди населения Ростовской области.

Материалы и методы

Работа проводилась в рамках первого этапа широкомасштабного проекта Роспотребнадзора по оценке популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 у населения Российской Федерации, разработанного при участии ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» с учетом протокола, рекомендованного ВОЗ. Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера». Перед началом исследования все участники или их юридические представители ознакомились с целью, методикой исследования и подписали информированное согласие.

Отбор волонтеров для исследования проводили методом анкетирования и рандомизации путем случайной выборки. Критерием исключения являлась активная инфекция COVID-19 в момент анкетирования. Объем выборки определяли по методике, предложенной R.G. Newcombe в 1998 г. [8] и примененной при исследовании популяционного иммунитета в рамках настоящей программы Роспотребнадзора [9].

В исследовании приняли участие 3048 человек. Волонтеры распределены по семи возрастным группам: от 1 года до 17 лет ($n=404$), от 18 до 29 лет ($n=394$), от 30 до 39 лет ($n=453$), от 40 до 49 лет ($n=512$), от 50 до 59 лет ($n=440$), от 60 до 69 лет ($n=453$), 70 лет и старше ($n=392$).

Когорта волонтеров включала 899 мужчин и 2149 женщин. Соотношение мужчин и женщин составило 29,5 и 70,5 % соответственно, т.е. участие женщин в исследовании было в 2,3 раза активнее.

Доля переболевших COVID-19 с диагнозом, установленным в лечебно-профилактическом учреждении, составила 0,8 % (25 человек), а доля волонтеров, имевших признаки ОРЗ в день обследования, – 0,7 % (21 человек).

Взятие крови осуществляли из локтевой вены в количестве 3 мл. Исследование сывороток крови проводили с использованием набора реагентов для анализа сыворотки или плазмы крови человека на наличие специфических иммуноглобулинов класса G к нуклеокапсиду вируса SARS-CoV-2 методом иммуноферментного анализа (набор реагентов «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» производства ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии») в соответствии с инструкцией разработчика.

Статистическую обработку проводили с использованием программы Excel и сайта www.medstatistic.ru. Номинальные данные описывали с указанием абсолютных значений и процентных долей. Сравнение номинальных данных проводили при помощи критерия χ^2 Пирсона. Значение критерия χ^2 сравнивали с критическими значениями для соответствующего числа степеней свободы. В том случае, если полученное значение критерия χ^2 превышало критическое, делали вывод о наличии статистической взаимосвязи. Корреляционную зависимость оценивали методом ранговой корреляции Спирмена. Для оценки достоверности различий показателей использовали уровень вероятности $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Проведенное исследование серопревалентности к SARS-CoV-2 жителей Ростовской области показало, что точечная оценка доли лиц, положительных на IgG к новому коронавирусу, рассчитанная по исследуемой выборке, составила $(16,5\pm 0,67)$ % (табл. 1), доля серопозитивных лиц в генеральной совокупности находится в пределах от 13,9 до 19,1 % ($p<0,05$).

Следует отметить, что наиболее высокая доля положительных результатов отмечена среди лиц в возрасте от 1 года до 17 лет – $(30,7\pm 4,5)$ %. Причем практически во всех административных территориях, участвовавших в исследовании, уровень положительных проб в этой возрастной категории значительно превышал средний по муниципальному образованию (рисунок). Так, в г. Волгодонске в этой возрастной категории населения зарегистрирован положительный результат в $(33,3\pm 5,8)$ % случаев, в г. Каменске-Шахтинском – в $(34,1\pm 7,1)$ %, г. Ростова-Дону – $(31,8\pm 3,5)$ %, г. Шахты – $(25\pm 6,3)$ %, г. Таганроге – $(19,4\pm 4,8)$ %.

В связи с существенным отличием числа положительных проб среди детей от других возрастных

Таблица 1 / Table 1

Серопревалентность населения Ростовской области к SARS-CoV-2

Seroprevalence of the population in the Rostov Region to SARS-CoV-2

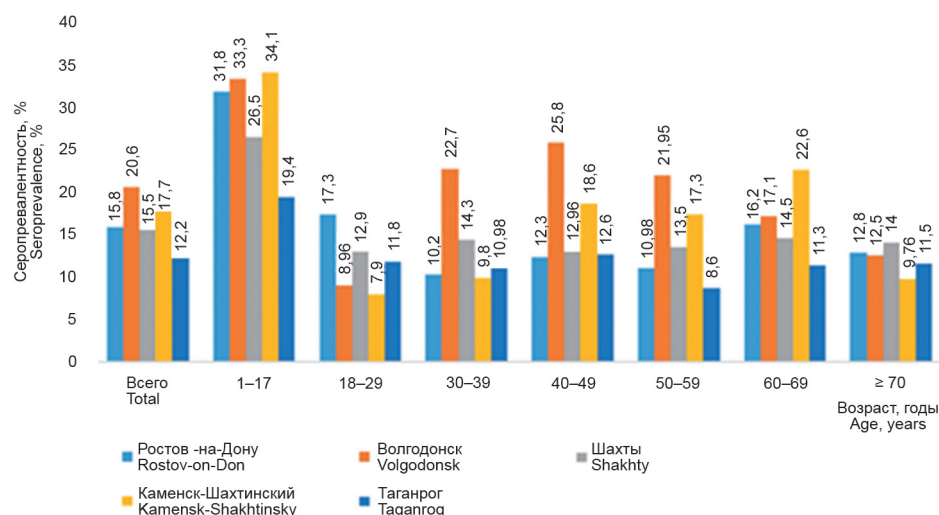
Возраст, годы Age, years		Количество исследованных проб The number of examined samples	Из них IgG+ к SARS-CoV-2 Of these, IgG+ to SARS-CoV-2	Количество исследованных проб The number of examined samples
			абс. abs.	%, M±m
1–17		404	124	30,7±4,5
в том числе including	1–6	105	38	36,2±9,2
	7–13	198	66	33,3±6,6
	14–17	101	20	19,8±7,8
18–29		394	53	13,5±3,4
30–39		453	58	12,8±3,1
40–49		512	82	16,0±3,2
50–59		440	64	14,5±3,3
60–69		453	74	16,3±3,4
≥70		392	49	12,5±3,3
Всего Total		3048	504	16,5±1,3

категорий мы разделили эту группу на три подгруппы: 1–6 лет, 7–13 лет, 14–17 лет. Как следует из представленных данных, наибольший уровень серопозитивности выявлен среди детей в возрасте 1–6 и 7–13 лет. Достоверной разницы в доле серопозитивных проб среди детей, посещающих дошкольные учреждения, и неорганизованных детей не обнаружено ($p>0,05$), что может быть связано с соблюдением режима самоизоляции 90,6 % детей в возрасте от 1 года до 6 лет на момент проведения исследования. В то же время доля ПЦР-положительных на SARS-CoV-2 лиц в возрасте 1–17 лет на 23.06.2020 составляла около 7 %. Выявление высокого процента серопозитивных проб среди детей может быть обусловлено либо бессимптомным носительством и, как следствие, отсутствием обращений в медицинские организации и обследования методом ПЦР, либо возможностью перекрестных реакций с другими коронавирусами. Данный факт, несомненно, требует дальнейшего изучения.

Доля IgG-положительных образцов у лиц стар-

ше 70 лет наиболее низкая по сравнению с остальными возрастными группами – (12,5±3,3) %, что в совокупности с высокой частотой хронических заболеваний сердечно-сосудистой системы у этой группы населения и повышенным риском развития тяжелого течения коронавирусной болезни свидетельствует о необходимости организации и проведения систематической специфической и неспецифической профилактики COVID-19 среди пожилого населения.

Достоверных гендерных различий в уровне серопревалентности не установлено, положительный результат зарегистрирован у (16,5±0,8) % (355 из 2149) обследованных женщин и (16,6±1,24) % (149 из 899) мужчин ($p>0,05$). При анализе результатов исследования среди разных социальных и профессиональных групп установлено, что наибольший уровень серопозитивности выявлен среди дошкольников – (33,6±4,4) %, учащихся – (29,3±2,5) %, служащих – (17,3±1,5) %, работников образования – (15,3±2,2) % (табл. 2). Среди остальных профессио-



Серопревалентность в разных возрастных группах населения городских округов Ростовской области к SARS-CoV-2

Seroprevalence in different age groups of the population of urban districts in the Rostov Region to SARS-CoV-2

Таблица 2 / Table 2

Серопревалентность к SARS-CoV-2 в разных профессиональных и социальных группах населения
Seroprevalence to SARS-CoV-2 across different occupational and social groups

Группа Group	Количество исследованных проб The number of examined samples	Из них IgG+ к SARS-CoV-2 Of these, IgG+ to SARS-CoV-2	
		абс. abs.	%, M±m
Служащие Office workers	631	109	17,3±1,5
Пенсионеры Retirees	501	63	12,6±1,5
Медицинские работники Medical personnel	360	45	12,5±1,7
Работники образования Education professionals	268	41	15,3±2,2
Безработные Unemployed	212	29	13,7±2,4
ИП и самозанятые Businessmen	212	28	13,2 ± 2,3
Рабочие производств Factory workers	200	23	11,5±2,3
Работники торговли Tradesmen	110	16	14,5±3,4
Работники сферы услуг Service employees	65	8	12,3±4,1
Учащиеся Students	321	94	29,3±2,5
Дошкольники Preschool children	113	38	33,6±4,4
Прочие Other	55	10	18,2±5,2

нальных групп доля положительных проб составляла от (11,5±2,3) % до (18,2±5,2) %. Обращает на себя внимание факт относительно невысокого числа серопозитивных лиц среди медицинских работников – (12,5±1,7) %, несмотря на высокий риск контакта с носителями вируса и больными COVID-19, что может быть обусловлено достаточным уровнем подготовки по вопросам соблюдения требований биологической безопасности в медицинских организациях.

При анкетировании волонтеры указывали информацию о соблюдении режима самоизоляции в связи с распространением новой коронавирусной инфекции. Статистически достоверных отличий в показателях серопревалентности среди лиц в возрасте старше 18 лет, находящихся на самоизоляции и продолжающих работать, не установлено. В указанных группах выявлено (14,8±1,2) % (139 из 939) и (13,9±0,8) % (241 из 1705) положительных проб соответственно ($p>0,05$).

В программе по оценке популяционного иммунитета приняли участие жители пяти городских округов Ростовской области, численность населения которых составляет 44,6 % от общего числа жителей области (табл. 3). При выборе городов Ростовской области для проведения исследования учитывали не только численность и плотность населения, но и площадь городских округов, наличие крупных пред-

приятий, логистические связи с Кавказом, югом и центром России, миграцию из других регионов страны и населенных пунктов области.

По административным территориям области наибольшая доля положительных проб выявлена в Волгодонске, наименьшая – в Таганроге, что соответствует наименьшему, из числа включенных в исследование административных территорий области, уровню заболеваемости (69,17 на 100 тыс. населения). В связи с этим оценивали соотношение заболеваемости и серопозитивности в крупнейших населенных пунктах Ростовской области. Расчет провели по методу ранговой корреляции Спирмена. Рассчитанный коэффициент ранговой корреляции составил 0,1, пороговое значение равно 2,4. Таким образом, корреляционная связь между сравниваемыми показателями заболеваемости и серопревалентности не доказана. Вместе с тем следует подчеркнуть, что объем сравниваемых данных невелик и не дает оснований для достоверного вывода.

Распределение серопревалентности по возрастным группам в сравниваемых городах в целом соответствует среднеобластному уровню (табл. 3) с некоторыми особенностями. Так, наименьший уровень сероконверсии среди детей отмечен в Таганроге и Шахтах. В возрастных группах 30–39, 40–49 и 50–59 лет наибольшая доля серопревалентных лиц прихо-

Таблица 3 / Table 3

Заболееваемость COVID-19 в городских округах Ростовской области

Incidence of COVID-19 in urban districts of the Rostov Region

Территория Territory	Количество лабораторно подтвержденных случаев COVID-19 (на 23.06.2020) The number of COVID-19 cases confirmed by laboratory testing (as of June 23, 2020)	Численность населения (на 01.01.2020) Population size (as of January 01, 2020)	Интенсивный показатель заболеваемости (на 23.06.2020), ‰ Incidence (as of June 23, 2020), ‰	Количество исследованных сывороток The number of examined sera	Сeropревалентность ($M \pm m$), % Seroprevalence ($M \pm m$), %
Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	2836	1 133 307	250,24	1327	16,1 $\pm$ 1,0
Волгодонск Volgodonsk	139	171 952	80,84	514	21,4 $\pm$ 1,8
Каменск-Шахтинский Kamensk-Shakhtinsky	174	88 319	197,01	328	18,3 $\pm$ 2,1
Таганрог Taganrog	172	248 664	69,17	525	12,2 $\pm$ 1,4
Шахты Shakhty	469	231 646	202,46	354	15,5 $\pm$ 1,9

дится на Волгодонск, который по этому показателю лидирует и в целом по области. На данном этапе сложно дать объяснение полученным результатам. Вероятно, потребуются дополнительные исследования эпидемиологической и экологической направленности.

Важное значение на результаты формирования коллективного иммунитета и важнейшего его фактора – сероконверсии – может оказать социальный и/или профессиональный фактор; и это не только лица пожилого и старческого возраста, но и работники здравоохранения, социальных служб, торговли, имеющие высокий риск контакта с потенциальными носителями вируса SARS-CoV-2 [10, 11]. Исследование серопревалентности в различных социально-профессиональных группах показало неоднозначные результаты (табл. 2).

Из числа волонтеров 136 лиц имели контакт с больными COVID-19, при этом 31 из них были серопозитивными, что составляет (22,8 $\pm$ 3,6) %. Выявлены статистически достоверные отличия по сравнению с группой лиц, не имевших контакта с больными, в которой доля положительных результатов на антитела IgG к SARS-CoV-2 составила (16,2 $\pm$ 0,7) % ($p < 0,05$).

Как уже отмечено выше, наибольшая доля серопревалентных лиц относится к группам дошкольников и учащихся. Уровень сероконверсии среди медицинских работников, напротив, не показал сколько-нибудь значимого роста, зато среди работников образования отмечен достоверный рост доли сероположительных лиц по сравнению с медицинскими работниками ($p < 0,05$). Низкая доля серопревалентных лиц среди пенсионеров, вероятно, связана с меньшей мобильностью этой группы и сопутствующей этому меньшей вероятностью контакта с вирусом.

Согласно данным литературы, значительная часть случаев заражения COVID-19 протекает бессимптомно [12], в то же время противоречивы данные о роли гуморального иммунитета при новой коронавирусной инфекции и его продолжительности. В свя-

зи с этим проведен анализ результатов исследования на антитела IgG к SARS-CoV-2 у лиц, переболевших или имевших контакт с больными COVID-19.

Среди волонтеров число лиц, переболевших COVID-19 с диагнозом, установленным в медицинских организациях, составило 25 человек (0,8 %), в том числе у 18 пациентов (0,6 %) наличие SARS-CoV-2 лабораторно подтверждено. Антитела к коронавирусу выявлены у (40,0 $\pm$ 9,7) % лиц, перенесших в анамнезе COVID-19, и у (38,9 $\pm$ 11,5) % в группе лиц с положительными результатами ПЦР. Следует отметить, что наиболее высокие показатели антителенного ответа (индекс позитивности – от 3,1 до 5,2) выявлены у волонтеров с пневмонией в анамнезе (3 волонтера). Эти данные требуют дальнейшего изучения в связи с небольшим объемом выборки, однако согласуются с данными других исследований, свидетельствующих о зависимости иммунного ответа от тяжести клинических проявлений новой коронавирусной инфекции [10].

Основная часть волонтеров (83,5 %) на момент исследования не имела признаков ОРЗ, и доля серопревалентных лиц среди них не отличалась от средней величины по всей популяции – (16,5 $\pm$ 0,7) % и (16,5 $\pm$ 1,3) % соответственно. В то же время среди волонтеров с признаками ОРЗ доля серопревалентных лиц составила (23,8 $\pm$ 9,2) % (5 из 21), однако в связи с малой выборкой не представляется возможным говорить о статистически достоверных различиях.

Для оценки распространенности бессимптомных форм в группе серопревалентных волонтеров вычисляли долю лиц, у которых отсутствовал в анамнезе диагноз COVID-19 или положительный ПЦР-результат на SARS-CoV-2 и признаки ОРЗ на момент исследования (табл. 4). У жителей Ростовской области этот показатель составил (97,2 $\pm$ 1,4) % (490 из 504), равномерно распределяясь по всем возрастным группам.

Полученные данные свидетельствуют о начале формирования популяционного иммунитета к

Таблица 4 / Table 4

Доля лиц с бессимптомным течением инфекции из общего числа серопозитивных жителей разных возрастных групп Ростовской области
 The proportion of people with asymptomatic infection from the total number of seropositive volunteers of different age groups of the Rostov Region

Возрастная группа, лет Age group, years	Число серопозитивных волонтеров Number of seropositive volunteers	Число серопозитивных волонтеров с бессимптомным течением The number of asymptomatic seropositive volunteers	Доля серопозитивных волонтеров с бессимптомным течением, % М±m The proportion of asymptomatic seropositive volunteers, % M ± m
1–17	124	123	99,2±0,8
18–29	53	51	96,2±2,6
30–39	58	57	98,3±1,7
40–49	82	77	93,9±2,6
50–59	64	61	95,3±2,6
60–69	74	73	98,6±1,4
≥70	49	48	98,0±2,0
Всего Total	504	490	97,2±0,7

SARS-CoV-2 среди жителей Ростовской области, однако установленный уровень популяционного иммунитета (16,5 %, данные на июнь 2020 г.) не способен оказать существенного влияния на динамику и интенсивность эпидемического процесса COVID-19 в Ростовской области, что обуславливает необходимость организации и проведения специфической профилактики новой коронавирусной инфекции среди населения. Высокий уровень гуморального иммунитета к SARS-CoV-2 на фоне низких показателей заболеваемости у лиц в возрасте от 1 года до 17 лет может свидетельствовать о доминировании бессимптомных форм болезни среди данной возрастной группы.

