

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 2

2021

САРАТОВ

Подписной индекс в каталоге
«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
Технический редактор *Т.К. Меркулова*
Перевод на английский
А.П. Ножкиной, Т.Б. Караваевой

Проблемы особо опасных инфекций.
2021. Вып. 2. 154 с.

Подписано в печать 23.06.21
Формат 60×84 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 18,86
Гарнитура Таймс. Заказ 2825-21/12071

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

© Федеральное казенное учреждение
здравоохранения «Российский научно-
исследовательский противочумный
институт «Микроб», 2021

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

2021, Issue 2

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

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

Editor-in-Chief: *Kutyrev V.V.*, Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS

Editorial Council

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

- Борисевич С.В., Писцов М.Н., Рубцов В.В., Кутаев Д.А., Суrowyatkina A.V., Бережной А.М., Петров А.А., Казанцев А.В., Зверев А.Ю., Маноскин А.В., Кротков В.Т., Сахаров Р.В., Чухраля О.В., Хмуренко С.Н., Савенко С.В., Полярков А.Ю. Лабораторная диагностика бешенства. Современное состояние и направление развития 6
- Грачева И.В., Осин А.В., Кутырев В.В. Принципы формирования коллекционных фондов штаммов микроорганизмов 16
- Кривошеина Е.И., Карташов М.Ю., Найденова Е.В. Современные лабораторные методы выявления возбудителя желтой лихорадки 24
- Марченко В.Ю., Гончарова Н.И., Гаврилова Е.В., Максютин Р.А., Рыжиков А.Б. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России в 2020 г. 33
- Пономаренко Д.Г., Скударева О.Н., Хачатурова А.А., Германова А.Н., Лукашевич Д.Е., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Зинченко Д.А., Семенко О.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Об эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по бруцеллезу в мире в 2011–2020 гг. и прогноз на 2021 г. в Российской Федерации 41
- Рудакова С.А., Пен'евская Н.А., Блох А.И., Рудаков Н.В., Транквилевский Д.В., Савельев Д.А., Теслова О.Е., Канешова Н.Е. Обзор эпидемиологической ситуации по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2010–2020 гг. и прогноз на 2021 г. 52
- Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Кабве Э., Трифонов В.А., Зиятдинов В.Б., Транквилевский Д.В., Серова И.В., Попов Н.В., Скударева О.Н., Попова И.В. Обзор хантавирусных инфекций в мире, эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Российской Федерации в 2020 г. и прогноз на 2021 г. 62

Оригинальные статьи

- Абдел З.Ж., Ерубаев Т.К., Токмурзиева Г.Ж., Аймаханов Б.К., Далибаев Ж.С., Мусагалиева Р.С., Жумадилова З.Б., Мека-Меченко В.Г., Мека-Меченко Т.В., Матжанова А.М., Абдрасилова А.А., Умарова С.К., Рысбекова А.К., Есимсеит Д.Т., Абделиев Б.З., Конаратбаев К.К., Исаков Б.Г., Белый Д.Г., Ескермесов М.К., Кулемин М.В., Аскар Ж.С., Калдыбаев Т.Е., Мухтаров Р.К., Давлетов С.Б., Сутиягин В.В., Лездиньш И.А. Демаркация границ Центральноазиатского пустынного природного очага чумы Казахстана и мониторинг ареала основного носителя *Rhombomys opimus* 71
- Гладких А.С., Федотова И.С., Миронова Л.В. Способ определения профиля генов антибиотикорезистентности у штаммов *Vibrio cholerae* с помощью ПЦР в режиме реального времени 79
- Джапарова А.К., Ерошенко Г.А., Никифоров К.А., Куклева Л.М., Альхова Ж.В., Бердиев С.К., Кутырев В.В. Характеристика и филогенетический анализ штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* из Сарыджазского высокогорного очага в Тянь-Шане 87

Reviews

- Borisevich S.V., Pistsov M.N., Rubtsov V.V., Kutaev D.A., Surovyatkin A.V., Berezhnoy A.M., Petrov A.A., Kazantsev A.V., Zverev A.Yu., Manoshkin A.V., Krotkov V.T., Sakharov R.V., Chukhraya O.V., Khmurenko S.N., Savenko S.V., Poyarkov A.Yu. Laboratory Diagnosis of Rabies. Current State and Trends in Development 6
- Gracheva I.V., Osin A.V., Kutyrev V.V. Principles of Formation of Collection Funds of Microorganism Strains 16
- Krivosheina E.I., Kartashov M.Yu., Naidenova E.V. Advanced Laboratory Methods for Detecting Yellow Fever Pathogen 24
- Marchenko V.Yu., Goncharova N.I., Gavrilova E.V., Maksyutov R.A., Ryzhikov A.B. Overview of the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza in Russia in 2020 33
- Ponomarenko D.G., Skudareva O.N., Khachaturova A.A., Germanova A.N., Lukashevich D.E., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Zinchenko D.A., Semenko O.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Epizootiological and Epidemiological Situation on Brucellosis around the World in 2011–2020 and Forecast for the Russian Federation for 2021 41
- Rudakova S.A., Pen'evskaya N.A., Blokh A.I., Rudakov N.V., Trankvilevsky D.V., Savel'ev D.A., Teslova O.E., Kaneshova N.E. Review of the Epidemiological Situation on Ixodic Tick-Borne Borreliosis in the Russian Federation in 2010–2020 and Prognosis for 2021 52
- Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Kabve E., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Trankvilevsky D.V., Serova I.V., Popov N.V., Skudareva O.N., Popova I.V. Review of Hantavirus Infections in the World, Epidemiological Situation on Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Russian Federation in 2020 and a Forecast for 2021 62

Original articles

- Abdel Z.Zh., Erubaev T.K., Tokmurzieva G.Zh., Aimakhanov B.K., Dalibaev Zh.S., Musagalieva R.S., Zhumadilova Z.B., Meka-Mechenko V.G., Meka-Mechenko T.V., Matzhanova A.M., Abdrasilova A.A., Umarova S.K., Rysbekova A.K., Esimseit D.T., Abdeliev B.Z., Konyratbaev K.K., Isakov B.G., Bely D.G., Eskermesov M.K., Kulemin M.V., Askar Zh.S., Kaldybaev T.E., Mukhtarov R.K., Davletov S.B., Sutyagin V.V., Lezdin'sh I.A. Demarcation of the Boundaries of the Central Asian Desert Natural Focus of Plague of Kazakhstan and Monitoring the Areal of the Main Carrier, *Rhombomys opimus* 71
- Gladkikh A.S., Fedotova I.S., Mironova L.V. Method for Determining the Profile of Antibiotic Resistance Genes in the *Vibrio cholerae* Strains by RT-PCR 79
- Dzhaparova A.K., Eroshenko G.A., Nikiforov K.A., Kukleva L.M., Al'khova Zh.V., Berdiev S.K., Kutyrev V.V. Characteristics and Phylogenetic Analysis of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains from the Sarydzhas High-Mountain Focus in the Tien-Shan 87

Еремкин А.В., Ипатов С.С., Куклина Г.В., Печенкин Д.В., Кытманов А.А., Тихвинская О.В., Кузнецов С.Л., Горшков А.С., Хапаев Н.Г. Разработка иммуноферментных тест-систем и иммунохроматографических наборов реагентов, предназначенных для выявления стафилококковых энтеротоксинов типов А и В.....

94

Зарва И.Д., Павлов М.В., Сороковой А.А., Ботвинкин А.Д. Применение ГИС-технологий и данных дистанционного зондирования Земли для оценки пространственно-временного распространения бешенства в Восточном Забайкалье.....

100

Золн В.В., Оськина О.П., Солодкий В.В., Еремина М.Н., Давыдов Г.Ф., Гостева Т.А. Оценка жизнеспособности коронавируса SARS-CoV-2 на различных типах тест-поверхностей, а также в питьевой и морской воде.....

108

Куклева Л.М., Джапарова А.К., Оглодин Е.Г., Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Кузнецов А.А., Фадеева А.В., Ерошенко Г.А., Бердиев С.К., Кутырев В.В. Комплексная характеристика штаммов *Yersinia pestis*, выделенных в Сарыджазском и Верхненарынском высокогорных очагах в 2019–2020 гг.....

114

Решетникова И.Д., Агафонова Е.В., Тюрин Ю.А., Куликов С.Н., Гилязутдинова Г.Ф., Лопушов Д.В., Шайхразиева Н.Д., Исаева Г.Ш., Зиятдинов В.Б. Опыт изучения коллективного и персонального иммунитета к вирусу SARS-CoV-2 у медицинских работников.....

123

Толкачев О.В., Малкова Е.А., Гурвич А.Н., Тришевская А.В., Зубков В.А. Мультимодельная парадигма в приложении к анализу факторов, определяющих эпизоотическую ситуацию в сообществах несинантропных мелких млекопитающих г. Екатеринбург.....

131

Ярыгина М.Б., Корзун В.М., Балахонов С.В., Рождественский Е.Н., Денисов А.В. Генотипическая структура *Yersinia pestis* ssp. *central asiatica* biovar *altaica* в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы при MLVA25-типировании.....

138

Краткие сообщения

Гостищева С.Е., Абзаева Н.В., Ракитина Е.Л., Пономаренко Д.Г., Костюченко М.В., Катунина Л.С., Логвиненко О.В., Иванова Г.Ф., Курилова А.А. Сравнительный анализ иммуногенной активности чумной вакцины в зависимости от среды выращивания.....

148

Юбилей

К юбилею Дмитрия Константиновича Львова.....

152

К юбилею Светланы Анатольевны Щербаковой.....