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

Список литературы

1. Tyrrell D.A., Bynoe M.L. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br. Med. J.* 1965; 1(5448):1467–70. DOI: 10.1136/bmj.1.5448.1467.
2. Yang Y., Peng F., Wang R., Yange M., Guan K., Jiang T., Xu G., Sun J., Chang C. The deadly coronaviruses: The 2003 SARS pandemic and the 2020 novel coronavirus epidemic in China. *Autoimmun.* 2020; 109:102434. DOI: 10.1016/j.jaut.2020.102434.
3. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). WHO-EM/CSR/254/E/2019. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/> (дата обращения 04.08.2020).
4. Заявление Генерального директора ВОЗ по итогам совещания Комитета ММСП по чрезвычайной ситуации в связи с новым коронавирусом (2019-nCoV) от 30 января 2020 г. [Электронный ресурс]. URL: [https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-statement-on-ihf-emergency-committee-on-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-statement-on-ihf-emergency-committee-on-novel-coronavirus-(2019-ncov)) (дата обращения 04.08.2020).
5. Randolph H.E., Barreiro L.B. Herd immunity: understanding COVID-19. *Immunity.* 2020; 52(5):737–41. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.04.012.
6. Anderson R.M., May R.M. Vaccination and herd immunity to infectious diseases. *Nature.* 1985; 318(6044):323–9. DOI: 10.1038/318323a0.
7. Delamater P.L., Street E.J., Leslie T.F., Yang Y.T., Jacobsen K.H. Complexity of the basic reproduction number (R_0). *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(1):1–4. DOI: 10.3201/eid2501.171901.
8. Newcombe R.G. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat. Med.* 1998; 17(8):857–72. DOI: 10.1002/(sici)1097-0258-(19980430)17:8<857::aid-sim777>3.0.co;2-e.
9. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Фридман Р.К., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Чхинджерия

И.Г., Гречанинова Т.А., Агапов К.А., Арсентьева Н.А., Баженова Н.А., Бацунов О.К., Данилова Е.М., Зуева Е.В., Комкова Д.В., Кузнецова Р.Н., Любимова Н.Е., Маркова А.Н., Хамитова И.В., Ломоносова В.И., Ветров В.В., Миличкина А.М., Дедков В.Г., Тотолян А.А. Популяционный иммунитет к SARS-CoV-2 среди населения Санкт-Петербурга в период эпидемии COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 3:124–30. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.

10. Huang A.T., Garcia-Carreras B., Hitchings M.D.T., Yang B., Katzelnick L.C., Rattigan S.M., Borgert B.A., Moreno C.A., Solomon B.D., Rodriguez-Barraquer I., Lessler J., Salje H., Burke D., Wesolowski A., Cummings D.A.T. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease. *medRxiv.* 2020. Apr 17. DOI: 10.1101/2020.04.14.20065771. Preprint.

11. Moscola J., Sembajwe G., Jarrett M., Farber B., Chang T., McGinn T., Davidson K.W. Prevalence of SARS-CoV-2 Antibodies in health care personnel in the New York City area. *JAMA.* 2020; 324(9):893–5. DOI: 10.1001/jama.2020.14765.

12. Tian S., Hu N., Lou J., Chen K., Kang X., Xiang Z., Chen H., Wang D., Liu N., Liu D., Chen G., Zhang Y., Li D., Li J., Lian H., Niu S., Zhang L., Zhang J. Characteristics of COVID-19 infection in Beijing. *J. Infect.* 2020; 80(4):401–6. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.02.018.

References

1. Tyrrell D.A., Bynoe M.L. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br. Med. J.* 1965; 1(5448):1467–70. DOI: 10.1136/bmj.1.5448.1467.
2. Yang Y., Peng F., Wang R., Yange M., Guan K., Jiang T., Xu G., Sun J., Chang C. The deadly coronaviruses: The 2003 SARS pandemic and the 2020 novel coronavirus epidemic in China. *Autoimmun.* 2020; 109:102434. DOI: 10.1016/j.jaut.2020.102434.
3. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). WHO-EM/CSR/254/E/2019. (Cited 04 Aug 2020). [Internet]. Available from: <http://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>.
4. WHO Director-General's statement on IHR Emergency Committee on Novel Coronavirus (2019-nCoV) dated January 30, 2020. (Cited 04 Aug 2020). [Internet]. Available from: [https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-statement-on-ihf-emergency-committee-on-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-statement-on-ihf-emergency-committee-on-novel-coronavirus-(2019-ncov)).
5. Randolph H.E., Barreiro L.B. Herd immunity: understanding COVID-19. *Immunity.* 2020; 52(5):737–41. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.04.012.
6. Anderson R.M., May R.M. Vaccination and herd immunity to infectious diseases. *Nature.* 1985; 318(6044):323–9. DOI: 10.1038/318323a0.
7. Delamater P.L., Street E.J., Leslie T.F., Yang Y.T., Jacobsen K.H. Complexity of the basic reproduction number (R_0). *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(1):1–4. DOI: 10.3201/eid2501.171901.
8. Newcombe R.G. Two-sided confidence intervals for the single proportion: comparison of seven methods. *Stat. Med.* 1998; 17(8):857–72. DOI: 10.1002/(sici)1097-0258-(19980430)17:8<857::aid-sim777>3.0.co;2-e.
9. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Bashketova N.S., Fridman R.K., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Chkhindzheriya I.G., Grechaninova T.A., Agapov K.A., Arsent'eva N.A., Bazhenova N.A., Batsunov O.K., Danilova E.M., Zueva E.V., Komkova D.V.,

Kuznetsova R.N., Lyubimova N.E., Markova A.N., Khamitova I.V., Lomonosova V.I., Vetrov V.V., Milichkina A.M., Dedkov V.G., Totolyan A.A. [Herd immunity to SARS-CoV-2 among the population in Saint-Petersburg during the COVID-19 epidemic]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 3:124–30. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.

10. Huang A.T., Garcia-Carreras B., Hitchings M.D.T., Yang B., Katzelnick L.C., Rattigan S.M., Borgert B.A., Moreno C.A., Solomon B.D., Rodriguez-Barraquer I., Lessler J., Salje H., Burke D., Wesolowski A., Cummings D.A.T. A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease. *medRxiv*. 2020. Apr 17. DOI: 10.1101/2020.04.14.20065771. Preprint.

11. Moscola J., Sembajwe G., Jarrett M., Farber B., Chang T., McGinn T., Davidson K.W. Prevalence of SARS-CoV-2 Antibodies in health care personnel in the New York City area. *JAMA*. 2020; 324(9):893–5. DOI: 10.1001/jama.2020.14765.

12. Tian S., Hu N., Lou J., Chen K., Kang X., Xiang Z., Chen H., Wang D., Liu N., Liu D., Chen G., Zhang Y., Li D., Li J., Lian H., Niu S., Zhang L., Zhang J. Characteristics of COVID-19 infection in Beijing. *J. Infect.* 2020; 80(4):401–6. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.02.018.

Authors:

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

Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A. 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.

Noskov A.K., Chemisova O.S., Trishina A.V., Bereznyak E.A., Volovikova S.V., Stenina S.I., Yanovich E.G., Meloyan M.G. Rostov-on-Don

Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Kovalev E.V., Slis' S.S. Rospotrebnadzor Administration in the Rostov Region. 17, 18th Line, Rostov-on-Don, 344109, Russian Federation. E-mail: master@61.rospotrebnadzor.ru.

Karpushchenko G.V., Asmolova N.Yu., Usova A.A. Center of Hygiene and Epidemiology in the Rostov Region. 67, 7th Line St., Rostov-on-Don, 344019, Russian Federation. E-mail: master@donses.ru.

Lyalina L.V., Smirnov V.S., Totolyan A.A. Saint-Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 14, Mira St., St. Petersburg, 197101, Russian Federation. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Об авторах:

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

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

Носков А.К., Чемисова О.С., Тришина А.В., Березняк Е.А., Воловикова С.В., Стенина С.И., Янович Е.Г., Мелоян М.Г. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Ковалев Е.В., Слис С.С. Управление Роспотребнадзора по Ростовской области. Российская Федерация, Ростов-на-Дону, 344109, ул. 18-я линия, 17. E-mail: master@61.rospotrebnadzor.ru.

Карпущенко Г.В., Асмолова Н.Ю., Усова А.А. Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области. Российская Федерация, 344019, Ростов-на-Дону, 7-я линия, 67. E-mail: master@donses.ru.

Лялина Л.В., Смирнов В.С., Тотолян А.А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера. Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-125-132

УДК 616.98:852.11

С.Р. Раичич¹, С.А. Сабурова¹, А.А. Шабейкин², Е.Г. Симонова³

ОЦЕНКА СИТУАЦИИ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ НА ОСНОВЕ РАНЖИРОВАНИЯ ТЕРРИТОРИЙ ПО СТЕПЕНИ РИСКА

¹ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва, Российская Федерация;²ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко» РАН, Москва, Российская Федерация; ³ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова», Москва, Российская Федерация

Цель исследования состояла в разработке унифицированного подхода к комплексной оценке риска осложнения ситуации по сибирской язве на основе ранжирования территорий по эпидемиологически значимым факторам. **Материалы и методы.** Для комплексной оценки возможности осложнения ситуации использованы статистические принципы ранжирования оцениваемых показателей, в качестве которых рассматривались наличие и активность почвенных очагов сибирской язвы, преобладающие типы почв и их основные характеристики, а также социальные факторы риска, связанные с особенностями животноводства и возможностью инфицирования населения. Предложенная оценочная методика апробирована в масштабах страны, а ее содержание и результаты продемонстрированы в данной статье на примере Приволжского федерального округа. Материалами исследования послужили федеральные и региональные кадастры стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов, атлас и карты почв, данные статистического учета и отчетности Россельхознадзора, Росреестра и Роспотребнадзора. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что во всех субъектах округа присутствуют потенциальные риски осложнения ситуации, связанные с наличием почвенных очагов. По сумме рангов наибольшее потенциальное неблагополучие отмечается в ряде республик и областей Поволжья. Вместе с тем реальная опасность обусловлена преимущественно социальными факторами, к которым отнесены особенности животноводства, а также степень восприимчивости населения. Максимальные риски в настоящее время выявлены на территориях республик Башкортостан и Татарстан, а также в Саратовской области. Проведенное исследование направлено на повышение эффективности эпидемиологического надзора за сибирской язвой на территории Российской Федерации, а предложенная методология может использоваться на всех уровнях надзора.

Ключевые слова: сибирская язва, стационарно неблагополучный пункт, факторы риска, ранжирование территорий, эпидемиологический надзор.

Корреспондирующий автор: Раичич Стефан Радолуб, e-mail: anthraxcrie@gmail.com.

Для цитирования: Раичич С.Р., Сабурова С.А., Шабейкин А.А., Симонова Е.Г. Оценка ситуации по сибирской язве на основе ранжирования территорий по степени риска. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:125–132. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-125-132

Поступила 13.08.20. Отправлена на доработку 26.08.20. Принята к публ. 23.09.20.

S.R. Raichich¹, S.A. Saburova¹, A.A. Shabeikin², E.G. Simonova³

Assessment of the Situation on Anthrax Based on Ranking Territories by the Degree of Risk

¹Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation;²K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary, Moscow, Russian Federation;³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to develop a unified approach to a comprehensive risk assessment of the anthrax situation deterioration based on the ranking of territories by epidemiologically significant factors. **Materials and methods.** For a comprehensive risk assessment of the situation complication, the statistical principles of ranking of the estimated indicators were used. These indicators comprise the presence and activity of soil foci of anthrax, the prevailing soil types and their main characteristics, as well as social risk factors associated with the peculiarities of animal husbandry and the possibility of infection of the population. The proposed assessment method has been tested on a national scale, and its content and results are described in this paper by the example of the Volga Federal District. The materials of the study were federal and regional cadastres of stationary hazardous as regards anthrax areas, an atlas and maps of soils, data of statistical accounting and reporting of Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance, Federal Service for State Registration, Cadastre and Cartography and Rospotrebnadzor. **Results and discussion.** It has been established that in all constituent entities of the district there are potential risks of the situation deterioration that are associated with the presence of soil foci. In terms of the sum of ranks, the greatest potential disadvantage is noted in a number of republics and regions of the Volga Region. At the same time, the real danger is mainly due to social factors, which include the characteristics of animal husbandry, as well as the degree of susceptibility of the population. The maximum risks are currently identified in the territories of the republics of Bashkortostan and Tatarstan, as well as in the Saratov Region. The study is aimed at improving the efficiency of anthrax epidemiological surveillance in the Russian Federation, and the proposed methodology can be used at all levels of surveillance.

Key words: anthrax, stationary hazardous as regards anthrax areas, risk factors, ranking of territories, surveillance.

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

Corresponding author: Stefan R. Raichich, e-mail: anthracrie@gmail.com.

Citation: Raichich S.R., Saburova S.A., Shabelkin A.A., Simonova E.G. Assessment of the Situation on Anthrax Based on Ranking Territories by the Degree of Risk. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:125–132. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-125-132

Received 13.08.20. Revised 26.08.20. Accepted 23.09.20.

Сибирская язва была и остается инфекцией, актуальной для Российской Федерации, что обусловлено широким распространением почвенных очагов, занимающих практически четверть территории страны [1, 2]. Последняя крупная вспышка сибирской язвы на Ямале продемонстрировала возможность длительного сохранения возбудителя в почве, о чем было известно и ранее, а также важность оценки эпизоотологических и эпидемиологических рисков [3, 4]. В связи с этим идентификация и комплексная оценка данных рисков с учетом современной ситуации по сибирской язве, а также меняющихся природно-климатических и социально-экономических условий приобретает особую значимость [5]. Принимая во внимание особенности Российской Федерации (протяженность территории, различия природных условий для развития животноводства и др.), весьма важно соблюсти единые принципы ранжирования рисков, представленные в статье, для дальнейшей разработки адекватной стратегии и тактики профилактики сибирской язвы на конкретных территориях. Следует отметить, что ранжирование традиционно применяется в эпидемиологических исследованиях, однако чаще всего оно нацелено на выявление территорий с различной интенсивностью эпидемического процесса. В качестве ранжируемых показателей, как правило, используются заболеваемость населения [6] либо маркеры скрыто протекающего эпидемического, а для зоонозов – эпизоотического процесса [7]. Между тем риск-ориентированный надзор предполагает возможность анализа и оценки эпидемиологических рисков даже в отсутствие заболеваемости населения [8].

Материалы и методы

В основу оценки риска осложнения эпизоотической и эпидемиологической ситуации по сибирской язве положено поэтапное ранжирование территорий в зависимости от действия комплекса факторов и их динамического изменения.

Первый этап заключался в выявлении и ранжировании территорий Российской Федерации по наличию и активности почвенных очагов сибирской язвы (стационарно неблагополучных пунктов – СНП, а также моровых полей), представляющих собой постоянный резервуар возбудителя в природе, а потому рассматриваемых вместе с природно-климатическими условиями как потенциальные риски возможного осложнения ситуации.

В качестве критериев на данном этапе оценивались следующие показатели:

- количество и удельный вес неблагополучных по сибирской язве субъектов в разрезе федеральных округов;

- общее количество СНП, расположенных на анализируемых территориях, и их плотность;

- число СНП, проявивших активность в XXI в. (рейтинг активности);

- доля «новых», периодически и активно рецидивирующих СНП.

Материалами на данном этапе исследования служили данные федерального и региональных (субъектовых) кадастров СНП по сибирской язве, в т.ч. с учетом актуализации, проведенной совместно с управлениями Роспотребнадзора по субъектам ПФО.

Второй этап был связан с изучением природно-климатических, прежде всего почвенных, условий, способствующих сохранению активности почвенных очагов. Проведено ранжирование территорий по типу преобладающих почв и их характеристикам (максимальная теплообеспеченность – ТО и средняя мощность гумусового горизонта – МГГ). В качестве материалов использован Атлас почв Российской Федерации (2012), содержащий карты почв Приволжского федерального округа (ПФО) (<https://soilatlas.ru>).

Третий этап включал оценку и ранжирование социальных рисков, что далеко не всегда принимается во внимание в исследованиях при изучении сибиреязвенного неблагополучия. Между тем именно социальные риски определяют реальную опасность осложнения эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по сибирской язве. Среди значимых социальных рисков рассматривались особенности ведения хозяйственной деятельности (ее структура), численность поголовья крупного рогатого скота (КРС) и наличие восприимчивых к возбудителю сибирской язвы животных, а также населения, подвергающегося риску заражения. В качестве первичных материалов использованы открытые данные статистического учета: данные о динамике численности поголовья КРС и коров в различных типах хозяйств, площадях сельскохозяйственных и пастбищных земель, а также данные о привитости КРС [9–12] и населения из групп риска в динамике с 2001 г. (ф. 5 Роспотребнадзора).

Предложенная методика ранжирования может использоваться на различных уровнях надзора: федеральном, региональном и локальном. В настоящей публикации она продемонстрирована на примере ПФО – региона России, в настоящее время характеризующегося стремительным социально-экономическим развитием.

В ходе исследования использованы общепринятые статистические подходы с соблюдением основных принципов ранжирования. Изучаемым территориям по оцениваемым количественным (абсолютным и относительным) показателям присваивались

ранги, начиная от 1 (минимальный ранг) до 14 (максимальный ранг, соответствующий числу субъектов ПФО). При совпадении оцениваемых показателей на разных территориях им присваивались средние ранговые места, при нулевом значении показателей – минимальный ранг. Итоговые ранги вычислялись путем суммирования. Общая сумма рангов проверялась на совпадение с расчетной, которая, в свою очередь, определялась по формуле:

$$\sum (R_i) = \frac{N \cdot (N+1)}{2},$$

где N – общее количество ранжируемых значений.

Обработка данных проводилась на персональном компьютере с лицензированным обеспечением в программе Excel.

Результаты и обсуждение

Исследование показало, что начиная с 1900 г. на территории ПФО учтено 12796 СНП (более 35 % всех СНП в РФ). Рейтинг неблагополучия субъектов ПФО по числу учтенных СНП, а также их плотности представлен в табл. 1.

Максимальное число СНП по сибирской язве (от 1000 и более) зарегистрировано в порядке убывания в Нижегородской области, республиках Башкортостан и Чувашия, Саратовской области, Республике Татарстан и Оренбургской области. При этом высокая плотность СНП отмечена на территориях республик Чувашия и Мордовия. Вместе с тем, как показали проведенные ранее исследования, степень сибиреязвенного неблагополучия конкретной территории обуславливается не только числом и плотностью СНП, но и их активностью, которая также представлена в табл. 1.

Установлено, что с 2001 по 2019 год на территории ПФО проявили активность 26 СНП (18,9 % от активных СНП по стране), расположенные в половине субъектов (50 %). Максимальное число таких СНП зарегистрировано в Республике Татарстан (8), Оренбургской (6) и Саратовской (4) областях. По 3 СНП проявили активность в Республике Башкортостан и Пензенской области и по 1 СНП – в Ульяновской области и Республике Чувашия. Таким образом, при различных показателях количества и плотности СНП на половине территорий ПФО сохраняется потенциальное сибиреязвенное неблагополучие. Между тем следует принимать во внимание тот факт, что благоприятные природно-климатические условия и наличие рисков заражения животных и населения могут приводить к осложнению ситуации по сибирской язве даже при отсутствии или низкой активности СНП. Это наглядно подтвердила вспышка 2016 г. на Ямале, территория которого в связи с отсутствием регистрации случаев сибирской язвы у людей и животных в последние десятилетия относилась к благополучной.

Другим важным оценочным критерием является

процент выявления «новых» почвенных очагов, указывающих на долю вспышек болезни, исторически не попадавших в официальную статистику.

На территории ПФО за период в 2001 по 2019 год зарегистрировано 8 таких СНП, что составило 20,5 % от общего числа СНП, проявивших активность. Наибольшее количество «новых» СНП выявлено в республиках Татарстан и Башкортостан (по 3 СНП в каждом субъекте). На территории Оренбургской и Пензенской областей выявлено по одному «новому» СНП.

Возникновение вспышек сибирской язвы в пунктах, ранее считавшихся благополучными, вполне объяснимо слабостью ведения ветеринарной отчетности в первой половине XX в., утерей архивных данных (особенно в военные годы), сложностью географической привязки эпизоотологических инцидентов, происходивших на пастбищах и при перегоне скота [2].

Как показало исследование, большинство остальных СНП в ПФО являлись периодически рецидивирующими. Только один СНП, расположенный в с. Красная Кудрявка Балашовского района Саратовской области, отнесен к активно рецидивирующим. Он проявлял активность в 1957, 2000 и 2006 гг. Значительно повышает потенциальные риски наличие на конкретных территориях моровых полей. По актуализированным данным, только в Удмуртской Республике учтено одно моровое поле.

Таким образом, по результатам характеристики почвенных очагов сибирской язвы и сумме рангов, составившей более 50, к территориям ПФО с наибольшим неблагополучием в настоящее время относятся 6 субъектов (республики Татарстан, Башкортостан, Чувашия, Саратовская, Пензенская и Оренбургская области).

Изучение природно-климатических факторов риска в очередной раз подтвердило закономерную приуроченность неблагополучных по сибирской язве субъектов к территориям с соответствующими почвенными условиями, способствующими длительному сохранению возбудителя. Для этого субъекты ПФО ранжированы по преобладающим типам почв, их теплообеспеченности (ТО) и мощности гумусового горизонта (МГГ) (табл. 2).

Суммирование рангов по изученным факторам показало, что наибольшая степень риска характерна для Самарской, Оренбургской и Саратовской областей (более 24), а потенциальная опасность в целом (с учетом приведенных выше характеристик СНП) – для республик Чувашия, Татарстан и Башкортостан, а также Саратовской и Оренбургской областей (сумма рангов от 72 до 81). Таким образом, ранжирование территорий позволило выявить потенциально опасные субъекты с точки зрения возможности осложнения ситуации по сибирской язве и определить приоритетные территории с точки зрения организации и проведения эффективных контрольно-надзорных мероприятий.

Таблица 1 / Table 1

Рейтинг субъектов Приволжского федерального округа по числу, плотности и активности учтенных почвенных очагов сибирской язвы
Rating of the entities of the Volga Federal District (VFD) by the number, density and activity of recorded soil foci of anthrax

Субъекты ПФО VFD entities	Число СНП, всего Number of stationary hazardous areas (SHA), total		Плотность СНП SHA density		Число активных СНП Number of active SHAs		В том числе Including				Наличие морюх полей Existence of pestilent fields		Сумма рангов Rating sum
	абс. abs.	ранг rating	на тыс. км ² per thousand km ²	ранг rating	абс. abs.	ранг rating	«новых» “new”		активно рецидивирующих actively persisting		абс. abs.	ранг rating	
Пермский край Perm Territory	157	1	0,01	1	0	4	0	5,5	0	7	0	7	25,5
Удмуртская Республика Udmurt Republic	324	2	0,8	3	0	4	0	5,5	0	7	1	14	35,5
Республика Марий Эл Mari El Republic	464	3	2	11	0	4	0	5,5	0	7	0	7	37,5
Самарская область Samara Region	477	4	0,9	5	0	4	0	5,5	0	7	0	7	32,5
Ульяновская область Ulyanovsk Region	668	5	1,8	10	1	8,5	0	5,5	0	7	0	7	43
Республика Мордовия Republic of Mordovia	694	6	2,6	13	0	4	0	5,5	0	7	0	7	42,5
Пензенская область Penza Region	768	7	1,8	9	3	10,5	1	11,5	0	7	0	7	52
Кировская область Kirov region	1022	8	0,8	2	0	4	0	5,5	0	7	0	7	33,5
Оренбургская область Orenburg Region	1063	9	0,9	4	6	13	1	11,5	0	7	0	7	51,5
Республика Татарстан Republic of Tatarstan	1205	10	1,8	8	8	14	3	13,5	0	7	0	7	59,5
Саратовская область Saratov Region	1213	11	1,2	7	4	12	0	5,5	1	14	0	7	56,5
Республика Чувашия Chuvash Republic	1249	12	6,8	14	1	8,5	0	5,5	0	7	0	7	54
Республика Башкортостан Republic of Bashkortostan	1588	13	1,1	6	3	10,5	3	13,5	0	7	0	7	57
Нижегородская область Nizhny Novgorod Region	1904	14	2,5	12	0	4	0	5,5	0	7	0	7	49,5
Итого (суммы) Total (sums)	12796	105		105	26	105		105		105		105	630

На следующем этапе исследования изучены социальные условия, определяющие реальные риски осложнения ситуации, к которым отнесены особенности хозяйственной деятельности, прежде всего животноводческой, а также степень восприимчивости животных и населения. В проведенных ранее исследованиях показано, что основным источником инфицирования возбудителем сибирской язвы для человека является КРС [8, 13]. Изучение структуры животноводства в Российской Федерации в динамике показало, что по сравнению с концом прошлого века общее поголовье КРС в России значительно сократилось. Однако с учетом стратегии развития сельского хозяйства в последние годы на этом фоне отмечается тенденция к росту поголовья КРС, находящегося в частном владении.

В 2006–2016 гг. поголовье КРС и коров в государственных сельскохозяйственных организациях и хозяйствах населения в целом по стране снизилось

на 20–30 %. При этом оно в 1,6 и 2 раза соответственно выросло в крестьянско-фермерских хозяйствах (КФХ) и у индивидуальных предпринимателей. В результате в настоящее время более половины поголовья КРС и коров (55 и 58 % соответственно) выращиваются населением и частными предпринимателями. Именно эти категории населения сегодня следует рассматривать в качестве групп риска.

В структуре животноводческих хозяйств максимальная доля поголовья, находящегося в хозяйствах населения и мелких КФХ, приходится на регион Северного Кавказа, а также на ПФО (более 70 %). Вместе с тем распределение интенсивности скотоводства в частном секторе значительно варьирует в зависимости от природно-климатических и социально-экономических условий. Так, в ПФО максимальная доля КФХ и хозяйств населения, занимающихся разведением КРС, приходится на Саратовскую область, Республику Башкортостан, Чувашскую Республику,

Таблица 2 / Table 2

Ранжирование субъектов Приволжского федерального округа по природным (почвенным) факторам риска

Ranking of entities of the Volga Federal District by natural (soil) risk factors

Субъекты ПФО VFD entities	Преобладающие типы почв Prevailing types of soils	Макс. ТО, °C Max. heat provision, °C	Ранг Rating	Средняя МГТ, см Mean humus layer thickness, cm	Ранг Rating	Сумма рангов Rating sum
Саратовская область Saratov Region	Обыкновенно-черноземный Chernozemic soil	2725	14	70	10,5	24,5
Оренбургская область Orenburg Region	Южно-черноземный, выщелоченно-черноземный Southern chernozemic, leached-chernozemic soil	2675	13	80	13	26
Самарская область Samara Region	Южно-черноземный, обыкновенно-черноземный, выщелоченно-черноземный Southern chernozemic, chernozemic soil, leached-chernozemic soil	2625	12	110	14	26
Пензенская область Penza Region	Выщелоченно-черноземный, серо-лесной Leached-chernozemic soil, gray forest soil	2325	10	55	7	17
Республика Мордовия Republic of Mordovia	Выщелоченно-черноземный, серо-лесной, дерново-подзолистый Leached-chernozemic soil, gray forest soil, sod-podzolic	2325	10	51	6	16
Ульяновская область Ulyanovsk Region	Выщелоченно-черноземный, лугово-черноземный Leached-chernozemic, meadow-chernozemic	2325	10	67	8	18
Чувашская Республика Chuvash Republic	Выщелоченно-черноземный, карбонатно-черноземный (литогенный) Leached-chernozemic, carbonate chernozemic (lithogenic)	2275	7,5	70	10,5	18
Республика Татарстан Republic of Tatarstan	Выщелоченно-черноземный, карбонатно-черноземный (литогенный) Leached-chernozemic, carbonate chernozemic (lithogenic)	2275	7,5	70	10,5	18
Нижегородская область Nizhny Novgorod Region	Дерново-подзолистый, серо-лесной Sod-podzolic, gray forest soil	2250	6	16	3,5	9,5
Республика Башкортостан Republic of Bashkortostan	Выщелоченно-черноземный, карбонатно-черноземный (литогенный) Leached-chernozemic, carbonate chernozemic (lithogenic)	2150	5	70	10,5	15,5
Удмуртская Республика Udmurt Republic	Серо-лесной Gray forest soil	2075	4	20	5	9
Кировская область Kirov Region	Дерново-подзолистый Sod-podzolic soil	1950	2,5	9	1,5	4
Республика Марий Эл Mari El Republic	Дерново-подзолистый, серо-лесной Sod-podzolic soil, gray forest soil	1950	2,5	16	3,5	6
Пермский край Perm Territory	Дерново-подзолистый Sod-podzolic soil	1775	1	9	1,5	2,5

а также Самарскую, Оренбургскую, Пензенскую и Ульяновскую области (рис. 1).

По данным Росстата, среди животноводческих субъектов не только ПФО, но и России в целом регионами-лидерами по поголовью КРС в 2018 г. являлись Республика Башкортостан (1052,3 тыс. голов) и Республика Татарстан (1014,4 тыс. голов), а также Оренбургская область. На данных территориях самая высокая доля КРС, содержащегося в частных хозяйствах.

При определении рисков, связанных с животноводческой деятельностью, представляло интерес изучение площадей земель, используемых для выпаса скота, который осуществляется преимущественно частными владельцами. Крупные животноводческие фермы в настоящее время используют иные прогрессивные безвыпасные технологии.

По данным Росреестра, установлено, что общая площадь сельскохозяйственных угодий на 2016 г. в России составляла около 198 млн га (22,4 % от



Рис. 1. Распределение поголовья крупного рогатого скота по хозяйственной принадлежности в субъектах Приволжского федерального округа в 2018 г.

Fig. 1. Distribution of livestock population by economic affiliation in the entities of the Volga Federal District in 2018

общего земельного фонда), из них около 29 % использовались как пастбища. При этом большая часть сельхозугодий приходилась на ПФО, здесь площадь пастбищ занимала третье место в России (после СФО и ЮФО).

Анализ размеров земельных площадей, используемых для ведения сельского хозяйства, в т.ч. животноводства, показал, что в первую пятерку рейтинга входят Оренбургская, Саратовская, Самарская области, а также республики Башкортостан и Татарстан. Причем максимальная доля земель, используемых непосредственно под пастбища, приходится именно на эти территории.

Сибирезавенное благополучие на конкретной территории также определяет невосприимчивость к возбудителю животных и людей. Специфика существующего статистического учета и отчетности, к сожалению, не позволяет оперативно оценивать степень специфической защиты (привитость) эпидемиологически значимых групп населения и животных. Речь идет о привитости животных, прежде всего КРС, находящихся в частной собственности (мелкие крестьянско-фермерские хозяйства, индивидуальные предприниматели и хозяйства населения), а также привитости самого населения, чья профессиональная деятельность и в большей степени образ жизни связаны с животноводством. В связи с этим приходится ориентироваться на данные официальной отчетности. Разумеется, эти данные следует сопоставлять с динамикой численности частных хозяйств, а также размера содержащегося в них поголовья сельскохозяйственных животных.

Особенности структуры заболеваемости животных сибирской язвой требуют уделять особое внимание выполнению планов профилактической вакцинации КРС. Проведенный анализ официальной отчетности показал, что за изученный период, с 2005 по 2016 год, план прививок (вакцинация и ревакцинация) поголовья КРС в субъектах ПФО выполнен в среднем на 101,5 %. Максимальный охват прививками (более 100 %) отмечен в республиках Марий Эл и Мордовия, а также в Саратовской области. Это может свидетельствовать как о некорректном учете животных и планировании их вакцинации,

связанных с ростом поголовья КРС, так и о вакцинации животных по эпизоотическим показаниям (при наличии активности СНП). Однако, несмотря на выполнение в последние годы, по данным отчетности, плана профилактических прививок, необходимо тщательно контролировать охват прививками сельскохозяйственных животных на стационарно неблагополучных территориях. Особенно важным стало повышение вакцинной защиты животных, находящихся в личном пользовании жителей. Это поголовье в настоящее время следует рассматривать как основной контингент риска заражения.

Приходится констатировать, что имеющуюся в настоящее время статистику по вакцинации и ревакцинации КРС против сибирской язвы рассматривать при определении факторов риска следует с осторожностью. Высокие цифры привитости в отдельные годы не позволяют считать поголовье скота полностью невосприимчивым к возбудителю, как и полное отсутствие вакцинации животных. Полученные результаты свидетельствуют о наличии максимальных рисков в связи с привитостью КРС в Республике Татарстан, Пермском крае, а также в Пензенской области.

Привитость населения против сибирской язвы характеризуется дальнейшим уменьшением объемов плановой иммунизации контингентов риска. Установлено, что в последние годы объемы вакцинации против сибирской язвы в ПФО по сравнению с 2001 г. сократились в 3 раза (с 10598 до 3082 человек в 2019 г.), что отражает общие тенденции, отмечаемые на территории Российской Федерации. На территориях субъектов ПФО, где зарегистрированы проявления активности СНП по сибирской язве в 2001–2019 гг., также отмечается снижение уровня вакцинации контингентов против сибирской язвы. Так, по данным Роспотребнадзора, к 2019 г. объемы вакцинации сократились практически во всех субъектах ПФО в 4–8 раз. Минимальное сокращение наблюдается в Республике Татарстан и Оренбургской области (соответственно в 1,7 и 1,4 раза) (табл. 3).

Положительная динамика вакцинации населения против сибирской язвы отмечается только в Пермском крае. С 2016 г. на территории ПФО вак-

Таблица 3 / Table 3

Вакцинация против сибирской язвы населения
в субъектах Приволжского федерального округа в 2001 и 2019 гг.

Vaccination of the population against anthrax
in the constituent entities of the Volga Federal District in 2001 and 2019

Субъекты ПФО VFD constituent entities	2001 г.		2019 г.	
	абс. abs.	удельный вес, % ratio, %	абс. abs.	удельный вес, % ratio, %
Республика Башкортостан Republic of Bashkortostan	1867	17,6	233	7,6
Республика Марий Эл Mari El Republic	522	4,9	143	4,6
Республика Мордовия Republic of Mordovia	2134	20,1	165	5,4
Республика Татарстан Republic of Tatarstan	1352	12,8	800	26,0
Удмуртская Республика Udmurt Republic	647	6,1	37	1,2
Чувашская Республика Chuvash Republic	182	1,7	40	1,3
Пермский край Perm Territory	0	-	41	1,3
Кировская область Kirov Region	504	4,8	345	11,2
Нижегородская область Nizhny Novgorod Region	337	3,2	406	13,2
Оренбургская область Orenburg Region	285	2,7	205	6,7
Пензенская область Penza Region	736	6,9	155	5,0
Самарская область Samara Region	429	4,0	174	5,6
Саратовская область Saratov Region	1170	11,0	233	7,6
Ульяновская область Ulyanovsk Region	433	4,1	105	3,4
Итого: Total:	10598	100	3082	100

цинация населения против сибирской язвы осуществляется во всех субъектах. По охвату прививками групп риска, а также динамике вакцинации и ревакцинации максимальные риски осложнения ситуации выявлены в Республике Мордовия, Ульяновской и Пензенской областях, а по сумме социальных факторов лидерами в рейтинге неблагополучия стали республики Башкортостан, Татарстан и Саратовская область (рис. 2).

Совершенно очевидно, что существующие до настоящего времени риски осложнения ситуации по сибирской язве могут быть минимизированы за счет социальных факторов риска (специфическая защита поголовья животных, преимущественно КРС, содержащегося в частных хозяйствах, а также населения, подвергающегося рискам инфицирования и др.), а не за счет снятия с учета неактивных СНП и неиспользуемых сибирезвенных захоронений как объектов биологической опасности.

Завершающий этап ранжирования учитывал комплексное влияние рисков, определяющих возможность осложнения эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по сибирской язве. Согласно полученным результатам, максимальные риски в настоящее время присутствуют на территориях с относительно высоким рейтингом социальных рисков.