153

Eremkin A.V., Ipatov S.S., Kuklina G.V., Pechenkin D.V., Kytmanov A.A., Tikhvinskaya O.V., Kuznetsov S.L., Gorshkov A.S., Khapaev N.G. Development of ELISA Test-Systems and Immune-Chromatographic Reagent Panel Designed for the Detection of Staphylococcal Enterotoxins of A and B Types

Zarva I.D., Pavlov M.V., Sorokovoi A.A., Botvinkin A.D. Application of GIS and Earth Remote Sensing Data for the Evaluation of the Spatiotemporal Spread of Rabies in Eastern Trans-Baikal Region

Zolin V.V., Os'kina O.P., Solodky V.V., Eremina M.N., Davydov G.F., Gosteva T.A. Assessment of the Viability of SARS-CoV-2 Coronavirus on Various Types of Test Surfaces, as Well as in Drinking and Sea Water

Kukleva L.M., Dzhaparova A.K., Oglodin E.G., Naryshkina E.A., Krasnov Ya.M., Kuznetsov A.A., Fadeeva A.V., Eroshenko G.A., Berdiev S.K., Kutyrev V.V. Complex Characteristics of *Yersinia pestis* Strains Isolated in the Sarydzhas and Upper-Naryn High-Mountain Foci in 2019–2020

Reshetnikova I.D., Agafonova E.V., Tyurin Yu.A., Kulikov S.N., Gilyazutdinova G.F., Lopushov D.V., Shaykhratieva N.D., Isaeva G.Sh., Ziatdinov V.B. Experience in Studying Herd and Individual Immunity to the SARS-CoV-2 Virus in Medical Workers

Tolkachev O.V., Malkova E.A., Gurvich A.N., Trishevskaya A.V., Zubkov V.A. A Multi-Model Paradigm in Application to the Analysis of the Factors Defining the Epizootic Situation in the Communities of Non-Synanthropic Small Mammals in Ekaterinburg

Yarygina M.B., Korzun V.M., Balakhonov S.V., Rozhdestvensky E.N., Denisov A.V. MLVA25-Typed *Yersinia pestis* ssp. *central asiatica* biovar *altaica* Genotype Structure in Gorno-Altai Mountain Natural Plague Focus

Brief communications

Gostishcheva S.E., Abzaeva N.V., Rakitina E.L., Ponomarenko D.G., Kostyuchenko M.V., Katunina L.S., Logvinenko O.V., Ivanova G.F., Kurilova A.A. Comparative Analysis of the Immunogenic Activity of the Plague Vaccine Depending on the Growing Medium

Anniversaries

To the Anniversary of Dmirty K. Lvov

To the Anniversary of Svetlana A. Shcherbakova

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-6-15

УДК 616.98:578.824.11

С.В. Борисевич, М.Н. Писцов, В.В. Рубцов, Д.А. Кутаев, А.В. Суровяткин, А.М. Бережной,
А.А. Петров, А.В. Казанцев, А.Ю. Зверев, А.В. Маноскин, В.Т. Кротков, Р.В. Сахаров,
О.В. Чухраля, С.Н. Хмуренко, С.В. Савенко, А.Ю. Поярков

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БЕШЕНСТВА. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И НАПРАВЛЕНИЕ РАЗВИТИЯ

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

В обзоре рассмотрены актуальные аспекты лабораторной диагностики бешенства. Приведены методы лабораторной диагностики рабической инфекции, стандартизованные ВОЗ в 2018 г., и их применение на территории Российской Федерации. Показана схема лабораторной диагностики бешенства, применяемая специалистами ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России для исследования поступивших проб биологического материала от погибших людей. В период 2002–2018 гг. изучение биоматериала проводили при помощи молекулярно-биологического, вирусологического методов диагностики и в некоторых случаях электронной микроскопии, что позволило выявить и идентифицировать возбудитель в 257 пробах от 71 человека, паспортизовать и депонировать новые изоляты вируса бешенства. Накопление и анализ опыта применения молекулярно-биологического метода диагностики бешенства позволяют рекомендовать к использованию наборы ОТ-ПЦР, ОТ-ПЦР-РВ (имеющие удостоверение о государственной регистрации) в практике здравоохранения и ветеринарии для идентификации возбудителя рабической инфекции. Применение молекулярно-биологических методов представляется перспективным в плане развития диагностики бешенства для совершенствования эпидемиологического надзора и повышения эффективности системы биологической защиты населения Российской Федерации.

Ключевые слова: бешенство, уличный вирус бешенства, лабораторная диагностика.

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

Для цитирования: Борисевич С.В., Писцов М.Н., Рубцов В.В., Кутаев Д.А., Суровяткин А.В., Бережной А.М., Петров А.А., Казанцев А.В., Зверев А.Ю., Маноскин А.В., Кротков В.Т., Сахаров Р.В., Чухраля О.В., Хмуренко С.Н., Савенко С.В., Поярков А.Ю. Лабораторная диагностика бешенства. Современное состояние и направление развития. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 2:6–15. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-6-15

Поступила 09.01.2020. Отправлена на доработку 07.09.2020. Принята к публ. 24.12.2020.

S.V. Borisevich, M.N. Pistsov, V.V. Rubtsov, D.A. Kutaev, A.V. Surovyatkin, A.M. Berezhnoy,
A.A. Petrov, A.V. Kazantsev, A.Yu. Zverev, A.V. Manoshkin, V.T. Krotkov, R.V. Sakharov,
O.V. Chukhraya, S.N. Khmurenko, S.V. Savenko, A.Yu. Poyarkov

Laboratory Diagnosis of Rabies. Current State and Trends in Development

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

Abstract. The review considers the relevant aspects of laboratory diagnosis of rabies. The methods of laboratory diagnostics of rabies infection, standardized by WHO in 2018, and their use in the Russian Federation are presented. The scheme of laboratory diagnostics of rabies, applied by specialists of the “48th CRI” of the Ministry of Defense of Russia, for the study of biological samples from deceased people is outlined. Between 2002 and 2018, the study of biomaterial was carried out using molecular-biological, virological methods of diagnosis and in some cases electron microscopy, which allowed to detect and identify the pathogen in 257 samples from 71 people, to certify and deposit new isolates of the rabies virus. Accumulation and analysis of the lessons learned in the application of molecular-biological method of rabies diagnosis allows us to recommend the use of RT-PCR, real-time RT-PCR sets (having a certificate of state registration) in healthcare and veterinary medicine practice to identify the causative agent of rabies infection. The use of molecular-biological methods is promising in terms of the development of rabies diagnosis to improve epidemiological surveillance and raise the efficiency of the biological protection of the population of the Russian Federation.

Key words: rabies, street rabies virus, laboratory diagnostics.

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

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

Citation: Borisevich S.V., Pistsov M.N., Rubtsov V.V., Kutaev D.A., Surovyatkin A.V., Berezhnoy A.M., Petrov A.A., Kazantsev A.V., Zverev A.Yu., Manoshkin A.V., Krotkov V.T., Sakharov R.V., Chukhraya O.V., Khmurenko S.N., Savenko S.V., Poyarkov A.Yu. Laboratory Diagnosis of Rabies. Current State and Trends in Development. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; 2:6–15. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-6-15

Received 09.01.2020. Revised 07.09.2020. Accepted 24.12.2020.

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

Rubtsov V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4387-0367>

Kutaev D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4236-1368>

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

Kazantsev A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3072-9110>

Manoshkin A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6766-1917>

Krotkov V.T., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7674-2321>

Sakharov R.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6155-1365>

Khmurenko S.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2606-5705>

Savenko S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5175-916X>

Бешенство – опасная вирусная инфекция зоонозной природы с абсолютной летальностью, возбудителем которой является нейротропный вирус рода *Lyssavirus* семейства *Rhabdoviridae*. По официальным данным [1], опубликованным в 2018 г. Международным комитетом по таксономии вирусов (МКТВ), род *Lyssavirus* представлен 16 видами. Случаи заболевания и гибели людей были вызваны 7 видами лиссавирусов: *Australian bat lyssavirus*, *Duvenhage lyssavirus*, *European bat 1 lyssavirus*, *European bat 2 lyssavirus*, *Irkut lyssavirus*, *Mokola lyssavirus*, *Rabies lyssavirus*. На территории Российской Федерации циркулирует преимущественно классический (уличный) вирус бешенства – *Rabies lyssavirus*, но зарегистрирована также циркуляция лиссавирусов других видов среди летучих мышей, а именно: *European bat 1 lyssavirus*, *Irkut lyssavirus*, *West Caucasian bat lyssavirus* [2, 3]. Сведения о представителях рода *Lyssavirus* приведены в табл. 1.

Бешенство является природно-очаговой инфекцией, общей для человека и животных. Абсолютная фатальность и эволюция этой болезни придают чрезвычайный характер каждому случаю и ставят эту ветеринарно-медицинскую проблему в разряд первостепенных [4].

Главной задачей работы глобального Альянса (Всемирная организация здравоохранения, Всемирная организация по охране здоровья животных, Продовольственная и сельскохозяйственная организация Организации Объединенных Наций) по контролю за бешенством в мире является ликвидация к 2030 г. гибели людей от бешенства. В наши дни разработаны и разрабатываются программы по борьбе и ликвидации бешенства во многих странах на разных континентах [3, 5].

Нозоареал рабической инфекции имеет огромные масштабы. В представленных данных ВОЗ за период 2010–2018 гг. наиболее эпидемиологически

Таблица 1 / Table 1

Основные данные о представителях рода *Lyssavirus* [1–3]
Basic data on representatives of the genus *Lyssavirus*

Вид вируса Virus species	Распространение (территория циркуляции вируса) Dissemination (area of the virus circulation)	Животные – источники инфекции Animals – sources of infection	Патогенность для человека Pathogenicity for humans
<i>Aravan lyssavirus</i>	Центральная Азия Central Asia	Летучие мыши Bats	–
<i>Australian bat lyssavirus</i>	Австралия Australia	Летучие мыши Bats	+
<i>Bokeloh bat lyssavirus</i>	Западная и Восточная Европа West and East Europe	Летучие мыши Bats	–
<i>Duvenhage lyssavirus</i>	Южная Африка South Africa	Летучие мыши Bats	+
<i>European bat 1 lyssavirus</i>	Европа и европейская часть России Europe and European part of Russia	Летучие мыши Bats	+
<i>European bat 2 lyssavirus</i>	Европа Europe	Летучие мыши Bats	+
<i>Gannoruwa bat lyssavirus</i>	Южная Азия South Asia	Летучая лисица Flying fox	–
<i>Ikoma lyssavirus</i>	Восточная Африка East Africa	Циветта Civet	–
<i>Irkut lyssavirus</i>	Восточная Сибирь, Китай East Siberia, China	Летучие мыши Bats	+
<i>Khujand lyssavirus</i>	Центральная Азия Central Asia	Летучие мыши Bats	–
<i>Lagos bat lyssavirus</i>	Центральная и Южная Африка Central and South Africa	Летучие мыши, собака, кошка Bats, dogs, cats	–
<i>Lleida bat lyssavirus</i>	Юго-Западная Европа South-Western Europe	Летучие мыши Bats	–
<i>Mokola lyssavirus</i>	Центральная и Южная Африка Central and South Africa	Собака, кошка, землеройка Dogs, cats, shrews	+
<i>Rabies lyssavirus</i>	Европа, Азия, Америка, Африка Europe, Asia, America, Africa	Млекопитающие Mammals	+
<i>Shimoni bat lyssavirus</i>	Восточная Африка East Africa	Летучие мыши Bats	–
<i>West Caucasian bat lyssavirus</i>	Кавказ, Африка Caucasus, Africa	Летучие мыши Bats	–

Примечание: «–» – нет данных; «+» – зарегистрированы случаи заболевания и гибели людей.

Note: “–” – no data; “+” – registered cases of the disease and death of people.

неблагополучными в мире признаны страны Азии и Африки. В странах Европы наибольшее количество летальных случаев зарегистрировано на территории Российской Федерации [2, 3].