Таким образом, предложенные научно обоснованные подходы к ранжированию территорий по степени риска осложнения эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по сибирской язве позволяют выявить неблагополучные территориально-административные единицы (федеральные округа, субъекты, районы), что способствует повышению эффективности надзорных и контрольных меро-

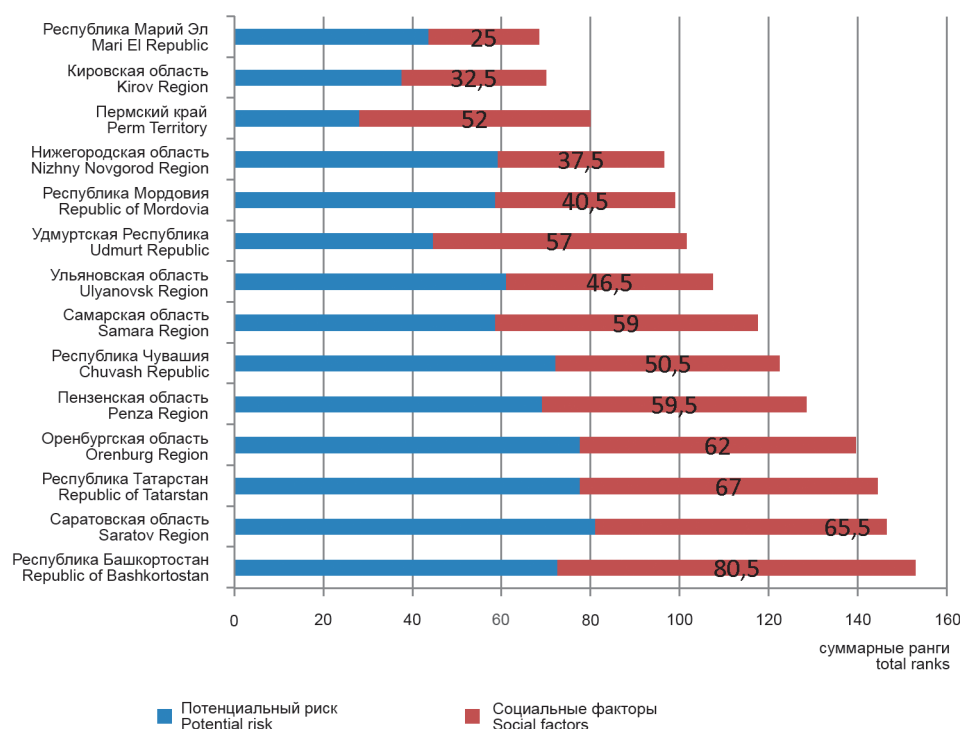


Рис. 2. Результаты ранжирования субъектов Приволжского федерального округа на основе оценки потенциального риска и социальных факторов

Fig. 2. Results of ranking the entities of the Volga Federal District based on assessment of potential risk and social factors

приятый при значительной экономии имеющихся сил и средств.

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

Список литературы

1. Черкасский Б.Л. Эпидемиология и профилактика сибирской язвы. М.: ОАО «Интерсэн»; 2002. 384 с.
2. Симонова Е.Г., Раичич С.Р., Картава С.А., Локтионова М.Н., Шабейкин А.А. Проявления активности стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов Российской Федерации в современных условиях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 2:90–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-90-94.
3. Попова А.Ю., Демина Ю.В., Ежлова Е.Б., Куличенко А.Н., Рязанова А.Г., Малеев В.В., Плоскирева А.А., Дятлов И.А., Тимофеев В.С., Нечепуренко Л.А., Харьков В.В. Вспышка сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 году, эпидемиологические особенности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 4:42–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-42-46.
4. Симонова Е.Г., Картава С.А., Титков А.В., Локтионова М.Н., Раичич С.Р., Толпин В.А., Лупян Е.А., Платонов А.Е. Сибирская язва на Ямале: оценка эпизоотологических и эпидемиологических рисков. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 1:89–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-89-93.
5. Carlson C.J., Kracalik I.T., Blackburn J.K., Ross N., Alexander K.A., Hugh-Jones M.E., Fegan M., Elkin B.T., Epp T., Shury T.K., Zhang W., Bagirova M., Getz W.M. The global distribution of *Bacillus anthracis* and associated anthrax risk to humans, livestock and wildlife. *Nature Microbiology*. 2019; 4(8):1337–43. DOI: 10.1038/s41564-019-0435-4.
6. Жолдошов С.Т., Тойчуев Р.М., Мамытова М.М. Характеристика социально-экономической значимости и ранжирование территории южного региона Кыргызской Республики по сибирской язве. *Фундаментальные исследования*. 2015; 1-7:1349–53.
7. Курбанов К.М. Эпидемиологическое районирование Республики Таджикистан по степени риска инфицирования населения бруцеллезом. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2014; 6:19–23.
8. Симонова Е.Г., Локтионова М.Н., Картава С.А., Хадарцев О.С. Сибирская язва: оценка эпизоотолого-эпидемиологического риска на современном этапе. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2013; 2(69):5–11.
9. Регионы России. Социально-экономические показатели. 2017: Статистический сборник / Росстат. М.; 2017. 1402 с.
10. Итоги Всероссийской сельскохозяйственной переписи 2016 года: в 8 т. / Федеральная служба гос. статистики. М.: ИИЦ «Статистика России»; 2018.
11. Доклад о состоянии и использовании земель сельскохозяйственного назначения Российской Федерации в 2016 году. М.: ФГБНУ «Росинформагротех»; 2018. 240 с.
12. Российский статистический ежегодник. 2018: Статистический сборник / Росстат. М.; 2018. 694 с.
13. Макаров В.В., Махамат Н.Я. Глобальная эпизоотология сибирской язвы. 3. Индекс очаговости. *Ветеринария сегодня*. 2019; 2(29):46–9. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-2-29-46-49.
- 10.21055/0370-1069-2018-2-90-94.
3. Popova A.Yu., Demina Yu.V., Ezhlova E.B., Kulichenko A.N., Ryzanova A.G., Maleev V.V., Ploskireva A.A., Dyatlov I.A., Timofeev V.S., Nepochurenko L.A., Khar'kov V.V. [Outbreak of anthrax in the Yamalo-Nenets autonomous district in 2016, epidemiological peculiarities]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; 4:42–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-42-46.
4. Simonova E.G., Kartavaya S.A., Titkov A.V., Loktionova M.N., Raichich S.R., Tolpin V.A., Lupyan E.A., Platonov A.E. [Anthrax in the territory of Yamal: assessment of epizootiological and epidemiological risks]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 1:89–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-1-89-93.
5. Carlson C.J., Kracalik I.T., Blackburn J.K., Ross N., Alexander K.A., Hugh-Jones M.E., Fegan M., Elkin B.T., Epp T., Shury T.K., Zhang W., Bagirova M., Getz W.M. The global distribution of *Bacillus anthracis* and associated anthrax risk to humans, livestock and wildlife. *Nature Microbiology*. 2019; 4(8):1337–43. DOI: 10.1038/s41564-019-0435-4.
6. Zholdoshev S.T., Toychuev R.M., Mamytova M.M. [Characteristics of the socio-economic significance and ranking of the territory of the southern region of the Kyrgyz Republic for anthrax]. *Fundamental'nye Issledovaniya [Basic Research]*. 2015; 1-7:1349–1353.
7. Kurbanov K.M. [Epidemiological zoning of the Republic of Tajikistan by the degree of risk of infection of the population with brucellosis]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases. Topical Issues]*. 2014; 6:19–23.
8. Simonova E.G., Loktionova M.N., Kartavaya S.A., Khadartsev O.S. [Anthrax: assessment of epizootological and epidemiological risk at the present stage]. *Epidemiologiya i Vaksinooprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2013; 2(69):5–11.
9. [Regions of Russia. Socio-economic indicators. 2017. Statistical Collection]. Rosstat. M.; 2017. 1402 p.
10. [Results of the All-Russian Agricultural Census 2016: in 8 vol.]. Federal Service of State Statistics. M.: "Russian Statistics"; 2018.
11. [Report on the State and Use of Agricultural Land in the Russian Federation in 2016]. M.: "Rosinformagrotekh"; 2018. 240 p.
12. [Russian Statistical Annual 2018: Statistical Collection]. Rosstat. M.; 2018. 694 p.
13. Makarov V.V., Makhamat N.Y. [Global anthrax epizootiology. 3. The index of nidity]. *Veterinariya Segodn'a [Veterinary Science Today]*. 2019; 2(29):46–9. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-2-29-46-49.

Authors:

Raichich S.R., Saburova S.A. Central Research Institute of Epidemiology. 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation. E-mail: crie@pcr.ru.
Shabeikin A.A. K.I. Skryabin and Ya.R. Kovalenko All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary. 24, Ryazanskij prospekt, Moscow, 109428, Russian Federation. E-mail: viev@mail.ru.
Simonova E.G. I.M. Sechenov First Moscow State Medical University. 5A, Small Kazenny Lane, Moscow, 105064, Russian Federation.

Об авторах:

Раичич С.Р., Сабурова С.А. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а. E-mail: crie@pcr.ru.
Шабейкин А.А. Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко. Российская Федерация, 109428, Москва, Рязанский проспект, 24, к. 1. E-mail: viev@mail.ru.
Симонова Е.Г. Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова. Российская Федерация, 105064, Москва, Малый Казенный пер., 5а.

References

1. Cherkassky B.L. [Epidemiology and Prophylaxis of Anthrax]. M.: "InterSEN"; 2002. 384 p.
2. Simonova E.G., Raichich S.R., Kartavaya S.A., Loktionova M.N., Shabeikin A.A. [manifestation of activity of potentially hazardous as regards anthrax areas across the Russian Federation under current conditions]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; 2:90–4. DOI:

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-133-138

УДК 616.98:579.841.11(597)

Д.М. Фролов¹, Н.Н. Тетерятникова¹, Т.Л.А. Вуй², И.Б. Захарова¹, Н.П. Храпова¹**РАЗРАБОТКА ТЕСТА ЛАТЕКС-АГГЛЮТИНАЦИИ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ПАТОГЕННЫХ БУРКХОЛЬДЕРИЙ И ЕГО АПРОБАЦИЯ В ЭНДЕМИЧНЫХ РЕГИОНАХ ВЬЕТНАМА**¹ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация;²Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр, Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам

Цель работы – разработка латекс-теста для выявления возбудителя мелиоидоза, где в качестве сенситина использовались моноклональные антитела, а также апробация лиофильно высушенного экспериментального препарата на бактериальных изолятах из объектов внешней среды, собранных на территории Социалистической Республики Вьетнам. **Материалы и методы.** Носителями специфических антител являлись окрашенные полиакролеиновые латексные частицы с активными альдегидными группами на поверхности. Для контроля специфичности диагностикума использовали типичные штаммы возбудителей мелиоидоза и сапа с полноценной антигенной структурой, а также штаммы *Burkholderia thailandensis*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Pseudomonas putida*. Реакцию латекс-агглютинации выполняли с бактериальными взвесями $1-2 \cdot 10^9$ м.к./мл на пластиковых чашках Петри. Результаты реакции оценивали визуально на темном фоне по 4-крестовой системе в течение 5–8 мин. Положительной считали реакцию на 3–4 креста. Подозрительные на принадлежность к патогенным буркхольдериям колонии из первичных посевов переносили на L-агар с полимиксином В и выращивали 36 часов при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Видовую принадлежность отобранных колоний определяли методом мультиплексной ПЦР с использованием набора реагентов «Амплиген Буркхольдерии группы «*pseudomallei*» βL В/Д – ЕРh». **Результаты и обсуждение.** С коллекционными штаммами экспериментальный препарат продемонстрировал высокую чувствительность, агглютинировал 97,7 % штаммов *B. pseudomallei* и все штаммы *B. mallei*, реакция с *B. thailandensis*, *B. cepacia*, *P. aeruginosa* и *P. putida* была отрицательной. При скрининге бактериальных культур, изолированных из объектов внешней среды, чувствительность диагностикума составила 89,4 %. Таким образом, использование латекс-теста на этапе первичного скрининга большого количества образцов существенно сокращает время выделения чистых культур возбудителей мелиоидоза и сапа и их идентификацию.

Ключевые слова: моноклональные антитела, латексные микрочастицы, патогенные буркхольдерии, реакция латекс-агглютинации, чувствительность, специфичность.

Корреспондирующий автор: Фролов Дмитрий Михайлович, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Для цитирования: Фролов Д.М., Тетерятникова Н.Н., Вуй Т.Л.А., Захарова И.Б., Храпова Н.П. Разработка теста латекс-агглютинации для выявления патогенных буркхольдерий и его апробация в эндемичных регионах Вьетнама. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:133–138. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-133-138

Поступила 26.08.20. Отправлена на доработку 04.09.20. Принята к публ. 23.12.20.

D.M. Frolov¹, N.N. Teteryatnikova¹, T.L.A. Bui², I.B. Zakharova¹, N.P. Khrapova¹**Development of a Latex Agglutination Test for Detecting Pathogenic Burkholderia and its Approbation in the Endemic Regions of Vietnam**¹Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation;²Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, Hanoi, Vietnam

Abstract. The aim of the work was development of a monoclonal antibody-based latex agglutination test to identify the causative agent of melioidosis, and the approbation of a freeze-dried experimental preparation for screening of environmental bacterial isolates in Vietnam. **Materials and methods.** The carriers of specific antibodies were polyacrolein latex particles with active aldehyde groups on the surface. Typical strains of the causative agents of melioidosis and glanders with a full-fledged antigenic structure, as well as the strains *Burkholderia thailandensis*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Pseudomonas putida* were used to control the test specificity. The latex agglutination reaction was carried out on plastic Petri dishes with daily bacterial cultures, from which suspensions were prepared at a concentration of $1-2 \cdot 10^9$ m.c./ml. The results of the reaction were registered visually for 5–8 min using a 4-cross system against a dark background under lighting. The reaction to 3–4 crosses was recorded as positive. Colonies suspected of belonging to pathogenic *Burkholderia* from primary inoculations were transferred to L-agar with polymyxin B and grown for 36 hours at $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. The species of the selected suspicious colonies was determined by multiplex PCR. **Results and discussion.** With collection strains, latex test demonstrated high sensitivity agglutinating 97.7 % of *B. pseudomallei* and all *B. mallei* strains. At the same time, it was negative with *B. thailandensis*, *B. cepacia*, *P. aeruginosa* and *P. putida*. In microbiological screening of bacterial cultures isolated from environmental objects, the latex test had a diagnostic sensitivity of 89.4 %. Using the latex test at the stage of primary screening, it is possible to significantly reduce the time when processing a lot of samples received for analysis, as well as to reduce the consumption of reagents used at the subsequent stages of identification.

Key words: monoclonal antibodies, latex microparticles, *Burkholderia*, latex agglutination test, sensitivity, specificity.

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

Corresponding author: Dmitry M. Frolov, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Citation: Frolov D.M., Teteryatnikova N.N., Bui T.L.A., Zakharova I.B., Khrapova N.P. Development of a Latex Agglutination Test for Detecting Pathogenic *Burkholderia* and its Approbation in the Endemic Regions of Vietnam. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; 4:133–138. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-133-138

Received 26.08.20. Revised 04.09.20. Accepted 23.12.20.

Frolov D.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5025-0791>

Teteryatnikova N.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8928-2152>

Возбудитель мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*) – грамотрицательный сапрофитный микроорганизм, который относят ко II группе патогенных биологических агентов (ПБА). Его естественной средой обитания являются почва и стоячие водоемы в тропической и субтропической климатических зонах. Он способен вызывать инфекционное заболевание у человека и животных с разнообразными клиническими проявлениями: пневмонию с септициемией или без нее, а также локальные поражения кожи и внутренних органов [1–3].

Выделяют три основных пути инфицирования человека: через поврежденную поверхность кожи или слизистые оболочки, воздушно-пылевой и алиментарный [4]. Заболевание может протекать в латентной, острой или хронической форме. Рецидивы инфекции случаются у 5–28 % пациентов, что, предположительно, связано со способностью *B. pseudomallei* к внутриклеточному выживанию, в том числе и в макрофагах [5, 6]. Возможности терапии мелиоидоза ограничены природной множественной антибиотикорезистентностью возбудителя, и в настоящее время в схему лечения входит ограниченное число препаратов: цефтазидим, триметаприм/сульфаметаксозол и карбапенемы [4].

Долгое время считалось, что эндемичными территориями по мелиоидозу являются регионы Юго-Восточной Азии и северная часть Австралии, но в последние годы наблюдается явная тенденция к расширению географической зоны обитания *B. pseudomallei* за пределы Азиатско-Тихоокеанского региона [7, 8]. Все чаще регистрируют завозные случаи мелиоидоза в США и в некоторых странах Западной Европы, что обусловлено туристическими и миграционными потоками, а также торгово-экономическими связями [8, 9]. Поэтому не исключается возможность завоза инфекции и на территорию Российской Федерации.

Также существует вероятность применения *B. pseudomallei* в качестве агента биологического терроризма, что признано как отечественными, так и зарубежными специалистами [10, 11]. Степень риска преднамеренного использования патогена не определена, в связи с чем значительное внимание уделяется вопросам эффективности, доступности и безопасности методов экспресс-обнаружения и последующей достоверной идентификации возбудителя мелиоидоза [12, 13].

Этиологический агент мелиоидоза – *B. pseudomallei* – может оказаться трудным объектом для надежной идентификации. В обычных клинических лабораториях быстрому обнаружению *B. pseudomallei*

препятствует отсутствие у микробиологов опыта работы с буркхольдериями, относящимися ко II группе ПБА. Подозрительные изоляты из лабораторий первичного уровня необходимо направлять в центры индикации возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности или референс-центр, в которых для окончательной идентификации применяют специально разработанные схемы с использованием широкого спектра диагностических методов [14].

В Российской Федерации Референс-центр по мониторингу за возбудителями сапа и мелиоидоза функционирует на базе Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, в котором уже 50 лет ведутся исследовательские работы, посвященные возбудителям этих инфекционных болезней. С 2017 г., в рамках реализации распоряжений Правительства Российской Федерации от 19.08.2017 № 1789-р, от 13.06.2019 № 1536-р, ведутся совместные с профильными учреждениями Социалистической Республики Вьетнам (СРВ) научно-исследовательские проекты, включающие исследование возбудителей опасных инфекционных болезней. Это предоставляет возможность отечественным специалистам более детально исследовать *B. pseudomallei* в условиях естественного обитания.