На протяжении последних лет эпидемиологическая обстановка по бешенству в Российской Федерации оценивается как неустойчивая. Проблема бешенства особенно актуальна для Центрального и Приволжского федеральных округов, где географически выделяется территория Среднерусского природно-очагового региона, в котором в последнее десятилетие произошло осложнение эпизоотической обстановки, обусловленное активизацией природных очагов [6]. Максимальная интенсивность эпизоотий среди диких плотоядных животных отмечается в регионах Центральной России и Поволжья с 2014 г., при этом основным резервуаром рабической инфекции является лисица. В эпизоотический процесс активно вовлекаются дикие (енотовидная собака, волк) и домашние (собаки, кошки) животные, служащие источником заражения людей вирусом бешенства [7]. В плотном кольце эпизоотий впервые оказалась Москва. И это неслучайно, так как Центральная Россия и прежде всего Московский регион являются наиболее урбанизированными территориями, на которых создаются особые условия для циркуляции возбудителя среди животных.

На современном этапе борьбы с бешенством особое значение имеет система эпидемиологического надзора, непосредственно связанная с качественной диагностикой данного заболевания.

Цель работы – обобщить и проанализировать современное состояние и направление развития в области лабораторной диагностики бешенства и представить объективные информационные материалы о результатах применения лабораторных методов, используемых в ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России, для диагностического тестирования возбудителя бешенства.

Общепринятой в мире является комплексная стратегия диагностики бешенства, построенная на основании совокупности эпидемиологических, эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных и лабораторных методов [3, 8, 9]. Окончательный диагноз бешенства может быть поставлен только с помощью лабораторных методов. Среди последних рекомендаций ВОЗ в 2018 г. стандартизованы и рекомендованы к применению следующие методы: иммунохимический, молекулярно-биологический и вирусологический с помощью биологической пробы на мышцах либо использования культуры клеток [3].

Применение того или иного метода зависит от задачи исследования. Для некоторых базовых методов (иммуногистохимический, иммуноферментный анализ) разработаны свои разновидности (варианты) диагностического теста.

Экспертами ВОЗ рекомендованы следующие методы лабораторной диагностики бешенства: ме-

тод флуоресцирующих антител (МФА) (FAT, direct fluorescent antibody test) – для прижизненного выявления антигена возбудителя в коже и волосяных фолликулах у подозрительных на инфицирование людей; метод полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) (RT-PCR, reverse transcriptase-polymerase chain reaction) – для идентификации вируса бешенства в коже, волосяных фолликулах, слюне, слезах, спинномозговой жидкости; культуральный метод с использованием клеток мышинной нейробластомы (NA C1300) (RTCIT, rabies cell culture inoculation test) или биологической пробы на белых мышцах (MI, mouse inoculation test) – для выделения вируса из слюны, слез, спинномозговой жидкости. Для определения специфических антител в сыворотке крови и спинномозговой жидкости рекомендовано использовать экспресс-тест фокус-флуоресцентного ингибирования (RFFIT, rapid fluorescent focus inhibition test), или тест нейтрализации вируса флуоресцирующими антителами (FAVN, fluorescent antibody virus neutralization), или метод непрямой иммунофлуоресценции (ИФА, indirect immunofluorescence), иммуноферментный анализ (ИФА) (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay) [3].

Необходимо отметить, что прижизненная диагностика бешенства на территории Российской Федерации не практикуется [10].

Для посмертной диагностики бешенства у людей ВОЗ рекомендует следующее: выявление антигена в образцах головного мозга, коже, волосяных фолликулах проводить с помощью МФА, или прямого быстрого иммуногистохимического теста (DRIT, direct rapid immunohistochemical test), или иммуногистохимического теста с фиксацией проб в формалине (ИHC, immunohistochemistry on formalin-fixed samples). Кроме того, для идентификации вируса бешенства в пробах головного мозга, коже, волосяных фолликулах рекомендуется применять ОТ-ПЦР, а выделение возбудителя из проб мозга проводить на мышцах либо культуре клеток мышинной нейробластомы (NA C1300).

В отношении посмертной диагностики бешенства среди павших животных, согласно стандартизованным методам ВОЗ, действуют те же правила, что и для посмертного диагностического тестирования возбудителя рабической инфекции у человека [3].

В настоящее время в Российской Федерации лабораторную диагностику бешенства проводят согласно ГОСТ 26075-2013. Как правило, в лабораторной практике в учреждениях медицинского и ветеринарного профиля для выделения вируса бешенства используют МФА, ИФА, биопробу на белых мышцах, а также метод накопления вируса в культуре клеток. Перспективными и развиваемыми в применении для идентификации возбудителя бешенства являются молекулярно-генетические методы (ОТ-ПЦР и ПЦР-РВ) и метод флуоресцирующих моноклональных антител (МКА) [11, 12].

Во многих научно-исследовательских органи-

зациях ветеринарного и медицинского профиля как в мире [2, 3], так и в России в качестве основного метода для обнаружения специфического антигена вируса бешенства широко используют МФА. Данный метод признан ВОЗ базовым для обнаружения антигена [3] и является наиболее точным из всех существующих методов микроскопической диагностики. Вместе с тем для исследований МФА пригоден только свежий или свежемороженый материал [11]. Классический вариант постановки МФА с использованием люминесцентной микроскопии характеризуется длительностью, трудоемкостью и субъективностью. При использовании МФА не исключены случаи гипердиагностики. Для повышения точности и эффективности анализа при определении активности вируса и уровня нейтрализующих антител в сыворотке крови отечественные и зарубежные исследователи предлагают использовать автоматизированный вариант количественной оценки реакции иммунофлуоресценции на основе технологии импульсной проточной цитометрии [13, 14].

В последнее десятилетие одним из значимых достижений рабиологии является разработка и внедрение прямого экспресс-иммуногистохимического теста DRIT для выявления антигена вируса бешенства. Данный метод основан на визуализации реакции антигена нуклеопротеина (N) вируса бешенства в мазках-отпечатках мозга с биотинилированными моноклональными антителами, специфическими для белка N. DRIT предполагает обработку исследуемого материала стрептавидин-пероксидазным комплексом с последующим окрашиванием гематоксилином. Конечный результат учитывается под световым микроскопом. Данный метод интенсивно используется в развивающихся странах (Танзания, Афганистан, Ирак, Индия), считается простым, экономичным, эффективным и применимым в полевых условиях, что необходимо для улучшения централизованного эпиднадзора в странах с невысоким уровнем экономики. ВОЗ поддерживает развитие данного метода и считает его альтернативным методом МФА. В то же время изложенный метод имеет существенный недостаток, заключающийся в необходимости иметь реагенты для его применения (наборы анти-N моноклональных антител), которые выпускает разработчик данного метода – Центр по контролю и профилактике заболеваний США [8, 15].

Метод диффузионной преципитации в агаровом геле является низкочувствительным тестом, выявление вирусного антигена в исследуемом материале составляет от 45 до 70 %. Реакция положительна лишь при достаточной концентрации вирусного антигена, составляющей не менее $4,5 \lg LD_{50}/мл$ [11].

Биологическая проба на мышах, несмотря на некоторые недостатки, до сих пор остается надежным, достоверным и высокочувствительным методом выделения вируса бешенства. Кроме этого, в лабораторной и научно-исследовательской практике в мире и в России для выделения вируса бешенства исполь-

зуют культуры клеток невральное происхождения, а именно клетки мышинной нейробластомы CCL-131, невринома Гассерова узла крысы НГУК-1, мышинной нейробластомы NA C1300 [3].

Для оценки уровня антирабических антител существует несколько методов лабораторной диагностики. В мировой лабораторной практике в основном используют RFFIT и FAVN. Последний позволяет максимально точно, количественно определить титр антирабических антител. Оба указанных метода выполняют с использованием культуры клеток и вируса бешенства. Тесты трудоемки и требуют квалифицированного исполнения [9, 15]. На территории Российской Федерации имеются отдельные аккредитованные лаборатории, выполняющие диагностические исследования при помощи данных тестов для оценки уровня антирабических антител у животных.

В практике диагностики бешенства не потерял своей значимости ИФА, отличающийся простотой и невысокой стоимостью оборудования для измерения продукта иммуноферментной реакции, возможностью автоматизации, стабильностью соединений, меченных ферментами. Многие практические и научно-исследовательские лаборатории в России используют метод ИФА, порог аналитической чувствительности которого составляет не менее $3,3 \lg LD_{50}/мл$ [11].

В Российской Федерации имеется экспериментальный препарат на основе моноклональных антител для диагностики бешенства, а также других лисавирусных инфекций. Разработчики сообщают [12], что по специфичности связывания с наиболее распространенными на территории России вирусами бешенства данная панель не уступает американскому аналогу (стандарту).

На отдельной позиции, от которой ожидают результатов высокого уровня, стоит молекулярно-биологический метод исследования. В реалиях вчерашнего дня молекулярные методы использовались лишь как вспомогательные [2], но в настоящее время в официальных документах ВОЗ в направлении идентификации возбудителя бешенства рекомендуется их применение при исследовании аутопсийного материала, поступившего от погибших людей и животных [3]. Данные литературы показывают, что за рубежом во многих странах успешно используют молекулярные методы диагностики бешенства [16–18]. Иностранные специалисты приводят результаты исследований по молекулярной диагностике бешенства с помощью технологии ПЦР, в том числе при детекции в реальном времени [19–21]. Указанный метод позволяет идентифицировать возбудитель бешенства в образцах прогнившего биологического материала (головного мозга) при исследовании большого количества биопроб от разных видов животных [22, 23].

В Российской Федерации ряд научно-исследовательских организаций (ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, ФГБУ «Институт полиомие-

лита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова», ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации) разрабатывают, апробируют [10, 24–26] и применяют [27, 28] наборы реагентов для определения РНК классического вируса бешенства методом ОТ-ПЦР в реальном времени.

Диагностические системы ОТ-ПЦР, ОТ-ПЦР-РВ демонстрируют высокие показатели аналитической и диагностической чувствительности [10]. Зарегистрированный в Российской Федерации в качестве медицинского изделия «Набор реагентов для выявления и идентификации РНК вируса бешенства методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ОМ-Скрин-Бешенство-РВ, РЗН 2016/3575 от 25.01.2016)» имеет показатель аналитической чувствительности не более $1,0 \cdot 10^3$ копий РНК в миллилитре пробы, диагностической чувствительности – не менее 98 % с доверительной вероятностью 90 %, диагностической специфичности – не менее 98 % с доверительной вероятностью 90 %. В то же время разработанная коллективом авторов [10] отечественная диагностическая система в формате ОТ-ПЦР в реальном времени для выявления штаммов классического вируса бешенства, циркулирующих на территории Российской Федерации («АмплиСенс® RABV-FL»), показала свою высокую специфичность, а значение аналитической чувствительности составляло $4,0 \cdot 10^3$ копий РНК в миллилитре пробы. Результаты изучения биопроб, полученных от погибших людей, подозрительных на инфицирование вирусом бешенства, проведенного специалистами Центра специальной лабораторной диагностики особо опасных и экзотических инфекционных заболеваний, г. Сергиев Посад, за период с 2002 по 2015 год, дают основание заявлять о перспективности и целесообразности применения и развития молекулярно-биологических методов [27].

Следует отметить, что кроме изложенного метода ОТ-ПЦР зарубежные исследователи ведут работы по разработке диагностических систем на основе методик петлевой изотермической амплификации, так называемой LAMP (Loop-mediated isothermal amplification), и амплификации нуклеиновых кислот NASBA (Nucleic acid sequence – based amplification). К преимуществам данных методик относят высокую специфичность, чувствительность, технологичность [15].

В то же время в рабиологии актуальным является изучение первичной структуры геномов полевых изолятов вируса бешенства. Как известно, ген N, кодирующий нуклеопротеин, является более консервативным для всех представителей рода *Lyssavirus*, чем ген G, кодирующий белок оболочки

вируса. Полученные знания могут быть полезны для контроля антирабических мероприятий и профилактики бешенства на территории Российской Федерации [29, 30].

Проведенное группой авторов сравнительное изучение нуклеотидных последовательностей фрагмента гена N [29] подтвердило, что изоляты вируса бешенства, выделенные на одной территории или близлежащих территориях, генетически наиболее близки и имеют характерные молекулярные различия. При этом выявленные «маркерные» замены в предсказанных аминокислотных последовательностях нуклеопротеина позволяют предположить принадлежность изолята к той или иной группе вируса бешенства и предсказать движение эпизоотии. Исследование, проведенное в Кировской области [31], установило, что в данном случае реверсия вакцинного штамма отсутствует, так как выявлены существенные геномные различия между исследуемыми образцами и штаммом ERAG333, используемым в вакцине.

Следовательно, в целях усиления мероприятий, направленных на профилактику бешенства в стране, предупреждения заболевания людей рабической инфекцией, обеспечения эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации необходимо проведение качественной и эффективной лабораторной диагностики. При этом важным направлением является разработка, внедрение и применение современных диагностических наборов для исследования на вирус бешенства.

Для оказания консультативно-методической и практической помощи органам и учреждениям Роспотребнадзора и медицинским организациям субъектов Российской Федерации по вопросам эпидемиологии, профилактики и диагностики бешенства в настоящее время активно работает Референс-центр по мониторингу за бешенством, организованный согласно приказу Роспотребнадзора от 01.12.2017 № 1116 на базе ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора.

С ноября 1999 г. в системе Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и Министерства обороны Российской Федерации функционирует штатный Центр специальной лабораторной диагностики особо опасных и экзотических инфекционных заболеваний (далее – Центр) (приказы Министра обороны РФ и Минздрава РФ от 20.11.1999 № 558/416, от 14.08.2014 № 588/873), деятельность которого напрямую связана с противоэпидемической защитой территории России [32–34].

Одной из важных задач, возложенных на Центр, является проведение лабораторной диагностики на наличие вируса бешенства у людей, погибших от гидрофобии, а также выделение возбудителя данной опасной инфекции из поступивших проб, с его последующей идентификацией, консервацией и депонированием.

Практическую помощь субъектам Российской Федерации в направлении диагностики особо опасных и экзотических инфекционных заболеваний, а также бешенства Центр осуществляет согласно приказу Роспотребнадзора от 01.12.2017 № 1116.

Лабораторные диагностические исследования в Центре проводят по отработанной и зарекомендовавшей себя схеме (рис. 1) в соответствии с СП 3.1.7.2627-10, СП 1.3.3118-13, ГОСТ 26075-2013, МУ 1.3.2569-09, рекомендациями ВОЗ от 2018 г. [3]. При этом объектом исследования служат пробы участков головного мозга: аммонов рог, мозжечок, кора больших полушарий, в некоторых случаях фрагменты гиппокампа, дна 3-го и 4-го желудочков, ствола мозга, лобной доли и продолговатого мозга. В некоторых случаях исследованию подвергаются также пробы слюнных желез и миндалин. Пробы от погибших людей получают согласно требованиям МУ 4.2.2839-11. Выделение вируса и определение его биологической активности проводят на белых мышах массой 6–8 г либо на мышках-сосунках. Для идентификации возбудителя бешенства используют медицинское изделие для диагностики *in vitro*, набор реагентов на основе метода одностадийной ОТ-ПЦР-РВ «ОМ-Скрин-Бешенство-РВ» (РЗН 2016/3575 от 25.01.2016) (производство компании «Синтол», Москва). Верификацию результатов ОТ-ПЦР-РВ обязательно осуществляют с помощью набора реагентов на основе метода ОТ-ПЦР «ВЦ-ПЦР-Бешенство» (ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России). Кроме этого, при работе с отдельными некачественными пробами выполняют электронно-микроскопическое выявление вирионов вируса методами негативного контраста и ультратонких препаративных срезов.

Для лучшего понимания представленной схемы (рис. 1) необходимо более подробно изложить отдельные ее составляющие.

На этапе выделения возбудителя бешенства по-

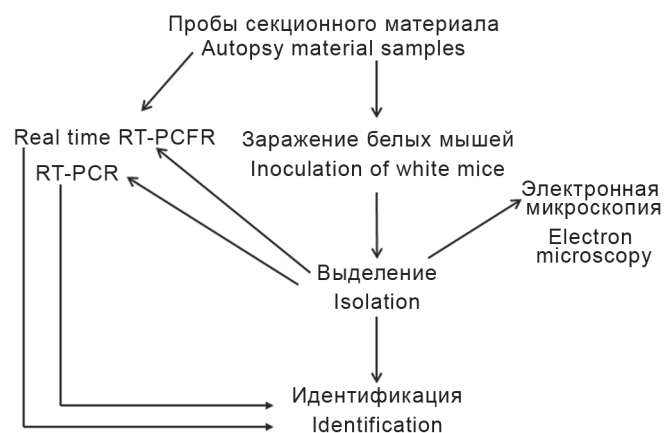


Рис. 1. Схема лабораторной диагностики бешенства, применяемая специалистами Центра для исследования поступивших проб биологического материала от погибших людей

Fig. 1. The scheme of laboratory diagnostics of rabies, used by specialists of the Center to study the received samples of biological material from deceased people

ступившие пробы растирают в фарфоровой ступке с кварцевым песком, далее на растворе Хенкса получают 10 % гомогенизированную суспензию и центрифугируют ее при 2000 об/мин в течение 10 мин. Из надосадочной жидкости готовят 10^{-1} разведение рабочего материала вируса на растворе Хенкса. Часть приготовленного рабочего материала используют для идентификации возбудителя, а другую часть – для заражения интрацеребрально белых беспородных мышей массой 6–8 г либо мышечных сосунков. Срок наблюдения за мышами – 30 сут. От павших мышей отбирают головной мозг и готовят 10 % гомогенизированную суспензию вируса, после этого к данной суспензии добавляют 10 % раствор сахарозы с 10 % сыворотки крупного рогатого скота и лиофилизируют. Высушенный материал вируса бешенства паспортизируют по биологической активности вируса и отсутствию посторонней микрофлоры и депонируют в количестве не менее 10 ампул в музейную коллекцию вирусов.

Результаты отдельных исследований, представленные в табл. 2, свидетельствуют, что титр вируса бешенства имел значение от 1,9 до 4,4 lg ЛД₅₀/мл, а сроки гибели мышей колебались от 12 до 24 сут. Полученные данные соответствуют классическим представлениям о вирусе уличного бешенства.

На этапе выделения нуклеиновых кислот пробы подготавливают к исследованию с помощью набора реагентов «ОМ-Скрин-Бешенство-РВ». Далее пробирки с исследуемыми образцами помещают в передаточный шлюз, где их орошают 30 % раствором перекиси водорода и выдерживают в течение 30 мин. Всю последующую работу проводят по I санитарной зоне, где аликвоты РНК из полученных препаратов анализируют методом одностадийной ПЦР-РВ с использованием анализатора нуклеиновых кислот АНК-32М (производство Института аналитического приборостроения РАН, Санкт-Петербург).

Подтверждение результатов ОТ-ПЦР-РВ обязательно осуществляют с помощью «Набора реагентов для выявления РНК вируса бешенства методом обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции (ВЦ-ПЦР-Бешенство)», разработанного специалистами ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России. Анализ с помощью набора реагентов проводится в три этапа: проведение обратной транскрипции, проведение собственно ПЦР, проведение электрофоретической детекции продуктов ОТ-ПЦР.

Необходимо отметить, что по времени исследования и технике выполнения выигрывает метод ОТ-ПЦР-РВ. Специалистами Центра накоплен опыт использования ОТ-ПЦР и ОТ-ПЦР-РВ при диагностической работе с аутопсийными пробами, который показывает, что единственным источником перекрестной контаминации является этап пробоподготовки и выделения нуклеиновой кислоты, что обусловлено значительной концентрацией вирусной РНК в пробах головного мозга. Строгое использование отрицательного контроля выделения РНК позво-

Таблица 2 / Table 2

Результаты определения биологической активности уличного вируса бешенства, выделенного из отдельных проб биологического материала от погибших людей методом интрацеребрального заражения белых мышей массой 6–8 г

The results of determining the biological activity of street rabies virus isolated from individual samples of biological material from deceased people applying the method of intracerebral infection of white mice weighing 6–8 g

Обозначение погибшего человека Designation of a deceased person	Год исследования Study year	Сроки гибели белых мышей, сут Time frame of death of white mice, day	Биологическая активность, lg ЛД ₅₀ /мл Biological activity, lg LD ₅₀ /ml
Д. / D.	2002	13–19	2,8
Л. / L.	2002	12–19	4,4
О. / O.	2005	14–21	2,3
И. / I.	2006	16–20	1,9
Т. / T.	2009	18–24	2,1
Г. / G.	2014	14–20	2,9
П. / P.	2018	15–20	3,1

ляет исключить ложноположительный результат.

Для изучения поступивших проб секционного материала ненадлежащего качества проводят электронную микроскопию (рис. 2).

Данные исследования осуществляют методом негативного контраста, который позволяет изучать структуру поверхности вируса бешенства, либо методом ультратонких срезов, который предоставляет возможность определять внутреннюю структуру возбудителя. Проведение электронной микроскопии обеспечивает выявление вирионов с «пулеподобной» морфологией, длиной 170–200 нм и диаметром 70 нм, что характерно для вируса уличного бешенства.

За многолетний период (2002–2018 гг.) в Центр поступила и исследована 261 проба биологического материала от 72 погибших людей из 29 субъектов Российской Федерации. Выявлен и идентифицирован вирус бешенства в 257 пробах от 71 человека.

Единственный лабораторно неподтвержденный случай был зарегистрирован в 2015 г. при исследовании с помощью методов ОТ-ПЦР-РВ биопробы и электронной микроскопии четырех проб головного мозга погибшей Щ. [27].

За период с 2002 по 2018 год биологический материал для лабораторной диагностики бешенства у людей, погибших от гидрофобии, поступал из семи федеральных округов Российской Федерации,

а именно Центрального, Южного, Приволжского, Северо-Западного, Северо-Кавказского, Уральского, Дальневосточного.