В настоящее время в перечень иммунодиагностических тестов, используемых для диагностики опасных инфекционных болезней, стали активно внедряться препараты, основанные на суспензионных полимерных носителях. Этому способствует ряд причин: повышение качества синтетических носителей, накопление сведений о преимуществах применения моноклональных антител в качестве детектирующего агента в реакции латекс-агглютинации (РЛА) по сравнению с поликлональными, доказательства успешной лиофилизации суспензионных частиц, нагруженных МКА, без потери иммунологической активности.

Целью работы явилась разработка экспресс-варианта диагностикума для выявления патогенных буркхольдерий, основанного на реакции латекс-агглютинации, с использованием моноклональных антител и его апробация при исследовании проб из объектов окружающей среды в эндемичных регионах Вьетнама.

Материалы и методы

Для работы использовали панели моноклональных антител из коллекции лаборатории иммунодиагностики Волгоградского научно-исследовательского противочумного института. В предыдущих исследо-

ваниях нами определено МКА к антигену 8 возбудителя мелиоидоза, которое используется в качестве сенситина в латекс-тесте, распознающего антиген клеток-мишеней [15].

Носителями специфических антител являлись полиакролеиновые латексные частицы, окрашенные родамином Ж, с диаметром частиц от 0,8 до 1,3 мкм и активными альдегидными группами на поверхности (Акролар к-3, произведен в Институте биорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН).

Диагностический препарат готовили из 10 % латексной суспензии по модифицированной методике. Для этого 50 мкл микрочастиц дважды отмывали центрифугированием в 0,9 % растворе NaCl (pH 7,2±0,2) при 5000 об/мин в течение 10 мин. Затем полиакролеин сенсibilizировали МКА в количестве 100 мкг на 500 мкл 1 % суспензии полимера в 0,9 % растворе NaCl (pH 7,2±0,2), в течение 2 часов при комнатной температуре. Далее нагруженный латекс дважды отмывали 1 % раствором бычьего сывороточного альбумина (БСА) при 5000 об/мин 10 мин. До конечной 1 % концентрации препарат доводили раствором 1 % БСА и оставляли на 16 часов при температуре (4±1) °С.

Для контроля специфичности диагностикума использовали типичные штаммы возбудителей мелиоидоза и сапа с полноценной антигенной структурой из коллекции Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, а также штаммы *B. thailandensis*, *B. cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa* и *P. putida*. Бактериальные культуры высевали в бульон Хоттингера с 5 % глицерина, pH (7,0±0,2) и инкубировали при температуре (37±1) °С в течение 18–24 часов. Затем подросшие культуры переносили на агар Хоттингера с 5 % глицерина и инкубировали в течение 24–48 часов при температуре (37±1) °С. Постановку РЛА осуществляли с суточными бактериальными культурами, из которых готовили взвеси в концентрации 1–2·10⁹ м.к./мл.

Для тестирования использованы почвенные изоляты, выделенные во Вьетнаме в 2019 г., видовую принадлежность которых определяли методом мультиплексной ПЦР с использованием набора реагентов для выявления и дифференциации буркхольдерий группы «*pseudomallei*» в формате мультиплексной полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией «Амплиген Буркхольдерии группы «*pseudomallei*» βL B/D – EPh» (ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Россия) [16]: *B. pseudomallei* (4 штамма), *B. thailandensis* (72 штамма) и *B. cepacia* (27 штаммов).

ДНК выделяли из предварительно обеззараженной согласно МУ 1.3.2569-09 бактериальной суспензии с применением комплекта реагентов для очистки нуклеиновых кислот Gene JET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, Литва) в соответствии с инструкцией производителя.

Реакцию латекс-агглютинации выполняли на пластиковых чашках Петри. К бактериальным взвесям и отрицательному контролю (0,9 % раствор NaCl, pH 7,2±0,2), предварительно нанесенным на поверхность чашки в виде капли, добавляли 20 мкл экспериментального препарата латекса в соотношении 1:1. Результаты РЛА учитывали визуально в течение 5–8 мин. Учет проводили по 4-крестовой системе на темном фоне при достаточном освещении (табл. 1).

Результаты РЛА интерпретировали следующим образом: реакцию на 3–4 креста считали положительной, а на 1–2 креста – отрицательной. При положительном результате в опытной капле при смешивании латекс-теста со взвесью микробных клеток *B. pseudomallei* и *B. mallei* наблюдали образование четко видимого крупно- или мелкозернистого агглютината розового цвета на фоне прозрачной жидкости.

Результаты и обсуждение

Полиакролеиновый латекс как носитель антигенов обладает рядом преимуществ: низкий уровень неспецифического связывания с белками и другими лигандами, химическая стабильность, необходимое распределение частиц по размерам и функциональным группам, которые образуют ковалентную связь с первичными аминогруппами белков.

Учет результатов РЛА осуществляют визуально, поэтому у неокрашенных латексов определение перехода от отрицательной реакции к положительной может вызвать затруднение. Для улучшения контрастности картины РЛА в настоящей работе использовали окрашенную в розовый цвет полиакролеиновую суспензию. Среднее время, за которое результаты реакции становились различимы, составило 8 минут.

Таблица 1 / Table 1

Критерии качественной оценки результатов реакции латекс-агглютинации

Criteria for the qualitative assessment of latex agglutination test results

Визуальная оценка результата реакции агглютинации Visual assessment of the agglutination test results	Качественная оценка Qualitative assessment
Крупно- или мелкозернистая агглютинация (крупные и средние агрегаты латексных частиц) розового цвета при полном просветлении жидкости Coarse- or fine-grained agglutination (large and medium aggregates of latex particles) of pink color with full clarification of the liquid	++++
Мелкозернистая агглютинация розового цвета при легкой опалесценции жидкости Fine-grained agglutination of pink color with light opalescence of the liquid	+++
Слабая мелкозернистая агглютинация розового цвета на фоне мутной жидкости Weak fine-grained agglutination of pink color against the background of turbid liquid	++
Следы агглютинации розового цвета на фоне мутной жидкости Traces of pink agglutination against the background of a cloudy liquid	+

Таблица 2 / Table 2

Результаты реакции латекс-агглютинации экспериментального диагностического препарата с бактериальной взвесью коллекционных штаммов буркхольдерий и псевдомонад

The latex agglutination reaction results for an experimental diagnostic preparation with bacterial suspension of collection strains of *Burkholderia* and *Pseudomonades*

Виды микроорганизмов, концентрация бактериальной взвеси 1,0·10 ⁹ м.к./мл Species of microorganisms, concentration of bacterial suspension 1,0·10 ⁹ m.c./ml	Общее число штаммов Overall number of strains	Результат РЛА Result of the LAR	
		положительный positive	отрицательный negative
<i>B. pseudomallei</i>	44	43	1
<i>B. mallei</i>	4	4	0
<i>B. thailandensis</i>	3	0	3
<i>B. cepacia</i>	4	0	4
<i>P. aeruginos</i>	4	0	4
<i>P. putida</i>	1	0	1

Сводные данные РЛА с коллекционными штаммами *B. pseudomallei*, *B. mallei*, *B. thailandensis*, *B. cepacia*, *P. aeruginosa* и *P. putida* представлены в табл. 2.

В результате экспериментальных исследований с разработанным препаратом продемонстрированы высокие показатели диагностической чувствительности (97,9 %) и специфичности (100 %). Реакция агглютинации наблюдалась в 97,7 % случаев с коллекционными штаммами *B. pseudomallei* и всеми штаммами *B. mallei* при отрицательных результатах с культурами *B. thailandensis*, *B. cepacia*, *P. aeruginos* и *P. putida*. Таким образом, показано, что экспресс-вариант диагностикума моноклонального жидкого может использоваться для выявления буркхольдерий II группы патогенности.

Одной из задач совместной российско-вьетнамской исследовательской программы по изучению возбудителя мелиоидоза является анализ распространенности *B. pseudomallei* в экосистемах Вьетнама. В рамках совместной НИР Волгоградского противочумного института и Российско-Вьетнамского Тропического научно-исследовательского и технологического центра (г. Ханой, СРВ) организованы мониторинговые исследования проб воды и почвы из различных провинций страны [17].

Предварительную подготовку собранных в ходе экспедиции образцов почвы осуществляли согласно практическому руководству [18]. Далее проводили бактериологические тесты (рост на агаре Эшдауна при температуре 42 °С, устойчивость к полимиксину и гентамицину, характер морфологии колоний, положительный тест на оксидазу) для выявления подозрительных на принадлежность к буркхольдериям II группы патогенности колоний. В итоге в работу взято 103 почвенных изолята. Далее первичные посевы переносили на L-агар с полимиксином В (50 ЕД/мл) и выращивали 36 часов при температуре (37±1) °С. После этого из полученных культур готовили взвеси и ставили реакцию латекс-агглютинации по вышеописанной методике. Параллельно с этим выделяли ДНК, с которой осуществляли постановку мультиплексной ПЦР генодиагностическим набором

«Амплиген Буркхольдерии группы «*pseudomallei*» βL B/D – EPh» для определения видовой принадлежности бактерий. Опираясь на результаты ПЦР, оценивали чувствительность и специфичность экспериментального препарата в реакции агглютинации с почвенными изолятами.

При тестировании латекс-тестом 103 почвенных изолятов 4 штамма (3,9 %) агглютинировали на 4 креста, 11 штаммов (10,6 %) – на 3 креста и у 88 штаммов (85,5 %) наблюдали отрицательные результаты реакции. Параллельная идентификация в мультиплексной ПЦР показала, что 4 штамма, оцененные на 4 креста, являются *B. pseudomallei*, а из штаммов на 3 креста один оказался *B. cepacia* и 10 – *B. thailandensis*. Среди отрицательных в РЛА изолятов идентифицировано 52 штамма *B. thailandensis*, 22 – *B. cepacia* и 14 штаммов, не относящихся к буркхольдериям, идентификация которых предусмотрена использованным генодиагностическим набором (рисунк). Чувствительность экспериментального препарата при тестировании почвенных изолятов составила 100 %, а специфичность – 90 %.

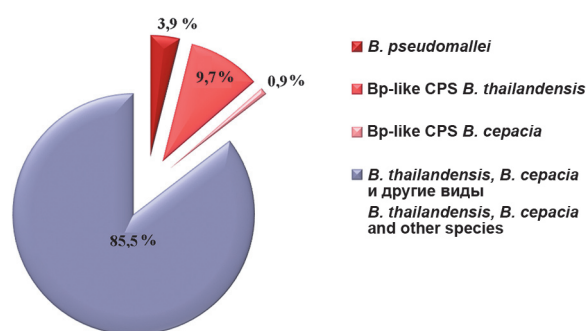


Диаграмма результатов реакции латекс-агглютинации почвенных изолятов, подозрительных на принадлежность к патогенным буркхольдериям:

Оттенками красного обозначены штаммы, положительные в РЛА. Фиолетовым обозначены штаммы, отрицательные в РЛА

Diagram of the latex agglutination reaction of soil isolates suspected of belonging to pathogenic *Burkholderia*:

Red shades stand for LAR-positive strains. Violet shades mark LAR-negative strains

По литературным данным, в популяции *B. thailandensis* присутствуют штаммы патогена, экспрессирующие капсульный полисахарид, подобный *B. pseudomallei* (BTCV – от англ. *B. thailandensis* capsular variant). Такие штаммы были обнаружены в экосистемах Вьетнама, Таиланда [19, 20], и одним из характерных признаков BTCV штаммов является положительный результат в РЛА с МКА к капсульному полисахариду возбудителя мелиоидоза. У отдельных штаммов *B. ceracia*, *B. cenoceracia* III A и *B. multivorans*, входящих в комплекс *B. ceracia*, также обнаружен функциональный кластер генов биосинтеза и экспорта капсульного полисахарида, обладающий высоким сходством с ортологичным кластером возбудителей сапа и мелиоидоза. Позднее обнаружено, что перекрестную реактивность в РЛА показывают и отдельные штаммы *B. pseudomultivorans* и *B. territorii* [21].

Показатели диагностической чувствительности и специфичности латекс-тестов, используемых в эндемичных странах, по данным разработчиков, составляют 97,25 % (94,5–100 %) и 98,6 % (97,2–100 %) соответственно [22, 23], при этом авторы отмечают, что ложноположительные результаты наблюдались у вариантных штаммов *B. thailandensis* и *B. ceracia*. Необходимо отметить, что в одной из цитируемых работ в панель протестированных гетерологичных видов (36 штаммов) вошел единственный BTCV штамм *B. thailandensis* и не обнаружено ни одного штамма перечисленных выше видов комплекса *B. ceracia*. Во второй работе РЛА применяли в качестве теста сравнения при исследовании непосредственно клинических образцов иммунохроматографическим методом (AMD, InBios International, США) и приведены данные только анализа гемокультур, данные анализа нестерильных в норме образцов не приводятся. В этом исследовании наблюдали положительный результат РЛА с *B. ceracia*. Однако, несмотря на наличие перекрестной реактивности, МКА к капсульному полисахариду общепризнаны оптимальными для выявления возбудителя мелиоидоза.

В результате проведенной работы создан экспериментальный диагностический препарат для выявления патогенных буркхольдерий, основанный на реакции латекс-агглютинации, с применением в качестве сенситина моноклональных антител к антигену 6 *B. pseudomallei*. Показатели диагностической чувствительности и специфичности разработанного латекс-теста составили 97,9 и 100 % для музейных штаммов, а для почвенных изолятов – 100 и 90 % соответственно. Также сокращено время получения результатов до 8 минут относительно ранее разработанного препарата с использованием в качестве носителя полистирольной полимерной суспензии.

Итоговые данные свидетельствуют о перспективности применения теста латекс-агглютинации для отбора подозрительных колоний при исследовании нестерильных в норме клинических образцов или

проб окружающей среды на наличие *B. pseudomallei* и *B. mallei*. Учитывая возможность перекрестной реактивности со штаммами BTCV, определение принадлежности к патогенным буркхольдериям при помощи разработанного латекс-теста ориентировочно и требует подтверждения генодиагностическими методами.

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

Список литературы

1. Brilhante R.S., Bandeira T.J., Cordeiro R.A., Grangeiro T.B., Lima R.A., Ribeiro J.F., Castelo-Branco D.S., Rodrigues J.L., Coelho I.C., Magalhães F.G., Rocha M.F., Sidrim J.J. Clinical-epidemiological features of 13 cases of melioidosis in Brazil. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(10):3349–52. DOI: 10.1128/JCM.01577-12.
2. Dance D.A., Limmathurotsakul D. Global burden and challenges of melioidosis. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2018; 3(1):13. DOI: 10.3390/tropicalmed3010013.
3. Currie B.J. Melioidosis: an important cause of pneumonia in residents of and travellers returned from endemic regions. *Eur. Respir. J.* 2003; 22(3):542–50. DOI: 10.1183/09031936.03.00006203.
4. Lipsitz R., Garges S., Aurigemma R., Baccam P., Blaney D.D., Cheng A.C., Currie B.J., Dance D., Gee J.E., Larsen J., Limmathurotsakul D., Morrow M.G., Norton R., O'Mara E., Peacock S.J., Pesik N., Rogers L.P., Schweizer H.P., Steinmetz I., Tan G., Tan P., Wiersinga W.J., Wuthiekanun V., Smith T.L. Workshop on treatment of and postexposure prophylaxis for *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei* infection. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(12):e2. DOI: 10.3201/eid1812.120638.
5. Perumal Samy R., Stiles B.G., Sethi G., Lim L.H.K. Melioidosis: Clinical impact and public health threat in the tropics. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(5):e0004738. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004738.
6. Wiersinga W.J., Virk H.S., Torres A.G., Currie B.J., Peacock S.J., Dance D.A.B., Limmathurotsakul D. Melioidosis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2018; 4:17107. DOI: 10.1038/nrdp.2017.107.
7. Limmathurotsakul D., Golding N., Dance D.A., Messina J.P., Pigott D.M., Moyes C.L., Rolim D.B., Bertherat E., Day N.P., Peacock S.J., Hay S.I. Predicted global distribution of *Burkholderia pseudomallei* and burden of melioidosis. *Nat. Microbiol.* 2016; 1:15008. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2015.8.
8. Захарова И.Б. Актуальные вопросы современной эпидемиологии мелиоидоза: обзор литературы и анализ случаев завоза инфекции в не эндемичные регионы. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2018; 23(3):126–133. DOI: 10.18821/1560-9529-2018-23-3-126-133.
9. Benoit T.J., Blaney D.D., Doker T.J., Gee J.E., Elrod M.G., Rolim D.B., Inglis T.J., Hoffmaster A.R., Bower W.A., Walke H.T. A review of melioidosis cases in the Americas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2015; 93(6):1134–9. DOI: 10.4269/ajtmh.15-0405.
10. Stone R. Infectious disease. Racing to defuse a bacterial time bomb. *Science.* 2007; 317(5841):1022–4. DOI: 10.1126/science.317.5841.1022.
11. Federal Select Agent Program. 2014. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.selectagents.gov/> (дата обращения 15.05.2015).
12. Lau S.K., Sridhar S., Ho C.C., Chow W.N., Lee K.C., Lam C.W., Yuen K.Y., Woo P.C. Laboratory diagnosis of melioidosis: past, present and future. *Exp. Biol. Med. (Maywood).* 2015; 240(6):742–51. DOI: 10.1177/1535370215583801.
13. Gilad J., Schwartz D., Amsalem Y. Clinical features and laboratory diagnosis of infection with the potential bioterrorism agents *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. *Int. J. Biomed. Sci.* 2007; 3(3):144–52.
14. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. Изд. 2-е, перераб. и доп. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
15. Фролов Д.М., Сенина Т.В., Замакина Т.В., Храпова Н.П. Использование реакции латекс-агглютинации в ускоренном определении патогенных буркхольдерий. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 3:106–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-106-110.
16. Zakharova I., Teteryatnikova N., Toporkov A., Viktorov D. Development of a multiplex PCR assay for the detection and differentiation of *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia thailandensis*, and *Burkholderia cepacia* complex. *Acta Trop.* 2017; 174:1–8. DOI:10.1016/j.actatropica.2017.06.016.
17. Попова А.Ю., Топорков А.В., редакторы. Актуальные

направления и перспективы российско-вьетнамского сотрудничества в сфере обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия. Волгоград: Волга-Пресс; 2019. 400 с.