Наибольшее количество проб, а именно 55,3 % от общего числа проб, содержащих вирус бешенства, получили из Центрального федерального округа; 19 и 10,9 % – соответственно из Приволжского и Южного федеральных округов. Из Уральского федерального округа получены 8 % от общего количества проб; из Северо-Кавказского, Северо-Западного и Дальневосточного федеральных округов – соответственно 3,3; 2,3 и 1,2 %. Наиболее неблагоприятными являются Центральный федеральный округ с 38 погибшими от бешенства и Приволжский федеральный округ с 13 погибшими. Полученные данные согласуются с ранее проведенными исследованиями по определению территории наибольшего риска заражения бешенством за период 2002–2015 гг., отметившими лидирующее положение Центрального федерального округа в общей структуре заболеваемости населения гидрофобией [27].

В последние годы Роспотребнадзор и Министерство сельского хозяйства Российской Федерации проводят усиленную совместную работу в сфере организационных и профилактических мероприятий по борьбе с бешенством. При этом Управление Роспотребнадзора налаживает взаимодействие с силовыми, природоохранными и охотничьими ведомствами. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации утверждено постановление от 18.04.2018 № 30 «О дополнительных мерах, направленных на профилактику бешенства в Российской Федерации», зарегистрированное в Министерстве юстиции Российской Федерации 08.08.2018 № 51814. В 2017 г. в Москве состоялся XI съезд Всероссийского научно-практического Общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов «Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения», где на отдельной секции рассматривались вопросы борьбы с бешенством. В 2018 г. в г. Липецке состоялся Всероссийский семинар по бешенству, где обсуждались наиболее острые проблемы бешенства в современных условиях. Специалисты Центра выступали с

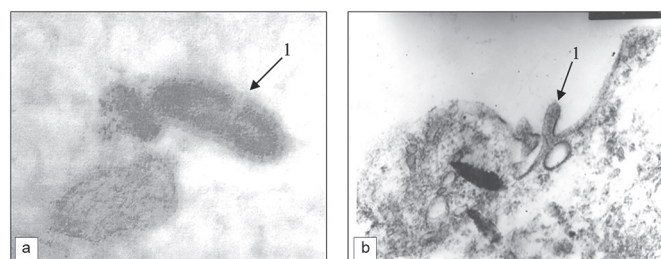


Рис. 2. Электронно-микроскопическое изучение вируса бешенства:

a – метод негативного контраста ($\times 200000$); *b* – метод ультратонких срезов ($\times 110000$); *1* – вирион вируса бешенства

Fig. 2. Electron microscopic study of rabies virus:

a – negative contrast method ($\times 200000$); *b* – the method of ultra-thin sections ($\times 110,000$); *1* – rabies virus virion

докладами на данных мероприятиях по теме лабораторной диагностики бешенства. Основой для докладов являлись результаты диагностического изучения биопроб, отобранных от подозрительных на инфицирование вирусом бешенства людей. Докладчиками продемонстрирована применяемая в Центре лабораторно-диагностическая схема с использованием наборов для идентификации вируса бешенства.

Изложенные и проанализированные данные позволяют выделить следующее направление развития в области лабораторной диагностики бешенства: более широкое применение молекулярно-биологических методов исследования для изучения географического распределения изолятов возбудителя этой инфекции в целях совершенствования эпидемиологического надзора, повышения эффективности системы биологической защиты населения Российской Федерации.

Таким образом, для лабораторной диагностики бешенства в Российской Федерации преимущественно применяют метод флуоресцирующих антител, для оценки уровня специфических антител – метод иммуноферментного анализа. Кроме МФА и ИФА в мировой лабораторной практике активно используют прямой экспресс-иммуногистохимический тест, экспресс-тест фокус-флуоресцентного ингибирования, тест нейтрализации вируса флуоресцирующими антителами, ОТ-ПЦР. Проведение исследований по разработанной в Центре комплексной схеме, включающей использование молекулярно-биологического, вирусологического методов и в некоторых случаях электронной микроскопии, позволило выявить и идентифицировать возбудитель в 257 пробах от 71 человека, паспортизовать и депонировать новые изоляты вируса бешенства. На основании опыта применения молекулярно-биологических методов исследования (ОТ-ПЦР, ОТ-ПЦР-РВ) для лабораторной диагностики бешенства рекомендуем использовать наборы ОТ-ПЦР, ОТ-ПЦР-РВ (имеющие удостоверение о государственной регистрации) в практике здравоохранения и ветеринарии для идентификации возбудителя рабической инфекции. Данный диагностический подход согласуется с последними рекомендациями ВОЗ 2018 г. Применение молекулярно-биологических методов исследования придало положительный вектор развитию диагностики бешенства, что имеет существенное значение для совершенствования эпидемиологического надзора за данной инфекцией и повышения эффективности системы биологической защиты населения Российской Федерации.

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

Список литературы

1. World Health Organization 2018. [Электронный ресурс]. URL: <http://ictvonline.org/virusTaxonomy.asp/> (дата обращения 20.11.2018).
2. 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.
3. WHO Expert Consultation on Rabies: Third report. WHO technical report series. No. 1012. WHO Press, World Health Organization. Geneva 27, Switzerland; 2018. 183 p.
4. Макаров В.В., Гулюкин А.М., Гулюкин М.И. Бешенство: естественная история на рубеже столетий. М.: ZooVerKнига; 2015. С. 5–13.
5. WHO Immunological Basis for Immunization Series. Module 17: Rabies. Update 2017. World Health Organization. Switzerland, Geneva 27; 2017. 40 p.
6. Ходякова И.А., Смольянинов Д.И. Об эпидемиологическом надзоре за бешенством на территории Липецкой области. *Санитарно-эпидемиологический вестник*. 2018; 3:6–8.
7. Сидоров Г.Н., Полещук Е.М., Сидорова Д.Г. Источники заражения людей бешенством в России за последние 5 веков. *Здоровье населения и среда обитания*. 2016; 11:22–6.
8. Madhusudana S.N., Subha S., Thankappan U., Ashwin Y.B. Evaluation of a direct rapid immunohistochemical test (dRIT) for rapid diagnosis of rabies in animals and humans. *Virol. Sin.* 2012; 27(5):299–302. DOI: 10.1007/s12250-012-3265-6.
9. Madhusudana S.N., Malavalli B.V., Thankappan U.P., Sundramoorthy S., Belludi A.Y., Pulagumbaly S.B., Sanyal S. Development and evaluation of a new immunohistochemistry-based test for the detection of rabies virus neutralizing antibodies. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2014; 10(5):1359–65. DOI: 10.4161/hv.28042.
10. Дедков В.Г., Девяткин А.А., Полещук Е.М., Сафонова М.В., Маркелов М.Л., Шипулин Г.А. Разработка и апробация набора реагентов для определения РНК классического вируса бешенства методом ОТ-ПЦР в реальном времени. *Вопросы вирусологии*. 2016; 61(5):235–240. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-5-235-240.
11. Гулюкин А.М. Значимость современных методов лабораторной диагностики и идентификации возбудителя бешенства для иммунологического мониторинга данного зооноза. *Вопросы вирусологии*. 2014; 3:5–10.
12. Грибенча С.В., Козлов А.Ю., Костина Л.В., Елаков А.Л., Лосич М.А., Цибезов В.В., Забережный А.Д., Алипер Т.И. Получение моноклональных антител к нуклеопротеину вируса бешенства. *Вопросы вирусологии*. 2013; 6:38–43.
13. Кравцов А.Л., Генералов С.В., Кожевников В.А., Гаврилова Ю.К., Абрамова Е.Г., Кочкин А.В., Никифоров А.К. Определение доли инфицированных вирусом бешенства клеток линии Vero с помощью проточной цитометрии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 3:18–25.
14. Vengatesan D., Raj G.D., Raja A., Ramadass P., Gunaseelan L. Detection of rabies virus antigen or antibody using flow cytometry. *Cytometry B Clin. Cytom.* 2006; 70(5):335–43. DOI: 10.1002/cyto.b.20104.
15. Mani R.S., Madhusudana S.N. Laboratory diagnosis of human rabies: recent advances. *Scientific World Journal*. 2013; 2013:569712. DOI: 10.1155/2013/569712.
16. Wacharapluesadee S., Phumesin P., Supavonwong P., Khawplod P., Intarut N., Hemachudha T. Comparative detection of rabies RNA by NASBA, real-time PCR and conventional PCR. *J. Virol. Methods*. 2011; 175(2):78–82. DOI: 10.1016/j.jviromet.2011.05.007.
17. Fischer M., Wernike K., Freuling C.M., Müller T., Aylan O., Brochier B., Cliquet F., Vázquez-Morón S., Hostnik P., Huovilainen A., Isaksson M., Kooi E.A., Mooney J., Turcitu M., Rasmussen T.B., Revilla-Fernández S., Smreczak M., Fooks A.R., Marston D.A., Beer M., Hoffmann B. A step forward in molecular diagnostics of lyssaviruses – results of a ring trial among European laboratories. *PLoS One*. 2013; 8(3):e58372. DOI: 10.1371/journal.pone.0058372.
18. Hayman D.T.S., Banyard A.C., Wakeley P.R., Harkess G., Marston D., Wood J.L.N., Cunningham A.A., Fooks A.R. A universal real-time assay for the detection of Lyssaviruses. *J. Virol. Methods*. 2011; 177(1):87–93. DOI: 10.1016/j.jviromet.2011.07.002.
19. Faye M., Dacheux L., Weidmann M., Diop S.A., Loucoubar C., Bourhy H., Sall A.A., Faye O. Development and validation of sensitive real-time RT-PCR assay for broad detection of rabies virus. *J. Virol. Methods*. 2017; 243:120–30. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.12.019.
20. Dacheux L., Larrous F., Lavenir R., Lepelletier A., Faouzi A., Troupin C., Nourilil J., Buchy P., Bourhy H. Dual combined real-time reverse transcription polymerase chain reaction assay for the diagnosis of lyssavirus infection. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(7):e0004812. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004812.
21. Mani R.S., Madhusudana S.N., Mahadevan A., Reddy V., Belludi A.Y., Shankar S.K. Utility of real-time Taqman PCR for antemortem and postmortem diagnosis of human rabies. *J. Med. Virol.* 2014; 86(10):1804–12. DOI: 10.1002/jmv.23814.
22. Prabhu K.N., Isloor S., Veeresh B.H., Rathnamma D., Sharada R., Das L.J., Satyanarayana M.L., Hegde N.R., Rahman S.A. Application and comparative evaluation of fluorescent antibody, immunohistochemistry and reverse transcription polymerase chain reaction tests for the detection of rabies virus antigen or nucleic acid in brain samples of animals suspected of rabies in India. *Vet. Sci.*

diagnosis of two cases of rabies in patients from the Astrakhan region]. In: [Molecular Diagnostics – 2014: Proceedings of the VIII All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation]. Moscow; 2014. P. 453–4.