18. Топорков А.В., Кузнецов А.Н., Нгуен Х. Зы, редакторы. Лабораторный скрининг и идентификация *Burkholderia pseudomallei*: практическое руководство. Волгоград: Волга-Пресс; 2018. 95 с.

19. Vasilieva K.V., Teteryatnikova N.N., Kuzutina Y.A., Bui Lan Anh T., Ustinov D.V., Viktorov D.V., Victorov A.V., Zakharova I.B. The variability of a gene composition of capsular polysaccharide biosynthesis cluster in *Burkholderia thailandensis*. In: 9th World melioidosis congress, Local Action through Global Knowledge. Hanoi, Vietnam, 15–18 October 2019. Institute of Microbiology and Biotechnology; 2019. P. 186.

20. Parsons Y.N., Banasko R., Detsika M.G., Duangsonk K., Rainbow L., Hart C.A., Winstanley C. Suppression-subtractive hybridization reveals variations in gene distribution amongst the *Burkholderia cepacia* complex, including the presence in some strains of a genomic island containing putative polysaccharide production genes. *Arch. Microbiol.* 2003; 179(3):214–23. DOI: 10.1007/s00203-003-0518-7.

21. Songsri J., Kinoshita Y., Kwanhian W., Wisessombat S., Tangpong J., Rahman-Khan M.S., Tuanyok A. Cross-reactivity of latex agglutination assay complicates the identification of *Burkholderia pseudomallei* from soil. *FEMS Microbiol. Lett.* 2018; 365(22). DOI: 10.1093/femsle/fny256.

22. Duval B.D., Elrod M.G., Gee J.E., Chantratita N., Tandhavanant S., Limmathurotsakul D., Hoffmaster A.R. Evaluation of a latex agglutination assay for the identification of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2014; 90(6):1043–6. DOI: 10.4269/ajtmh.14-0025.

23. Woods K.L., Bouthasavong L., NicFhogartaigh C., Lee S.J., Davong V., AuCoin D.P., Dance D. Evaluation of a rapid diagnostic test for detection of *Burkholderia pseudomallei* in the Lao People's Democratic Republic. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(7):e02002-17. DOI: 10.1128/JCM.02002-17.

References

1. Brilhante R.S., Bandeira T.J., Cordeiro R.A., Grangeiro T.B., Lima R.A., Ribeiro J.F., Castelo-Branco D.S., Rodrigues J.L., Coelho I.C., Magalhães F.G., Rocha M.F., Sidrim J.J. Clinical-epidemiological features of 13 cases of melioidosis in Brazil. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(10):3349–52. DOI: 10.1128/JCM.01577-12.

2. Dance D.A., Limmathurotsakul D. Global burden and challenges of melioidosis. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2018; 3(1):13. DOI: 10.3390/tropicalmed3010013.

3. Currie B.J. Melioidosis: an important cause of pneumonia in residents of and travellers returned from endemic regions. *Eur. Respir. J.* 2003; 22(3):542–50. DOI: 10.1183/09031936.03.00006203.

4. Lipsitz R., Garges S., Aurigemma R., Baccam P., Blaney D.D., Cheng A.C., Currie B.J., Dance D., Gee J.E., Larsen J., Limmathurotsakul D., Morrow M.G., Norton R., O'Mara E., Peacock S.J., Pesik N., Rogers L.P., Schweizer H.P., Steinmetz I., Tan G., Tan P., Wiersinga W.J., Wuthiekanun V., Smith T.L. Workshop on treatment of and postexposure prophylaxis for *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei* infection. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(12):e2. DOI: 10.3201/eid1812.120638.

5. Perumal Samy R., Stiles B.G., Sethi G., Lim L.H.K. Melioidosis: Clinical impact and public health threat in the tropics. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(5):e0004738. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004738.

6. Wiersinga W.J., Virk H.S., Torres A.G., Currie B.J., Peacock S.J., Dance D.A.B., Limmathurotsakul D. Melioidosis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2018; 4:17107. DOI: 10.1038/nrdp.2017.107.

7. Limmathurotsakul D., Golding N., Dance D.A., Messina J.P., Pigott D.M., Moyes C.L., Rolim D.B., Bertherat E., Day N.P., Peacock S.J., Hay S.I. Predicted global distribution of *Burkholderia pseudomallei* and burden of melioidosis. *Nat. Microbiol.* 2016; 1:15008. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2015.8.

8. Zakharova I.B. [Topical issues of modern epidemiology of melioidosis: literature review and analysis of cases of infection importation to non-endemic regions]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2018; 23(3):126–33. DOI: 10.18821/1560-9529-2018-23-3-126-133.

9. Benoit T.J., Blaney D.D., Doker T.J., Gee J.E., Elrod M.G., Rolim D.B., Inglis T.J., Hoffmaster A.R., Bower W.A., Walke H.T. A review of melioidosis cases in the Americas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2015; 93(6):1134–9. DOI: 10.4269/ajtmh.15-0405.

10. Stone R. Infectious disease. Racing to defuse a bacterial time bomb. *Science.* 2007; 317(5841):1022–4. DOI: 10.1126/science.317.5841.1022.

11. Federal Select Agent Program. 2014. (Cited 15 May 2015). [Internet]. Available from: <http://www.selectagents.gov/>.

12. Lau S.K., Sridhar S., Ho C.C., Chow W.N., Lee K.C., Lam C.W., Yuen K.Y., Woo P.C. Laboratory diagnosis of melioidosis: past, present and future. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2015; 240(6):742–51. DOI: 10.1177/1535370215583801.

13. Gilad J., Schwartz D., Amsalem Y. Clinical features and laboratory diagnosis of infection with the potential bioterrorism agents *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*. *Int. J. Biomed. Sci.* 2007; 3(3):144–52.

14. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory diagnostics of dangerous infectious diseases. Practice guidelines]. Ed. 2nd, reprint. Moscow: "Shiko"; 2013. 560 p.

15. Frolov D.M., Senina T.V., Zamarina T.V., Khrapova N.P. [Application of latex-agglutination for rapid detection of pathogenic *Burkholderia*]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 3:106–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-106-110.

16. Zakharova I., Teteryatnikova N., Toporkov A., Viktorov D. Development of a multiplex PCR assay for the detection and differentiation of *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei*, *Burkholderia thailandensis*, and *Burkholderia cepacia* complex. *Acta Trop.* 2017; 174:1–8. DOI:10.1016/j.actatropica.2017.06.016.

17. Popova A.Yu., Toporkov A.V., editors. [Current trends and prospects of Russian-Vietnamese cooperation in the field of ensuring sanitary and epidemiological well-being]. Volgograd: Volga-Press; 2019; 400 p.

18. Toporkov A.V., Kuznetsov A. N., Nguyen Kh. Zy, editors. [Laboratory screening and identification of *Burkholderia pseudomallei*: a practice guidelines]. Volgograd: Volga-Press; 2018. 95 p.

19. Vasilieva K.V., Teteryatnikova N.N., Kuzutina Y.A., Bui Lan Anh T., Ustinov D.V., Viktorov D.V., Victorov A.V., Zakharova I.B. The variability of a gene composition of capsular polysaccharide biosynthesis cluster in *Burkholderia thailandensis*. In: 9th World melioidosis congress, Local Action through Global Knowledge. Hanoi, Vietnam, 15–18 October 2019. Institute of Microbiology and Biotechnology; 2019. P. 186.

20. Parsons Y.N., Banasko R., Detsika M.G., Duangsonk K., Rainbow L., Hart C.A., Winstanley C. Suppression-subtractive hybridization reveals variations in gene distribution amongst the *Burkholderia cepacia* complex, including the presence in some strains of a genomic island containing putative polysaccharide production genes. *Arch. Microbiol.* 2003; 179(3):214–23. DOI: 10.1007/s00203-003-0518-7.

21. Songsri J., Kinoshita Y., Kwanhian W., Wisessombat S., Tangpong J., Rahman-Khan M.S., Tuanyok A. Cross-reactivity of latex agglutination assay complicates the identification of *Burkholderia pseudomallei* from soil. *FEMS Microbiol. Lett.* 2018; 365(22). DOI: 10.1093/femsle/fny256.

22. Duval B.D., Elrod M.G., Gee J.E., Chantratita N., Tandhavanant S., Limmathurotsakul D., Hoffmaster A.R. Evaluation of a latex agglutination assay for the identification of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2014; 90(6):1043–6. DOI: 10.4269/ajtmh.14-0025.

23. Woods K.L., Bouthasavong L., NicFhogartaigh C., Lee S.J., Davong V., AuCoin D.P., Dance D. Evaluation of a rapid diagnostic test for detection of *Burkholderia pseudomallei* in the Lao People's Democratic Republic. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(7):e02002-17. DOI: 10.1128/JCM.02002-17.

Authors:

Frolov D.M., Teteryatnikova N.N., Zakharova I.B., Khrapova N.P. Volgograd Research Anti-Plague Institute. 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Bui T.L.A. Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center. Hanoi, Vietnam. E-mail: tropcenterhanoi@mail.ru.

Об авторах:

Фролов Д.М., Тетерятникова Н.Н., Захарова И.Б., Храпова Н.П. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Буй Т.Л.А. Российско-Вьетнамский Тропический научно-исследовательский и технологический центр. Социалистическая Республика Вьетнам, Ханой. E-mail: tropcenterhanoi@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-139-145

УДК 616.98:579.842.23

Д.А. Шаров, А.А. Лещенко, С.В. Багин, С.В. Логвинов, Д.А. Мохов, А.В. Ежов, А.Г. Лазыкин,
В.В. Крупин, И.В. Косенков

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ КОНЦЕНТРИРОВАНИЯ МИКРОБНЫХ КЛЕТОК В ПРОИЗВОДСТВЕ ВАКЦИНЫ ЧУМНОЙ ЖИВОЙ, ТАБЛЕТКИ ДЛЯ РАССАСЫВАНИЯ

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

Цель работы – усовершенствование технологии концентрирования микробных клеток в производстве вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания. **Материалы и методы.** Использовали вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. Для глубинного выращивания нативной культуры чумного микроба применяли реактор БИОР-0,25 с автоматизированной системой управления. Концентрат микробной взвеси получали методом микрофильтрации с применением установок АСФ-009 и АСФ-020. Содержание живых микробных клеток определяли циторефрактометрическим методом. Оценку устойчивости *Y. pestis* штамма EV к технологическим факторам осуществляли методом фотометрической регистрации изменений оптической плотности суспензии бактерий в процессе литической реакции клеток на воздействие додецилсульфата натрия. Физико-химические и иммунобиологические свойства вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания, определяли в соответствии с ФС.3.3.1.0021.15 Государственной фармакопеи Российской Федерации XIV издания. **Результаты и обсуждение.** Конструктивные особенности внедренного оборудования позволили осуществлять концентрирование микробной суспензии методом мембранной фильтрации, используя в качестве емкости промежуточного хранения реактор БИОР-0,25, что дало возможность исключить три технологические операции. Общая концентрация микробов в суспензии, полученной регламентным и усовершенствованным способами, составляла не менее 150 млрд м.к./мл. Различные гидродинамические режимы в рабочих полостях фильтрующих установок АСФ-009 и АСФ-020 при концентрировании не повлияли на морфометрические свойства и устойчивость микробных культур к технологическим факторам. На основании экспериментальных данных составлен материальный баланс процесса мембранной фильтрации. Выявлено, что выход концентрата с 1 л нативной культуры по усовершенствованной технологии достигал 0,13 л, продолжительность процесса сократилась до 5 ч, а выход готового препарата за один производственный цикл увеличился в три раза. Таким образом, усовершенствована технология концентрирования микробных клеток *Y. pestis* при производстве таблетированной формы чумной живой вакцины.

Ключевые слова: вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV, вакцина чумная живая, технология вакцины чумной живой, показатели окислительного метаболизма, концентрирование микробной суспензии, материальный баланс, микрофильтрация.

Корреспондирующий автор: Лещенко Андрей Анатольевич, e-mail: NIC48CNII@mail.ru.

Для цитирования: Шаров Д.А., Лещенко А.А., Багин С.В., Логвинов С.В., Мохов Д.А., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Крупин В.В., Косенков И.В. Усовершенствование технологии концентрирования микробных клеток в производстве вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:139–145. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-139-145

Поступила 01.09.20. Отправлена на доработку 09.09.20. Принята к публ. 28.10.20.

D.A. Sharov, A.A. Leshchenko, S.V. Bagin, S.V. Logvinov, D.A. Mokhov, A.V. Ezhov, A.G. Lazykin,
V.V. Krupin, I.V. Kosenkov

Improvement of Microbial Cell Concentration Technology in the Production of Live Plague Vaccine in the Form of Orodispersible Tablets

Affiliated Branch of the “48th Central Research Institute” of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Kirov,
Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to improve the procedure for the *Yersinia pestis* EV strain cell concentration using the system for tangential flow microfiltration with the ASF-020 filter support unit. **Materials and methods.** The study used the vaccine *Y. pestis* EV strain derived from NIEG cell line. Submerged cultivation of the native culture was performed using BIOR-0.25 reactor with automated control system. Microbial suspension concentrate was produced through microfiltration applying (Adaptive filtration system) AFS-009 and AFS-020 installations. The content of live microbial cells was determined by cyto refractometry. Assessment of the resistance of *Y. pestis* EV strain cells to technological factors was performed by photometric registration of changes in the optical density of bacterial suspension during the lytic response of cells to sodium dodecyl sulfate. Physical-chemical and immunobiological properties of the dry live plague vaccine were determined in accordance with the pharmacopoeial item.3.3.1.0021.15 of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th edition. **Results and discussion.** The design features of the equipment introduced made it possible to carry out membrane filtration of microbial suspension, using BIOR-0.25 reactor as an intermediate storage unit, thereby excluding three technological stages. The total concentration of microbes in the suspension obtained by routine and improved methods was more than 150 billion microbial cells per ml. A comparative study of the effect of various hydrodynamic regimes in the working cavities of AFS-009 and AFS-020 filter units did not significantly affect the morphometric properties and resistance of microbial cultures to extreme (technological) factors. Based on the experimental data, the mass balance of the membrane filtration process has been determined. The optimized technology gave 0.13

liter yield of concentrate from 1 liter of native culture, and the process duration was reduced to 5 hours, the yield of the finished product in one production cycle was increased by 3 times. Thus, the process of concentrating *Y. pestis* EV strain cells during the production of the tablet form of live plague vaccine has been enhanced. A comparative study of the morphometric properties and resistance of plague microbe cultures to technological factors in the process of their concentration using optimized technology did not reveal any significant differences as compared to the routine one. Technological stage of concentrating has been reduced to 5 h term with a three-fold increase in the yield of finished product.

Key words: *Yersinia pestis* EV vaccine strain, live plague vaccine, live plague vaccine manufacturing technology, microbial suspension concentration, mass balance, and microfiltration.

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

Corresponding author: Andrey A. Leshchenko, e-mail: NIC48CNII@mail.ru.

Citation: Sharov D.A., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Logvinov S.V., Mokhov D.A., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Krupin V.V., Kosenkov I.V. Improvement of Microbial Cell Concentration Technology in the Production of Live Plague Vaccine in the Form of Orodispersible Tablets. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 4:139–145. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-139-145

Received 01.09.20. Revised 09.09.20. Accepted 28.10.20.

В настоящее время специфическая профилактика чумы в Российской Федерации осуществляется в соответствии с Национальным календарем прививок по эпидемическим показаниям [1]. В случае чрезвычайных ситуаций при необходимости проведения массовой вакцинации перспективной лекарственной формой, позволяющей быстро иммунизировать большое количество людей, является вакцина чумная живая в виде таблетки для рассасывания [2, 3]. Вакцина обладает высокой иммуногенностью и низкой реактогенностью, в качестве основного компонента используется активная биологическая субстанция, представляющая собой лиофилизированную живую культуру вакцинного штамма чумного микроба *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ.

Одним из основных этапов в технологии производства таблетированной формы вакцины чумной живой является процесс приготовления микробной взвеси заданной концентрации. Характеристики получаемой концентрированной микробной суспензии напрямую влияют на иммунобиологические свойства готовой формы препарата и технико-экономические показатели производства.

Совершенствование технологической стадии концентрирования микробной культуры при производстве вакцинных препаратов является одним из направлений развития биотехнологии и требует своевременного аппаратного переоснащения, использования высокоэффективных технологических методов и современных конструктивных материалов [4, 5].

Ранее проведенные исследования позволили внедрить в технологию производства таблетированной формы вакцины чумной живой комбинированный способ концентрирования микробных клеток [3]. Он предусматривает первичное осаждение микробной взвеси вакцинного штамма в реакторе, накопление осадка в емкости промежуточного хранения и последующее мембранное разделение на установке АСФ-009. Получение концентрата в рамках данной технологической стадии производства вакцины характеризуется многооперационностью и продолжительностью до 21 ч. Следствием комбинированного способа является малый выход концентрированной суспензии (0,04 л с 1 л нативной культуры).

Современный уровень развития биотехнологического оборудования, в том числе для мембранного разделения биологических продуктов, позволяет обеспечить увеличение выхода продукта с единицы объема полуфабриката при минимизации энергетических и временных затрат [4, 5].

Кроме того, установка АСФ-009 на сегодняшний день не выпускается отечественными производителями и не представлена на рынке технологического оборудования. Мембранные кассетные модули с данной установки производятся в индивидуальном порядке, что требует дополнительных материальных затрат [6].

Все перечисленное определяет актуальность исследований, направленных на совершенствование способа получения микробной взвеси в технологии таблетированной формы чумной вакцины за счет использования современного и более производительного оборудования.