25. Devyatkin A.A., Bekova M.V., Dedkov V.G., Poleshchuk E.M., Shipulin G.A. [Characteristic of a kit of reagents for detecting RNA of rabies virus (rabies virus) by real-time polymerase chain reaction (PCR) “Amplisens® RABV-FL”]. *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2014; 4(1):61–2.

26. Dedkov V.G., Deviatkin A.A., Poleshchuk E.M., Safonova M.V., Blinova E.A., Shchelkanov M.Yu., Sidorov G.N., Simonova E.G., Shipulin G.A. Development and evaluation of a RT-qPCR assay for fast and sensitive rabies diagnosis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2018; 90(1):18–25. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2017.09.009.

27. Onishchenko G.G., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Pakskina N.D., Pistsov M.N., Rubtsov V.V., Surovyatkin A.V., Petrov A.A., Kazantsev A.V., Berezhnoy A.M., Zverev A.Yu., Manoshkin A.V., Krotkov V.T., Kutaev D.A., Maksimov V.A., Kuznetsov S.L., Vakhnov E.Yu., Timofeev M.A., Movsesyants A.A., Borisevich S.V. [Epidemiological situation of and Problems of identification of Rabies Virus in Humans in the Territory of the Russian Federation During the Period of 2002–2015]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; 3:27–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-3-27-32.

28. Dedkov V.G., Lukashev A.N., Deviatkin A.A., Kuleshov K.V., Safonova M.V., Poleshchuk E.M., Drexler G.F., Shipulin G.A. Retrospective diagnosis of two rabies cases in humans by high throughput sequencing. *J. Clin. Virol.* 2016; 78:74–81. DOI: 10.1016/j.jcv.2016.03.012.

29. Zaykova O.N., Grebennikova T.V., Gulyukin A.M., Shabeykin A.A., Polyakova I.V., Metlin A.E. [Molecular-genetic characterization of the field isolates of rabies virus identified in the territory of Vladimir, Moscow, Tver, Nizhny Novgorod and Ryazan regions]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2017; 62(3):101–8. DOI: 10.18821/0507-4088-2017-62-3-101-108.

30. Poleshchuk E.M., Sidorov G.N., Gribencha S.V. [A summary of the data about antigenic and genetic diversity of rabies virus circulating in the terrestrial mammals in Russia]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2013; 58(3):9–16.

31. Zaykova O.N., Grebennikova T.V., Elakov A.L., Kochergin-Nikitsky K.S., Aliper T.I., Chuchalin S.F., Gulyukin A.M. [Molecular-genetic characterization of genomes of rabies virus iso-

lates circulating in the Kirov Region]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2016; 61(4):186–92. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-4-186-192.

32. Onishchenko G.G., Vasil'ev N.T., Maksimov V.A., Markov V.I., Borisevich I.V., Fedorov Yu.M. [Center for Special Laboratory Diagnostics and Treatment of Particularly Dangerous and Exotic Infectious Diseases as an element of anti-epidemic protection system in the territory of the Russian Federation]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2001; 6:114–5.

33. Onishchenko G.G., Vasil'ev N.T., Maksimov V.A., Markov V.I., Merkulov V.A., Pistsov M.N., Berezhnoy A.M., Syromyatnikova S.I., Zybov V.V. [Isolation and identification of the causative agent of severe acute respiratory syndrome (SARS) from a patient with atypical pneumonia]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2003; 5:109–12.

34. Onishchenko G.G., Vasil'ev N.T., Maksimov V.A., Pistsov M.N., Stepanov N.N., Borisevich S.V., Ruchko S.V., Evstigneev O.V., Khamitov R.A., Zverev A.Yu., Merkulov V.A., Ionov S.N., Markov V.I., Movsesyants A.A. [Identification of “street” rabies virus in bioassays of the brain tissues of a deceased child]. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie [Biopreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]*. 2009; 1-2(33-34):37–40.

Authors:

Borisevich S.V., Pistsov M.N., Rubtsov V.V., Kutaev D.A., Surovyatkin A.V., Berezhnoy A.M., Petrov A.A., Kazantsev A.V., Zverev A.Yu., Manoshkin A.V., Krotkov V.T., Sakharov R.V., Chukhraya O.V., Khmurenko S.N., Savenko S.V., Poyarkov A.Yu. 48 Central Scientific-Research Institute. 11, Oktyabrskaya St., Sergiev Posad-6, 141306, Russian Federation. E-mail 48cnii@mil.ru.

Об авторах:

Борисевич С.В., Писцов М.Н., Рубцов В.В., Кутаев Д.А., Суровяткин А.В., Бережной А.М., Петров А.А., Казанцев А.В., Зверев А.Ю., Маношкин А.В., Кротков В.Т., Сахаров Р.В., Чухраля О.В., Хмуренко С.Н., Савенко С.В., Поярков А.Ю. 48 Центральный научно-исследовательский институт. Российская Федерация, 141306, Московская область, г. Сергиев Посад-6, ул. Октябрьская, 11. E-mail: 48cnii@mil.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-16-23

УДК 616.98:579.61-069.4

И.В. Грачева, А.В. Осин, В.В. Кутырев

ПРИНЦИПЫ ФОРМИРОВАНИЯ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ФОНДОВ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ

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

Целью работы является рассмотрение принципов и критериев формирования фондов сервисных микробиологических коллекций и специализированной Государственной коллекции патогенных бактерий (ГКПБ) ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Быстрые темпы описания, изучения, использования микробного разнообразия делают актуальной задачу разработки критериев отбора микроорганизмов для постоянного хранения в коллекциях. Количество и форма этих критериев определяются задачами, стоящими перед коллекционными центрами разного уровня и специализации. Сервисные коллекции формируют свои фонды посредством депонирования или приобретения типовых, референтных, учебных штаммов. В последние годы признана целесообразность расширения спектра штаммов, депонирование которых желательно в сервисных коллекциях. Это штаммы, характеризующиеся филогенетической, геномной, метаболической, экологической уникальностью; с полностью секвенированным геномом; известные и новые патогены растений, животных и человека, вызвавшие вспышки заболеваний; использованные в международных исследовательских проектах; имеющие биотехнологическое и экономическое значение. Главная задача ГКПБ как специализированной государственной коллекции патогенных бактерий I–II групп состоит в сохранении штаммов, характеризующих внутривидовое разнообразие и популяции патогенов, циркулирующих в природных очагах или на определенных территориях Российской Федерации, выделенные в период эпизоотий, локальных или эпидемических вспышек. Критериями отбора штаммов для постоянного хранения являются их экологические, фенотипические, генетические особенности. Сохранение такой коллекции важно для будущих исследований с использованием новых технологий и прослеживания эволюции патогенных бактерий – возбудителей особо опасных инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: коллекционные фонды, критерии депонирования, сервисные коллекции, специализированные коллекции, патогенные бактерии, типовой штамм, референтный штамм.

Корреспондирующий автор: Грачева Ирина Васильевна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Грачева И.В., Осин А.В., Кутырев В.В. Принципы формирования коллекционных фондов штаммов микроорганизмов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 2:16–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-16-23

Поступила 22.12.2020. Принята к публ. 01.02.2021.

I.V. Gracheva, A.V. Osin, V.V. Kutyrev

Principles of Formation of Collection Funds of Microorganism Strains

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

Abstract. The aim of the review was to consider the principles and criteria for the formation of funds of service microbiological collections and the specialized State collection of pathogenic bacteria (SCPБ) at the RusRAPI “Microbe”. The rapid pace of characterization, study, and use of microbial diversity makes the development of criteria for the selection of microorganisms for permanent storage in collections particularly relevant. The number and format of these criteria are determined by the tasks the collection centers of different levels and specialization are facing. Service collections form their funds by depositing or acquiring type, reference, educational strains. In recent years, the practicability of expanding the range of strains, the deposition of which is desirable in service collections, has been recognized. These are strains characterized by phylogenetic, genomic, metabolic, ecological uniqueness; with a fully sequenced genome; known and emerging plant, animal and human pathogens that caused disease outbreaks; used in international research projects; having biotechnological and economic significance. The main task of the SCPБ as a specialized state collection of pathogenic bacteria of groups I–II is to preserve strains characterizing the intraspecific diversity and populations of pathogens circulating in natural foci or in certain territories of the Russian Federation, isolated during epizootics, local or epidemic outbreaks. The selection criteria for strains for permanent storage are their ecological, phenotypic, and genetic peculiarities. The preservation of such a collection is important for future research using new technologies and tracking the evolution of pathogenic bacteria – causative agents of particularly dangerous infectious diseases.

Key words: collection funds, deposit criteria, service collections, specialized collections, pathogenic bacteria, type strain, reference strain.

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

Corresponding author: Irina V. Gracheva, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Gracheva I.V., Osin A.V., Kutyrev V.V. Principles of Formation of Collection Funds of Microorganism Strains. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; 2:16–23. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-16-23

Received 22.12.2020. Revised Accepted 01.02.2021.

Gracheva I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6757-6977>

Osin A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5308-0022>

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

Основной задачей коллекционных центров, осуществляющих деятельность в области использования микроорганизмов, является формирование коллекционного фонда на основе включения в него штаммов, целевой состав которых определяется в зависимости от выполняемых этим центром функций.

В Международном центре данных по микроорганизмам (WDCM) на декабрь 2020 г. зарегистрировано 802 микробиологические коллекции, в которых поддерживается 3272954 штамма прокариот, из них более 1429816 штаммов бактерий и архей [1]. Общее число коллекций и поддерживаемых в них микроорганизмов значительно больше. Ежегодно культуры известных и новых видов микроорганизмов выделяют при выполнении диагностических и исследовательских работ, новые штаммы создают в лабораториях. Лишь часть выделяемых культур оставляется на постоянное хранение в коллекциях в виде штаммов. Вместе с тем только 47 крупнейших коллекций мира ежегодно включают в свои фонды около 20 тыс. новых штаммов [2].

Быстрые темпы описания и изучения микробного разнообразия делают актуальной задачу разработки критериев отбора микроорганизмов для постоянного хранения в коллекционных центрах. Критерии отбора определяются поставленными перед конкретной коллекцией задачами, интересами и запросами ее пользователей, требованиями редакций научных журналов, зависят от типа коллекции и специализации. Следование этим критериям позволяет избежать перегрузки фондов и сосредоточиться на работе по сохранению жизнеспособности и аутентичности наиболее важных и востребованных штаммов.

Функционирующие в мире коллекции очень гетерогенны. Некоторые коллекции поддерживают ограниченное количество штаммов большинства известных видов, в основном типовых, референтных, контрольных, востребованных в таксономических и других научных работах, диагностических исследованиях, учебных программах. Например, в Американской коллекции типовых культур поддерживается более 18 тыс. бактериальных штаммов, относящихся к 750 родам, из них 3600 типовых [3]. Открытый каталожный фонд крупнейшей российской сервисной коллекции – Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКМ) – содержит более 7500 штаммов, из них более 2500 типовых [4]. Такие коллекции относят к категории сервисных или общественных. Многие коллекции этой группы в последние годы преобразованы в многофункциональные биологические ресурсные центры (БРЦ).