Цель работы – усовершенствование технологии концентрирования микробных клеток в производстве вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания.

Материалы и методы

В производстве препарата использовали вакцинный штамм *Y. pestis* EV линии НИИЭГ, разрешенный приказом Минздрава СССР от 21.03.1960 № 118 для производства вакцины чумной живой (далее – штамм EV) [1]. Штамм получен из Государственной коллекции возбудителей бактериальных инфекций, используемых для разработки и оценки эффективности медицинских средств биологической защиты, филиала ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров).

Для глубинного выращивания клеток *Y. pestis* EV применяли реактор БИОР-0,25 с системой автоматизированного управления процессом. Концентрат микробной взвеси получали методом микрофльтрации с применением установок АСФ-009 и АСФ-020. Готовую форму вакцины получали путем прессования таблеточной массы, состоящей из смеси лиофилизированной в среде высушивания живой культуры вакцинного штамма EV чумного микроба и вспомо-

гательных веществ.

Содержание живых микробных клеток определяли циторефрактометрическим методом на микроскопе МБИ-6 с аноптральным контрастом и общим увеличением $\times 1350$. Содержание делящихся клеток оценивали в фазовом контрасте на микроскопе «Люам ИЗ». Документирование и анализ размеров микробных клеток осуществлялся на микроскопе «Биомед-4ПР» с цифровой камерой Digital Camera DSM 900 [7]. Общую концентрацию чумных микробов штамма EV в суспензии определяли по отраслевому стандартному образцу мутности бактериальных взвесей 10 международных единиц (МЕ), эквивалентной $0,95 \cdot 10^9$ м.к./мл чумного микроба.

Для прогнозирования устойчивости клеток чумного микроба штамма EV к экстремальным технологическим факторам стадии концентрирования использовали метод фотометрической регистрации изменений оптической плотности в процессе литической реакции клеток на воздействие ДСН [8].

Физико-химические и иммунобиологические свойства вакцины определяли в соответствии с ФС.3.3.1.0021.15 «Вакцина чумная живая, таблетки для рассасывания».

Испытания специфической безопасности и иммуногенности вакцины проводили на лабораторных животных. Эксперименты проводили на морских свинках массой (275 ± 25) г и на белых нелинейных мышах массой (19 ± 1) г. В работе использовали здоровых животных, полученных из питомника филиала ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров). Морских свинок и белых нелинейных мышей выдерживали на стандартном рационе с достаточным количеством воды в течение 10 дней. Дальнейшие эксперименты на животных проводили в соответствии с Директивой № 2010/63/ ЕС Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 «О защите животных, используемых для научных целей».

Материальный баланс стадии приготовления концентрированной микробной суспензии составляли согласно требованиям ОСТ 64-02-003-2002 «Продукция медицинской промышленности. Технологические регламенты производства. Содержание, порядок разработки, согласования и утверждения». Расчет выполняли на основании методики, представленной в практикуме по технологии лекарственных форм [9].

Достоверность результатов при принятой $P \leq 0,05$ оценивали по критерию Стьюдента [10].

Результаты и обсуждение

На первоначальном этапе исследований процесс концентрирования глубинной культуры вакцинного штамма EV чумного микроба осуществляли согласно промышленному регламенту, включающему следующие технологические операции:

- предварительное осаждение биомассы в биореакторе БИОР-0,25 продолжительностью 6 ч;

- отбор накопленного осадка и седиментация в емкости промежуточного хранения в течение 8 ч при температуре от 4 до 8 °С;

- концентрирование осадка микробной взвеси на протяжении 7 ч способом микрофльтрации на установке АСФ-009.

Микрофльтрационная установка оснащалась пятью мембранными модулями из полипропилена с размером пор 0,2 мкм и площадью поверхности фильтрации 0,1 м² каждый. Разделение проводили в температурном интервале от 18 до 22 °С. Общая концентрация чумных микробов штамма EV в суспензии после концентрирования составляла 150 млрд м.к./мл.

На следующем этапе исследований осуществлена попытка внедрения установки АСФ-020 в технологический процесс концентрирования биомассы чумного микроба. Ее конструктивные особенности позволили осуществить мембранную фильтрацию с использованием в качестве емкости промежуточного хранения полуфабрикатов сам реактор БИОР-0,25. Для микрофльтрации использовались восемь мембранных модулей из полиэфирсульфона с размером пор 0,2 мкм. Общая площадь фильтрующей поверхности составляла 5,6 м². Продолжительность баромембранного процесса не превышала 5 ч при температуре от 15 до 18 °С. Общая концентрация микробов в суспензии после концентрирования составляла не менее 150 млрд м.к./мл.

Движущей силой при тангенциальной фильтрации микробной суспензии является перепад давлений, который создается насосными агрегатами установки. В установке АСФ-009 используется перистальтический насос, а установка АСФ-020 оснащена высокопроизводительным герметичным центробежным насосом. Следует также учитывать, что гидродинамические характеристики мембранного оборудования способны оказывать воздействие на микробные клетки и влиять на их жизнеспособность в процессе концентрирования [11]. В связи с этим дальнейшие исследования целесообразно было направить на сравнительное изучение влияния конструктивных особенностей мембранных установок на показатели, характеризующие качество полуфабрикатов и готовых препаратов. В микробных культурах оценивали содержание клеток (живых и делящихся) и анализировали параметры их линейных размеров. Для определения морфологических показателей чумного микроба штамма EV использовали микроскопические методы исследований [7, 12]. Полученные результаты приведены в табл. 1.

Результаты исследований показали, что содержание живых и делящихся микробных клеток в нативной культуре выше, чем в микробном концентрате. Этот факт объясняется дефицитом питательного субстрата, возникшим в результате концентрирования клеток способом микрофльтрации [3, 7, 12].

Содержание живых клеток в микробных суспен-

Таблица 1 / Table 1

Характеристика морфометрических показателей клеток *Y. pestis* штамма EV до и после концентрирования ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=5)
Morphometric parameters of *Y. pestis* EV strain cells before and after concentration ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=5)

Исследуемая культура Tested culture		Содержание клеток, % Cell content, %		Линейные размеры клеток, мкм Linear dimension of cells, μm	
		живых live cells	делящихся dividing cells	длина length	диаметр diameter
Микробная культура, выращенная в реакторе БИОР-0,25 Microbial culture cultivated in BIOR-0.25 reactor		94,8 $\pm$ 1,7	7,0 $\pm$ 3,9	1,81 $\pm$ 0,09	0,75 $\pm$ 0,04
Микробная суспензия, полученная методом Microbial suspension obtained using the method	регламентным routine	83,1 $\pm$ 3,3	4,3 $\pm$ 2,2	1,78 $\pm$ 0,12	0,73 $\pm$ 0,04
	усовершенствованным improved	90,5 $\pm$ 4,5	4,2 $\pm$ 2,6	1,75 $\pm$ 0,10	0,68 $\pm$ 0,03

зиях оставалось достаточно высоким и практически не зависело от метода концентрирования. Линейные размеры микробных клеток в нативной культуре незначительно отличались от размеров клеток в концентрированных микробных суспензиях.

Важным является исследование тестирования бактериальной популяции воздействием специфической литической добавки ДСН. Нарастание лизиса клеток за счет солюбилизации белково-липидных комплексов их мембран свидетельствует о наличии в суспензии бактерий с нарушенной защитной функцией оболочек, неустойчивых к «технологическому стрессу» на последующих стадиях приготовления вакцины. Этот метод позволяет судить об изменении состояния клеток под воздействием «стрессовых» факторов на этапах производства чумной вакцины [8]. Результаты показаны в табл. 2.

Представленные в табл. 2 результаты свидетельствуют, что прогнозируемая устойчивость клеток чумного микроба штамма EV к неблагоприятным факторам концентрирования на двух установках не имеет существенных различий.

На заключительном этапе экспериментальной работы нами приготовлены образцы вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания, и проведена сравнительная оценка показателей качества препаратов на соответствие требованиям нормативной документации. Результаты проведенных исследований представлены в табл. 3.

Результаты исследований показали, что вакцина чумная живая, таблетки для рассасывания, произведенная по усовершенствованной технологии, отвечает требованиям нормативной документации и сохраняет свои свойства по истечении срока годности (1 год). При этом полученный препарат имеет лучшие показатели по содержанию живых микробов и микробиологической чистоте.

Такую разницу в количестве живых микробов в таблетке можно объяснить существенным сокращением продолжительности (с 21 ч до 5 ч) усовершенствованного этапа концентрирования. В свою очередь содержание непатогенных микроорганизмов в вакцине снижается за счет уменьшения числа технологических операций (с трех до одной) при получении

Таблица 2 / Table 2

Сравнительная оценка показателей устойчивости клеток *Y. pestis* штамма EV к технологическим факторам при различных методах концентрирования

Comparative assessment of the resistance of *Y. pestis* EV strain cells to technological factors when using different concentration methods

Исследуемый показатель качества, единица измерения The studied quality indicator, unit of measurement	Микробная суспензия, полученная методом Microbial suspension obtained by the method	
	регламентным routine	усовершенствованным improved
Общее содержание микробных клеток, млрд м.к./мл Total content of microbial cells, bln mc/ml	150,0	150,0
Содержание живых микробных клеток, млрд ж. м.к./мл Content of live microbial cells, bln live mc/ml	118,9	120,3
Резистентность клеток к воздействию ДСН, соответствующая концентрации детергента, вызывающего 50 % лизис клеток в суспензии, моль Cell resistance to SDS, matching the concentration of detergent that causes 50% cell lysis in suspension, mol	5,6	5,7
Прогнозируемая (расчетная) устойчивость бактерий, % Predicted (calculated) resistance of bacteria, %	56,8	57,1

Примечание: в таблице представлены данные средней величины трех измерений.

Note: the table presents the median values of three measurements.

Таблица 3 / Table 3

Характеристика основных показателей качества образцов вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=5)Quality indicators for orodispersible plague live vaccine tablets ($\bar{X} \pm I_{95}$, n=5)

Наименование показателя качества, единица измерения Quality indicator, unit of measurement	Требования нормативной документации Requirements of normative documentation	Результаты оценки вакцины, полученной по технологии Results of assessment of the vaccine obtained through method			
		регламентной routine		усовершенствованной improved	
		на момент приготовления at the moment of preparation	по истечении срока годности (1 год) upon expiration date (1 year)	на момент приготовления at the moment of preparation	по истечении срока годности (1 год) upon expiration date (1 year)
Распадаемость Disintegration	Таблетка должна распадаться в течение 15 мин The tablet must be dispersed within 15 minutes term	13,9±0,9	14,1±0,7	13,2±0,8	13,6±0,8
Средняя масса, г Average mass	От 0,6 до 1,0 Ranging 0,6–1,0	0,823±0,05	0,922±0,04	0,892±0,03	0,91±0,02
Истираемость таблеток, % Friability of tablets, %	3,0, не более 3,0, but not more	2,0	2,1	2,0	2,1
pH растворенного препарата, ед. pH pH of the dissolved preparation, pH units	От 6,8 до 7,4 Ranging 6,8–7,4	6,9	6,9	6,9	6,9
Потеря в массе при высушивании, % Mass loss on drying	10,0, не более 10,0, not more	6,5±0,2	6,6±0,2	6,4±0,2	6,5±0,2
Микробиологическая чистота Microbiological purity	Таблетка может содержать не более $1 \cdot 10^3$ м.к. непатогенных микроорганизмов Tablet can contain $\leq 1 \cdot 10^3$ microbe cells of non-pathogenic microorganisms	185±21	174±21	155±25	139±25
Специфическая безопасность Specific safety	Вакцина должна быть специфически безопасной Vaccine must be specifically safe	Вакцина специфически безопасна Vaccine is specifically safe			
Содержание живых микробных клеток в таблетке, млрд ж. м.к. Content of live microbial cells in a tablet, bln live microbe cells	От 30 до 50 Ranging 30–50	40,3±6,2	38,1±1,8	47,8±6,3	45,8±5,3
Иммуногенность Immunogenicity	ED ₅₀ для морских свинок не должна превышать $1 \cdot 10^4$ ж. м.к. ID ₅₀ for Guinea pigs should not exceed $1 \cdot 10^4$ live microbe cells	4238	4165	3694	3856
	ED ₅₀ для белых мышей не должна превышать $4 \cdot 10^4$ ж. м.к. ID ₅₀ for white mice should not exceed $1 \cdot 10^4$ live microbe cells	10366	10488	9968	10124

нии требуемой концентрации микробных клеток.

Одной из наиболее значимых характеристик любого производства, позволяющей оценить эффективность технологии, как в целом, так и по отдельным стадиям, является материальный баланс [9].

Результаты сравнительной оценки материального баланса на этапе приготовления концентрированной микробной суспензии в производстве вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания, представлены в табл. 4. Приготовленный из 1 л нативной культуры чумного микроба штамма EV объем концентрата при использовании АСФ-020 достигал величины 0,13 л. Данный показатель в три раза превысил объем получаемого продукта по сравнению с регламентной технологией. Продолжительность процесса концентрирования сократилась до 5 ч. Выход готовой формы препарата за один производственный

цикл увеличился с 3376 до 10124 человеко-доз.

Сравнительное изучение морфометрических свойств и устойчивости культур *Y. pestis* штамма EV к экстремальным факторам концентрирования по регламентной и усовершенствованной технологии не выявило существенных отличий. Показано, что чумная вакцина в форме таблетки для рассасывания, приготовленная из концентратов микробных клеток, полученных на установке АСФ-020, удовлетворяет требованиям нормативной документации и сохраняет свои свойства на протяжении срока годности. При этом она имела более высокие показатели по содержанию живых микробов и микробиологической чистоте. Проведенные исследования позволили реализовать данные технологические решения на стадии концентрирования микробной взвеси в производстве вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания.

Таблица 4 / Table 4

Результаты сравнительной оценки материального баланса в технологии вакцины чумной живой таблетки для рассасывания, с использованием различных методов приготовления концентрированной микробной суспензии

Comparative evaluation of material balance in live plague vaccine technology using various methods for preparing concentrated microbial suspension

Методы концентрирования, продолжительность Methods for concentrating, duration	Нативная культура Native culture				Концентрированная микробная суспензия Concentrated microbial suspension				Фильтрат Filtrate				Потери микробной культуры Losses of microbial culture		Суммарные потери на стадии, % Cumulative losses at the stage, %	Выход полуфабриката на стадии, % Yield of semi finished product at the stage, %	Вакцинная взвесь, мл Vaccin suspension, ml	Лифолизат, г Lyophilizate, g	Таблетки, шт. (доз) Tablets, pcs (dozes)
	Объем, л Volume, l	Концентрация клеток, м.к./мл Concentration, microbe cells/ml	Общее содержание клеток, м.к. Total content of cells, microbe cells	Исходное содержание клеток, % Initial content of cells, %	Объем, л Volume, l	Концентрация клеток, м.к./мл Concentration, microbe cells/ml	Общее содержание клеток, м.к. Total content of cells, microbe cells	Содержание клеток от исходного, % Content of cells from initial content, %	Объем, л Volume, l	Концентрация клеток, м.к./мл Concentration, microbe cells/ml	Общее содержание клеток, м.к. Total content of cells, microbe cells	Содержание клеток от исходного, % Content of cells from initial content, %	В коммуникациях, % In communications, %	Проба на лабораторный контроль, % Laboratory control sample, %	74,3	25,7	11250	1688	3376
Регламентный, 21 ч Routine, 21 h	175,0	$25,0 \cdot 10^9$	$437,5 \cdot 10^{13}$	100	7,5	$15,0 \cdot 10^{10}$	$112,5 \cdot 10^{13}$	25,7	167,5	$17,6 \cdot 10^9$	$291,2 \cdot 10^{12}$	66,6	4,7	3,0					
Усовершенствованный, 5 ч Improved, 5 h					22,5	$15,0 \cdot 10^{10}$	$337,5 \cdot 10^{13}$	77,1	152,5	-	-	-	19,9	3,0	22,9	77,1	33750	5062	10124

Примечание: «-» – микробные клетки отсутствуют.

Note: «-» – absence of microbial cells.

Усовершенствование процесса концентрирования позволило увеличить выход микробной взвеси с единицы объема нативной культуры чумного микроба в три раза, сократить продолжительность технологической стадии в четыре раза и увеличить количество таблеток (человеко-доз) в одной производственной серии в три раза.

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

Список литературы

1. Микшис Н.И., Кутырев В.В. Современное состояние проблемы разработки вакцин для специфической профилактики чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 1:50–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-50-63.
2. Воробьев А.А., Лебединский В.А. Массовые способы иммунизации. М.: Медицина; 1977. 255 с.
3. Лещенко А.А., Тетерин В.В., Лазыкин А.Г., Ежов А.В., Мохов Д.А., Бирюков В.В., Багин С.В., Логвинов С.В. Экспериментальное обоснование возможности получения концентрата микробных клеток штамма *Yersinia pestis* EV методом микрофилтрации. *Биопрепараты*. 2014; 1:31–5.
4. Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Алешина Ю.А., Еремин С.А., Васин Ю.Г., Клокова О.Д., Белякова Н.И., Крайнова А.Г. Способ концентрирования нативных холероген-анатоксина и О-антигена *Vibrio cholerae* O1 классического биовара штамма 569 в серовара Инаба. Патент РФ № 2451522 C1, опубл. 27.05.2012. Бюл. № 15.
5. Комиссаров А.В., Еремин С.А., Ульянов А.Ю., Алешина Ю.А., Никифоров А.К., Васин Ю.Г., Клокова О.Д., Белякова Н.И. Разработка экспериментальной технологии концентрирования протективных антигенов штамма *Vibrio cholerae* 569B Инаба методом тангенциальной ультрафилтрации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011; 3:75–7. DOI: 0.21055/0370-1069-2011-3(109)-75-77.
6. Мембранные кассетные модули. ЗАО «Владисарт» – российский производитель фильтрационного оборудования на основе мембран разных видов. [Электронный ресурс]. URL: <https://vladisart.ru/products/filtruyschie-elementy/filtr-mkm.html>. (дата обращения 20.08.2020).
7. Ежов А.В., Садовой И.Н., Бирюков В.В., Мохов Д.А., Багин С.В., Чернядьев А.В., Коротышев О.В., Тетерин В.В. Возможность использования метода микрофилтрации в технологии вакцины чумной живой сухой. В кн.: Материалы Всероссийской научной конференции «Диагностика, лечение и профилактика опасных и особо опасных инфекционных заболеваний. Биотехнология». Киров: ФГУ «48 ЦНИИ Минобороны России»; 2008. Вып. 1. С. 313–6.
8. Дунашева Т.Ю., Серебрякова Е.В., Ежов А.В., Тетерин В.В. Способ прогнозирования устойчивости клеток чумного микроба штамма EV к лиофилизации. Патент РФ № 2380420 C2, опубл. 27.01.2010. Бюл. № 3.
9. Краснюк И.И., Михайлова Г.В., редакторы. Практикум по технологии лекарственных форм. М.: Академия; 2007. 432 с.
10. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа; 1990. 351 с.
11. Ураков Н.Н., Волков В.Я., Боровик Р.В. Функциональное состояние и механизмы повреждения микроорганизмов в процессе приготовления бактериальных препаратов. *Биотехнология*. 1988; 4(4):420–32.
12. Фихман Б.А. Микробиологическая рефрактометрия. М.: Медицина; 1967. 280 с.

References

1. Mikshis N.I., Kutyrev V.V. [Current State of the Problem of Vaccine Development for Specific Prophylaxis of Plague]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 1:50–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-50-63.
2. Vorobiev A.A., Lebedinsky V.A. [Mass methods of immunization]. Moscow: Medicine; 1977. 255 p.
3. Leshchenko A.A., Teterin V.V., Lazykin A.G., Ezhov A.V., Mokhov D.A., Biryukov V.V., Bagin S.V., Logvinov S.V. [Experimental substantiation of the possibility of obtaining a concentrate of *Y. pestis* EV strain cells by microfiltration]. *Biopreparaty [Biological products]*. 2014; 1:31–5.
4. Komissarov A.V., Nikiforov A.K., Aleshina Yu.A., Eremin S.A., Vasin Yu.G., Klokova O.D., Belyakova N.I., Krainova A.G. [Method for concentration of native cholero-gen-anatoxin and O-antigen of *Vibrio cholerae* O1, classical biovar, Inaba serovar 569 b strain]. RF Patent No. 2451522 C1. Publ. 27.05.2012. Bulletin No. 15.
5. Komissarov A.V., Eremin S.A., Ul'yanov A.Yu., Aleshina Yu.A., Nikiforov A.K., Vasin Yu.G., Klokova O.D., Belyakova N.I. [Development of the Experimental Technology for Protective Antigens of *Vibrio cholerae* 569B Inaba Concentration by Means of Tangential Ultrafiltration]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2011; 3:75–7. DOI: 0.21055/0370-1069-2011-3(109)-75-77.
6. Membrane cassette modules. CJSC “Vladisart” – the Russian producer of filtration equipment based on different types of membranes. (Cited 20 Aug 2020). [Internet]. Available from: <https://vladisart.ru/products/filtruyschie-elementy/filtr-mkm.html>.
7. Ezhov A.V., Sadovoy I.N., Biryukov V.V., Mokhov D.A., Bagin S.V., Chernyad'yev A.V., Korotyshev O.V., Teterin V.V. [The possibility of using the microfiltration method in the live dry plague vaccine technology]. In: [Proceedings of the All-Russian Scientific Conference “Diagnostics, Treatment and Prevention of Dangerous and Especially Dangerous Infectious Diseases. Biotechnology”]. Kirov: FSI “48 Central Research Institute of the Ministry of Defense of Russia”; 2008. Issue 1. P. 313–6.
8. Dunyasheva T.Yu., Serebryakova E.V., Ezhov A.V., Teterin V.V. [Method for predicting the resistance of *Y. pestis* EV strain cells to lyophilization]. RF Patent No. 2380420 C2. Publ. 27.01.2010. Bulletin No. 3.
9. Krasnyuk I.I., Mikhailova G.V., editors. [Practice on the Technology of Medicinal Forms]. M.: “Academy”; 2007. 432 p.
10. Lakin G.F. [Biometrics]. M.: “High School”; 1990. 351 p.
11. Urakov N.N., Volkov V.Ya., Borovik R.V. [Functional condition and mechanisms of microbial damage in the process of bacterial preparation production]. *Biotechnologiya. [Biotechnology]*. 1988; 4(4):420–432.
12. Fikhman B.A. [Microbiological Refractometry]. M.: “Meditsina”; 1967. 280 p.

Authors:

Sharov D.A., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Logvinov S.V., Mokhov D.A., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Krupin V.V., Kosenkov I.V. Affiliated Branch of the “48” Central Research Institute” of the Ministry of Defense of the Russian Federation. 119, Oktyabrsky Avenue, Kirov, 610000, Russian Federation. E-mail: NIC48CNII@mail.ru.

Об авторах:

Шаров Д.А., Лещенко А.А., Багин С.В., Логвинов С.В., Мохов Д.А., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Крупин В.В., Косенков И.В. Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, 610000, Киров, Октябрьский проспект, 119. E-mail: NIC48CNII@mail.ru.

К ЮБИЛЕЮ ГЕННАДИЯ ГРИГОРЬЕВИЧА ОНИЩЕНКО

21 октября исполнилось 70 лет Геннадию Григорьевичу Онищенко, видному организатору отечественного здравоохранения и государственному деятелю, академику РАН, профессору, доктору медицинских наук.

На посту Главного государственного санитарного врача Российской Федерации Г.Г. Онищенко в непростое для нашей страны время смог не только сохранить санитарно-эпидемиологическую службу России, но и укрепить ее, а в дальнейшем усовершенствовать и модернизировать. Благодаря его усилиям сохранена система противочумных учреждений с ее научными достижениями, практическими разработками и традициями. Геннадий Григорьевич внес большой вклад в научное обоснование, разработку и внедрение системы эпидемиологического надзора, санитарной охраны и биологической безопасности. Под его непосредственным руководством осуществлялись противозидемические мероприятия в зонах стихийных бедствий, вооруженных конфликтов, гуманитарных катастроф. Геннадий Григорьевич лично возглавил мероприятия по ликвидации последствий Спитакского землетрясения 1988 г. Подвиг специалистов СПЭБ противочумных институтов увековечен в Мемориале благодарной памяти армянского народа. Во время эпидемических осложнений по холере в Дагестане в 1994 г. Г.Г. Онищенко руководил проведением эффективных противохолерных мероприятий. Его большой заслугой является организация противозидемического обеспечения в период проведения антитеррористической операции на территории Чеченской Республики.

При участии Г.Г. Онищенко разработан ряд важнейших федеральных законов, направленных на упрочение санитарно-эпидемиологического благополучия страны, разработаны и реализованы федеральные целевые программы, внесены предложения от Российской Федерации в Международную декларацию по борьбе с инфекционными заболеваниями. Геннадий Григорьевич успешно сочетает государственную и организационную деятельность с науч-



ной и педагогической работой. Он автор свыше 800 научных трудов, в число которых входят фундаментальные руководства и монографии, руководит кафедрой экологии человека и гигиены окружающей среды медико-профилактического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Высокий профессионализм, энциклопедический склад ума, эрудиция, целеустремленность, большая трудоспособность, талант исследователя, выдающиеся организаторские способности ставят Г.Г. Онищенко в ряд крупнейших организаторов здравоохранения нашей страны, ученых-эпидемиологов и гигиенистов. Сегодня научные интересы Геннадия Григорьевича лежат в сфере проблем биологической безопасности, он работает над системными вопросами защиты от современных биологических угроз. Он является Первым заместителем председателя Комитета по образованию и науке, членом комиссии Государственной Думы по правовому обеспечению развития организаций оборонно-промышленного комплекса Российской Федерации.

Активная гражданская позиция Геннадия Григорьевича и многолетняя многогранная научно-общественная деятельность вызывают чувство глубокого уважения. Как истинный врач и государственный деятель, Г.Г. Онищенко ведет большую просветительскую работу, выступая в СМИ с разъяснениями и комментариями по различным вопросам, касающимся сохранения здоровья и благополучия граждан нашей страны.

Заслуги Геннадия Григорьевича Онищенко перед российским здравоохранением и медицинской наукой отмечены целым рядом высоких государственных наград.

Коллектив Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб», редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Геннадия Григорьевича с юбилеем и желают здоровья, благополучия, дальнейших успехов в деятельности на благо Российского государства и общества.

К ЮБИЛЕЮ АННЫ ЮРЬЕВНЫ ПОПОВОЙ

18 октября исполнилось 60 лет Анне Юрьевне Поповой, руководителю Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главному государственному санитарному врачу Российской Федерации, профессору, доктору медицинских наук.

А.Ю. Попова вносит весомый вклад в развитие отечественной эпидемиологии в вопросах эпидемиологического надзора, санитарной охраны и биологической безопасности. При ее непосредственном участии разработан и внедрен отвечающий современным реалиям алгоритм предупреждения, выявления и ликвидации чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения на международном, межгосударственном и национальном уровнях, обеспечено санитарно-эпидемиологическое благополучие при проведении на территории России массовых мероприятий с международным участием.

Под руководством А.Ю. Поповой решена важная государственная задача – интеграция санитарно-эпидемиологической службы нового субъекта Российской Федерации – Республики Крым – в систему государственного санитарно-эпидемиологического надзора. Организована эффективная работа учреждений Роспотребнадзора в Республике Крым и г. Севастополе, обеспечена стабильная санитарно-эпидемиологическая обстановка и защита прав потребителей.

Под руководством А.Ю. Поповой успешно развивается и укрепляется сотрудничество Роспотребнадзора с ВОЗ, ее Европейским региональным бюро, ГОАРН, ЮНЕЙДС, ЮНИСЕФ, а также с профильными ведомствами государств ближнего и дальнего зарубежья.

С августа 2014 г. СПЭБ Роспотребнадзора участвовала в борьбе с эпидемией лихорадки Эбола в Гвинейской Республике. Работа специалистов СПЭБ в Гвинее получила высокую оценку и признание со стороны ВОЗ и других международных организаций. Мобильная лаборатория СПЭБ интегрирована в Глобальную систему ответных мер на эпидемию БВВЭ в странах Западной Африки. Росту международного престижа Российской Федерации в области противодействия опасным инфекциям способствовало также открытие в 2017 г. при непосредственном участии А.Ю. Поповой Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. В авгу-



сте 2020 г. для оказания помощи в предотвращении угроз санитарно-эпидемиологического характера в результате техногенной катастрофы в Бейруте работала СПЭБ Роспотребнадзора.

Сейчас А.Ю. Попова – на передовой линии борьбы с новой опасной инфекцией, вызванной коронавирусом SARS-CoV-2, под ее руководством сотрудники Роспотребнадзора активно участвуют в противоэпидемических мероприятиях и оператив-

ной диагностике COVID-19. В научных учреждениях Роспотребнадзора ведутся исследования нового коронавируса и вызываемой им болезни, успешно разрабатываются санитарно-противоэпидемические мероприятия, диагностические и профилактические препараты. Огромная работа проводится по консультированию специалистов учреждений практического здравоохранения нашей страны, а также ряда стран СНГ.

Много внимания А.Ю. Попова уделяет системе противочумных учреждений. За последние годы благодаря ее усилиям произошла существенная модернизация лабораторной базы, укрепление материально-технического оснащения и кадрового потенциала.

Свои знания, профессиональный опыт Анна Юрьевна передает молодому поколению: возглавляет кафедру организации санитарно-эпидемиологической службы, читает курс лекций по дисциплине «Общая гигиена» на кафедре гигиены Сеченовского университета. Является автором более 200 научных статей, целого ряда монографий и научных руководств, главным редактором научно-практического журнала «Здоровье населения и среда обитания». А.Ю. Попова ведет большую просветительскую работу: ее интервью в центральных СМИ являются важным источником информации для самой широкой аудитории.

Вклад А.Ю. Поповой в развитие отечественного здравоохранения и российскую медицинскую науку отмечен высокими государственными наградами.

Коллектив Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб», редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Анну Юрьевну с юбилеем и желают здоровья, благополучия, новых больших успехов и дальнейшей плодотворной деятельности на благо Российского государства и общества.

К ЮБИЛЕЮ НИНЫ ИВАНОВНЫ СМIRНОВОЙ

17 декабря 2020 г. исполнилось 75 лет Нине Ивановне Смирновой, профессору, доктору биологических наук, главному научному сотруднику отдела микробиологии РосНИПЧИ «Микроб», члену редакционной коллегии журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

Н.И. Смирнова – ведущий специалист по молекулярной микробиологии, ученый, чьи работы получили признание не только в России, но и за рубежом. Основными направлениями ее научной работы являются: изучение структуры и функции геномов возбудителей холеры O1 и O139 серогрупп, роли мобильных элементов в изменении их патогенных и иммуногенных свойств; исследования динамики изменчивости генов вирулентности и адаптации к стрессовым условиям окружающей среды у возбудителя холеры в процессе эволюции; механизмы регуляции экспрессии генов, значимых для патогенности и эпидемического распространения возбудителя; структурные и функциональные особенности нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1



с разной эпидемической значимостью; молекулярное типирование; конструирование эффективных штаммов продуцентов протективных антигенов, создание новых гено- и иммунодиагностических средств. Профессор Н.И. Смирнова – основатель научной школы, объединяющей исследователей, занятых изучением теоретических и прикладных вопросов молекулярной генетики холерных вибрионов. Под руководством Н.И. Смирновой выполнено и защищено 19 кандидатских и 2

докторские диссертации, Нина Ивановна руководила множеством научных проектов, получивших гранты Международного научного фонда, Российского фонда фундаментальных исследований, Президента РФ. Она автор свыше 300 научных публикаций.

Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Нину Ивановну с юбилеем и желают ей здоровья, благополучия, талантливых учеников и дальнейших творческих успехов.

К ЮБИЛЕЮ АНДРЕЯ ВЛАДИМИРОВИЧА ТОПОРКОВА

28 октября исполнилось 50 лет Андрею Владимировичу Топоркову – доктору медицинских наук, доценту, директору ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора.

С 1996 г. Андрей Владимирович работал в Российском научно-исследовательском противочумном институте «Микроб», где прошел путь от младшего научного сотрудника до заместителя директора института по научной и противоэпидемической работе. С 2015 г. является директором ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора.

А.В. Топорков – высококвалифицированный специалист в области эпидемиологии и микробиологии опасных инфекционных болезней, автор более 240



научных трудов, в том числе 9 монографий. Он является членом Ученого совета Роспотребнадзора, бюро Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации, возглавляет Проблемную комиссию ПК 48.05 «Биологическая безопасность и противодействие биотерроризму» КНС, является заведующим кафедрой молекулярной биологии и генетики Волгоградского государственного медицинского университета и членом редакционного совета журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Андрея Владимировича с юбилеем и желают ему здоровья, благополучия, дальнейших успехов.

К ЮБИЛЕЮ АЛИМА МАСГУТОВИЧА АЙКИМБАЕВА

27 ноября 2020 г. исполнилось 75 лет выдающемуся ученому-чумологу Республики Казахстан доктору медицинских наук, профессору Алиму Масгутовичу Айкимбаеву.

Научная деятельность А.М. Айкимбаева началась в 1972 г. в Средне-Азиатском противочумном НИИ Министерства здравоохранения СССР, с 1987 г., в течение 22 лет, он являлся заместителем директора по науке и эпидемиологии Казахского противочумного института, переименованного в 2001 г. в КНЦКЗИ им. М. Айкимбаева.

В 2009 г. Алим Масгутович перешел на работу в Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга на должность заместителя генерального директора, а с 2016 г. является научным консультантом центра.

С 2007 по 2013 год А.М. Айкимбаев – главный внештатный специалист (эпидемиолог) Министерства здравоохранения Республики Казахстан. Алим Масгутович участвовал в противоэпидемических мероприятиях в очагах чумы и холеры на территории Казахстана, Узбекистана, Кыргызстана и России. Им научно обоснована возможность сокращения продолжительности карантина в очаге чумы и предложен адекватный объем противоэпидемических мероприятий по чуме.



Перу Алима Масгутовича принадлежат более 400 научных работ, в том числе 22 монографии, часть из которых стали настольными книгами для работников санитарно-эпидемиологической службы. Профессор А.М. Айкимбаев всегда щедро делится своими знаниями – им подготовлены 10 докторов и 15 кандидатов медицинских и биологических наук, которые стали ведущими специалистами в области профилактики особо опасных инфекций.

Многолетний самоотверженный труд Алима Масгутовича на ниве науки и образования неоднократно получал самое высокое признание в Казахстане. Профессор А.М. Айкимбаев обладает заслуженным авторитетом и несомненным уважением в научном сообществе как в Республике Казахстан, так и на пространстве СНГ.

Коллектив Национального научного центра особо опасных инфекций им. М. Айкимбаева поздравляет Алима Масгутовича с юбилеем и желает ему благополучия, крепкого здоровья и успехов.

Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» присоединяются к поздравлению и добрым пожеланиям в адрес А.М. Айкимбаева.

Уважаемые коллеги!

25 июня 2020 г. начал работу российский портал препринтов по COVID-19 – **COVID-19 PREPRINTS**.

Адрес портала: <https://covid19-preprints.microbe.ru/>

Портал создан с целью оперативного представления результатов научных исследований и наблюдений из практики по COVID-19 научному медицинскому сообществу.

На портале могут размещать свои препринты как отечественные, так и зарубежные авторы, включая исследователей из стран СНГ, ЕАЭС, ШОС.

Принимаются для размещения препринты на русском и английском языках по широкому кругу вопросов, связанных с новой коронавирусной инфекцией, в том числе по эпидемиологии, диагностике, клинике, лечению и профилактике.

Размещение препринтов на портале COVID-19 PREPRINTS дает авторам уникальную возможность допечатного представления своих материалов по COVID-19 медицинскому сообществу для ознакомления и широкого обсуждения.

Каждому размещенному на портале препринту присваивается DOI, что обеспечивает возможность корректного цитирования препринта.

Правила работы с порталом размещены в соответствующем разделе.