В специализированных коллекциях поддерживается большое количество штаммов ограниченного числа видов. Перед ними ставится задача сохранения внутривидового разнообразия определенных видов или групп микроорганизмов (бактерии, грибы), например имеющих сельскохозяйственное, медицинское, ветеринарное значение, морские, почвенные микроорганизмы.

Целью работы является рассмотрение принципов и критериев формирования фондов сервисных микробиологических коллекций и специализированной Государственной коллекции патогенных бактерий (ГКПБ) ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб».

Вначале хотелось бы остановиться на специфической терминологии, которая часто используется при рассмотрении классификации штаммов коллекционных фондов с точки зрения их целевого использования и назначения. Ряд этих бактериологических терминов, используемых в научной литературе, могут неоднозначно трактоваться в разных работах, что затрудняет восприятие материала, а иногда, из-за некорректных формулировок, дает ложное представление об описываемом предмете. Все это указывает на необходимость конкретизировать некоторые термины, используемые в работе, относящиеся к определению «штамм» как единицы хранения в бактериологических коллекциях.

Под термином «штамм» понимают потомков чистой бактериальной культуры, выделенной из определенного объекта в определенное время [5].

Однозначное и четкое определение термина «типовой штамм» дано в Кодексе номенклатуры прокариот – своде правил по составлению, предложению и использованию научных названий видов прокариот [6]. Согласно Кодексу типовой штамм – это штамм или один из штаммов, на основании которого исследователь описал новый вид микроорганизма. Типовой штамм может не обладать типичными для вида свойствами, он является номенклатурным типом вида, т.е. элементом таксона, с которым постоянно связано название вида. Если какие-либо штаммы, первоначально включенные в один вид, в дальнейшем будут выделены в новый, то старое видовое название сохраняется за типовым штаммом и родственными ему.

Если штамм, на котором основано первоначальное описание вида, утрачен или не может быть найден, предлагается неотиповой штамм, обладающий свойствами, максимально сходными с таковыми типового штамма. Некоторые виды бактерий были описаны на основании морфологических особенностей клетки без выделения чистой культуры. Например, холерный вибрион описан F. Pacini в 1854 г. в период III пандемии холеры [7]. Только в 1965 г. Юридическая комиссия Международного комитета бактериологической номенклатуры опубликовала таксономическое мнение № 31, согласно которому штамм классического биовара *V. cholerae* NCNC 8021 Национальной коллекции типовых культур (номер штамма в Американской коллекции типовых культур ATCC 14035) обозначен в качестве неотипового вида *Vibrio cholerae* Pacini 1854 [8].

Референтный штамм – это штамм, предлагаемый в качестве образца сравнения для таксономических, диагностических или иных исследований [6]. В отечественной литературе часто встречается термин «эталонный штамм» (reference strain), которым

обозначают образец для сравнения и который является синонимом понятия «референтный».

Термином «тест-штаммы» чаще всего обозначают штаммы для оценки качества питательных сред, иногда их называют контрольными. Как и референтные, контрольные штаммы хорошо охарактеризованы по свойствам, поддерживаются в коллекциях методами долгосрочного хранения. Они используются при проведении контроля качества лабораторных исследований, включающего комплекс мероприятий, в том числе определение качества питательных сред, препаратов, подтверждение правильности лабораторных методов, интерпретации результатов исследований и других работ, требующих стандартизации.

Референтные, контрольные, тест-штаммы – это штаммы с известными свойствами, обладающие комплексом признаков, позволяющих рекомендовать их для использования в тех или иных процедурах контроля в качестве микробиологических стандартов. Несмотря на некоторые различия в трактовках, эти термины чаще всего являются взаимозаменяемыми [9]. Референтные штаммы должны быть получены из надежных источников – специализированных коллекций. Получение штамма из коллекции гарантирует, что он поддерживается адекватными методами и прошел проверку подлинности, являющуюся частью стандартных операционных процедур коллекции.

Критерии депонирования штаммов микроорганизмов в общественных коллекциях и БРЦ. Коллекционные фонды формируются посредством обмена, покупки штаммов в других коллекциях, передачи фондов «исчезающих» коллекций, депонирования, собственных исследовательских работ. Анализ результатов анкетирования 119 сервисных коллекций, приведенный в работе T. Dedeurwaerdere, показал, что в среднем 20 % образцов, включаемых в фонд, коллекции получают из других аналогичных организаций [10]. Это в основном типовые, референтные штаммы, наиболее востребованные пользователями коллекций. По оценкам экспертов, один и тот же типовой штамм поддерживается в трех различных коллекциях [2, 10]. Согласно каталогу референтных штаммов, используемых в пищевой и санитарной микробиологии, размещенному на сайте WDCM, и другим информационным ресурсам, для референтных и некоторых типовых штаммов этот показатель существенно выше [11, 12]. Культуры одного штамма в разных коллекциях считаются эквивалентными, и коллекционный обмен позволяет исследователям разных стран использовать в таксономических, диагностических и экспериментальных работах аутентичные образцы микроорганизмов.

До 45 % включаемых в фонд штаммов собираются усилиями сотрудников коллекций, более 30 % составляют депозиты исследователей университетских, госпитальных и иных лабораторий и коллекций, связанные, как правило, с публикациями науч-

ных статей [10]. Этот материал, в основном, является уникальным и не дублируется в других коллекциях.

Таким образом, депонирование является важным источником формирования фондов сервисных коллекций. Под депонированием в данной работе мы понимаем передачу в коллекцию образцов штаммов в соответствии с установленной процедурой и сохранением авторских прав. В случае депонирования для открытого доступа (хранение) депозитор передает штамм в доверительное управление коллекции, которая получает право на его хранение, репликацию, изучение и перераспределение [13].

Все сервисные коллекции принимают на хранение типовые штаммы. В прокариотической систематике сложилась уникальная система предложения новых видов, важнейшим элементом которой является депонирование типовых штаммов в сервисных коллекциях и БРЦ. С 2001 г. депонирование типовых штаммов новых прокариотических видов в двух международно признанных общественных коллекциях или БРЦ, находящихся в разных странах и входящих во Всемирную федерацию коллекций культур, является обязательной составляющей процедуры валидации их научных названий [14, 15].

Вторая группа штаммов, депонирование которых в коллекциях обязательно, – это штаммы, необходимые для осуществления изобретений (патентное депонирование). В случае патентного депонирования обязательства коллекции по хранению, предоставлению образцов штаммов и информации о них строго регулируются патентным законодательством. Что касается критериев, предъявляемых к штаммам для патентного депонирования, то они определяются общепринятыми правилами, обязывающими коллекцию, имеющую статус национального или международного депозитария, принять на патентное депонирование любой микроорганизм, соответствующий ее профилю [16].

Для других категорий микроорганизмов депонирование не является обязательным. Исследователям лишь рекомендовано передавать в коллекции для постоянного хранения штаммы, на которых выполнены научные исследования, чтобы другие могли их подтвердить, опровергнуть, повторить или расширить с помощью новых технологий. Депонирование является наиболее надежным механизмом доступа к микроорганизмам.

В 2001 г. N. Ward *et al.* рекомендовали стандарты для научного сообщества в связи с реализацией проектов по полногеномному секвенированию микроорганизмов [17]. В частности, депозиторы полногеномных нуклеотидных последовательностей должны указывать номер штамма и коллекцию, из которой он получен. Если штамм находится в собственности депозитора, его необходимо, по аналогии с типовыми штаммами, депонировать в двух известных коллекциях со стабильным и устойчивым финансированием. Депонирование позволяет связать известные геномные последовательности с конкретным штаммом

микроорганизма.

В последние годы обсуждался вопрос о расширении спектра штаммов, депонирование которых желательно в сервисных коллекциях [18, 19]. По данным Т. Coenye и Р. Vandamme, на 2004 г. только 55,5 % бактериальных штаммов, геном которых полностью секвенирован, можно получить из коллекций [20]. Согласно исследованию Е. Stackebrandt, из 22200 штаммов прокариот, описанных в статьях восьми европейских микробиологических журналов в 2008 г., менее 1 % переданы на хранение в коллекции [18].

Публичные обсуждения сложившейся ситуации позволили прийти к соглашению, что депонирование в сервисных коллекциях всех нетиповых штаммов, описанных в научных работах, часто обладающих однотипными свойствами, нецелесообразно и коллекции не готовы к их принятию [19]. Вместе с тем большинство опрошенных микробиологов считают, что необходимо улучшить доступ к микробным ресурсам, описанным в научных публикациях, например, сделав депонирование «ключевых» штаммов частью процесса публикации статей. Кроме того, депонирование в коллекциях только типовых штаммов недостаточно для решения задачи сохранения естественного микробного разнообразия, учитывая внутривидовую гетерогенность и изменчивость микроорганизмов.

Результатом совместного обсуждения кураторами коллекций, исследователями, редакторами научных журналов данной проблемы стали критерии «ключевых» штаммов, депонирование которых в сервисных коллекциях желательно [2, 19]. Для прокариот это:

- филогенетически уникальные изоляты, сходство генов 16S rRNA которых с наиболее близкими видами ≤ 98 %;
- штаммы с полностью секвенированным геномом;
- штаммы, отличающиеся от типового штамма вида фенотипическими, экологическими характеристиками или размером генома;
- референтные и тест-штаммы;
- использованные в крупномасштабных международных исследованиях;
- известные патогены, вызвавшие вспышки;
- штаммы, ассоциируемые с новыми заболеваниями человека, животных, растений;
- штаммы, выделенные из новых объектов окружающей среды или из источников с экстремальными условиями;
- представители видов, для которых известен только типовой штамм.

По экспертным оценкам, около 5 тыс. штаммов из числа ежегодно выделяемых будут соответствовать хотя бы одному из вышеуказанных критериев и, соответственно, должны быть депонированы в коллекциях [2].

Среди других критериев, которым должен соот-

ветствовать депозит, коллекции указывают использование его в национальных или международных процедурах контроля, важных исследовательских проектах, биотехнологическое, экономическое значение, описание в публикациях и наличие большого объема научной информации, необходимость для текущих исследований коллекции и другие [21–23].

Перечень и количество штаммов для депонирования – это всегда предмет обсуждения депозитора и кураторов коллекции. Критерии «ключевых» штаммов полезны для определения приоритетов приобретения коллекциями новых депозитов для постоянного хранения. Критерии могут меняться в связи с расширением представлений о микробном разнообразии. Кроме того, проблемные вопросы, с которыми сталкиваются коллекции в своей работе, должны решаться в соответствии с требованиями современной биотехнологии и науки.

Сегодня микроорганизмы являются основой биотехнологических производств, и отдельные природные штаммы имеют потенциальную экономическую ценность. Эксперты считают, что потенциальные продуценты новых биологически активных соединений для разных отраслей биотехнологической промышленности могут быть выявлены среди представителей недостаточно исследованных филумов, наименее представленных в коллекциях. Чтобы стимулировать исследователей передавать в коллекцию штаммы с потенциальной коммерческой ценностью и гарантировать защиту их коммерческих и некоммерческих интересов в будущем, предлагается разделить депонирование микроорганизмов для научных целей и коммерческого использования [2]. В случае депонирования для научных целей образцы штаммов и информация о них должны быть доступны для государственных, исследовательских, коммерческих организаций без ограничений. Депонирование штаммов для коммерческих исследований может осуществляться в специализированных закрытых коллекциях с особыми условиями доступа к материалу и информации для лиц и организаций, занимающихся поиском штаммов с биотехнологическим потенциалом.

Принципы и критерии отбора штаммов для включения в фонд Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Государственная коллекция патогенных бактерий (ранее музей живых культур) относится к категории специализированных коллекций. ГКПБ создана в 1955 г. как подразделение научно-исследовательского противочумного института «Микроб» с целью сбора и сохранения природного генофонда бактерий I–II групп патогенности.

Коллекционный фонд ГКПБ формируется посредством депонирования, включения штаммов, выделенных специализированными лабораториями, проводящими на территории РФ мониторинговые исследования на наличие патогенных бактерий I–II групп, межколлекционного обмена штаммами.

ГКПБ осуществляет депонирование бактерий I–II групп патогенности по формам «авторское» и «патентное». Депонированные штаммы составляют 10–12 % (в зависимости от вида) от общего коллекционного фонда. Незначительный вклад депозитов в формирование коллекционного фонда связан с действующей в Российской Федерации нормативной базой, регулирующей обращение высокопатогенных для человека микроорганизмов и определяющей практическую деятельность коллекций, порядок взаимодействия диагностических лабораторий, коллекций и исследователей (приказ Роспотребнадзора от 01.12.2017 № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации»). Коллекционные штаммы, первоначально охарактеризованные по диагностическим признакам, составляют материальную базу исследований в профильных лабораториях с использованием методов, не применяющихся на этапах диагностики. Даже если у коллекционного штамма в результате исследований выявлены ранее неизвестные или уникальные свойства, его депонирование в коллекции не имеет практического смысла.

Основным источником формирования коллекционного фонда ГКПБ являются культуры возбудителей чумы, холеры, туляремии, сибирской язвы, бруцеллеза, выделенные специализированными диагностическими лабораториями и поступающие в коллекцию в соответствии с вышеуказанным приказом. Несмотря на то, что внутривидовое разнообразие патогенных видов, включая бактерии I–II групп, хорошо представлено в коллекциях, задача ГКПБ как специализированной коллекции состоит в сохранении штаммов, выделенных в период зарегистрированных на территории Российской Федерации эпизоотий, вспышек, даже если в предыдущие годы были выделены аналогичные по свойствам культуры. С другой стороны, перед коллекцией не ставилась задача постоянного хранения всех выделенных культур. Необходимо сохранить минимальный, но репрезентативный набор штаммов, характеризующих популяцию патогена, вызвавшую локальную или эпидемическую вспышку, эпизоотию.

Первые критерии отбора штаммов чумного микроба и холерного вибриона для включения в коллекцию были разработаны к 1977 г. по результатам совещания работников музеев живых культур противочумной системы после вспышек холеры заносного характера в Поволжье и на Украине, в течение которых выделено несколько тысяч штаммов. На основании этих критериев сформирована основная часть коллекционного фонда. Следует отметить, что коллекционный фонд ГКПБ, как и коллекций других противочумных институтов, изначально формировался по территориальному признаку и сегодня в значительной степени представлен штаммами, выделенными на курируемых территориях.

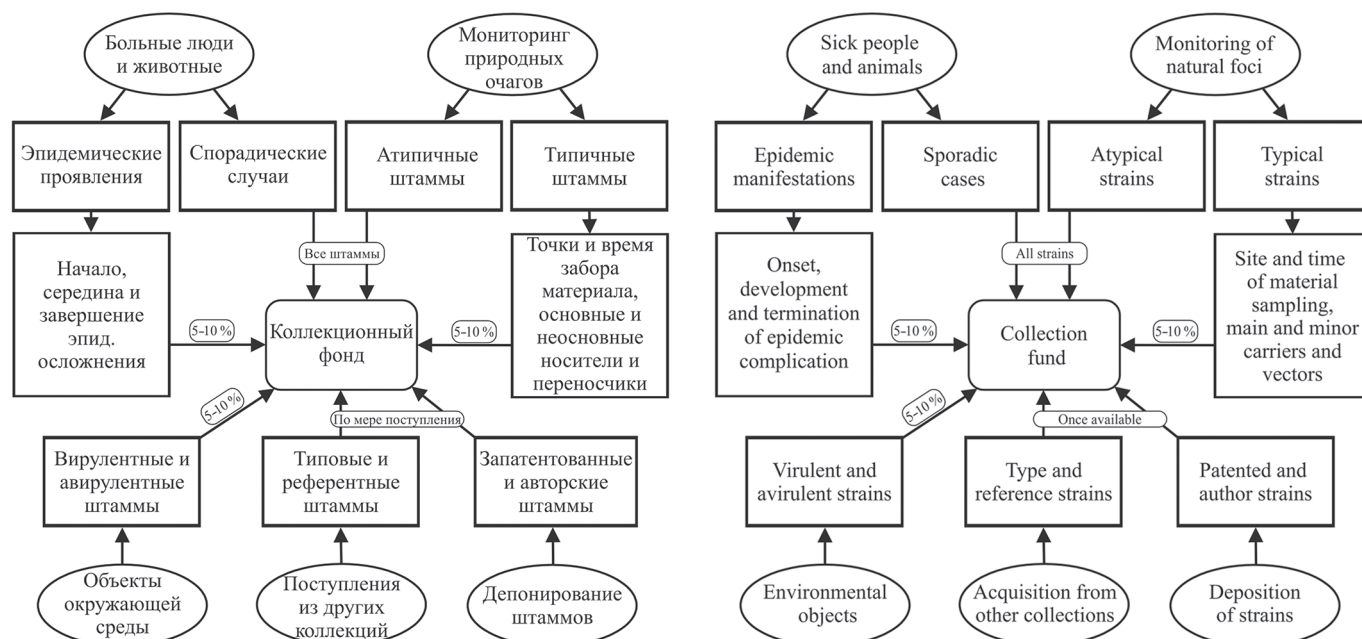
Сформулировать универсальные критерии отбо-

ра штаммов для постоянного хранения в коллекции, учитывающие все возможные ситуации, сложно. Поэтому они периодически пересматриваются при сохранении базовых позиций.

Выбор штаммов для включения в коллекционный фонд проводится на основании анализа экологических особенностей (место, время, объект выделения), фено- и генотипических диагностических свойств, внесенных в паспорт. Использование дополнительных характеристик, выходящих за рамки базовых диагностических, всегда повышает репрезентативность выборки штаммов, закладываемой на постоянное хранение. Это определяет постоянную актуальность задачи выбора уже разработанных современных методов исследования в качестве скрининговых (общих или индивидуальных для каждого вида) для отбора штаммов в коллекционный фонд. Использование дополнительных тестов особенно важно для штаммов, выделенных при плановых мониторинговых обследованиях территорий, когда циркулирующая популяция патогенного микроорганизма может быть неоднородной, в отличие от вспышек, при которых все изоляты, как правило, имеют клональное происхождение.

Общие принципы отбора штаммов для постоянного хранения в ГКПБ представлены на рисунке. Из штаммов, выделенных в период эпидемических или локальных вспышек, эпизоотий, выбирают образцы, характеризующие начало, середину и конец эпидемии или эпизоотии, выделенные из разных источников (больные, основные и неосновные носители, переносчики, окружающая среда), отличающиеся географической локализацией мест их выделения. Отбирают штаммы с типичными для данной вспышки или природного очага характеристиками и отличающиеся по свойствам от большинства штаммов. Как правило, культуры, выделенные в период одной вспышки или эпизоотии, имеют клональное происхождение. Тем не менее сохраняют несколько штаммов с разной экологической характеристикой, даже если их свойства однотипны. Использование новых технологий в будущем может выявить гетерогенность популяции, ранее считающейся однородной. Общее количество вводимых в фонд штаммов зависит от их количества и свойств, длительности вспышки. При единичных случаях заболевания людей или животных сохраняют, как правило, все выделенные штаммы.

Ежегодно на территории Российской Федерации проводят мониторинговые исследования природных очагов, объектов окружающей среды на наличие возбудителей инфекционных заболеваний I–II групп. При бактериологических исследованиях воды открытых водоемов на наличие возбудителя холеры, как правило, выделяют нетоксигенных представителей вида *Vibrio cholerae*, которые считаются естественными обитателями водных экосистем. Хотя нетоксигенные штаммы не способны вызывать типичную холеру с эпидемическим характером рас-



Алгоритм формирования коллекционного фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»

Algorithm for the formation of the collection fund of the State collection of pathogenic bacteria at the RusRAPI "Microbe"

пространения, они характеризуют внутривидовое разнообразие холерных вибрионов и востребованы в научных исследованиях. При поступлении в коллекцию единичных культур с территорий с периодичным выделением представителей вида *V. cholerae* все они включаются в коллекционный фонд. В случае выделения большого количества штаммов на территориях с ежегодной изоляцией холерных вибрионов, оставляют по 3–5 штаммов, отличающихся географической локализацией, временем выделения и свойствами.

Коллекционный фонд, сформированный на основании указанных критериев, дает представление об особенностях циркуляции патогенных видов бактерий I–II групп в период вспышек, эпизоотий на определенной территории, их свойствах, а также позволяет оценить эволюционные тенденции в развитии популяций поддерживаемых видов бактерий. Анализ востребованности коллекционного фонда ГКПБ позволяет сделать вывод о правильности данного подхода. Лишь часть штаммов, характеризующих конкретную вспышку и отобранных для постоянного хранения, востребована при проведении научных или иных работ.

Как отмечено выше, ГКПБ осуществляет депонирование бактерий I–II групп патогенности по двум формам – «авторское» и «патентное». В первой редакции правил депонирования авторских штаммов в ГКПБ указано, что «депонированию подлежат штаммы или мутанты возбудителей особо опасных инфекций с выявленными новыми свойствами, имеющие научно-практическое или теоретическое значение, заслуживающие освещения в печати, но не представляющие предмет изобретения».

Критерии, предъявляемые к депозитам, и спектр включаемых в коллекцию штаммов меняются в связи с появлением новых приоритетных направлений научных исследований. Первые депонированные в коллекции штаммы были ауксотрофные мутанты, в том числе неидентифицированные, штаммы, устойчивые к антибиотикам, с разным набором собственных плазмид, фагов, донорные штаммы. В последнее десятилетие наблюдается тенденция увеличения среди депозитов доли генетически модифицированных, генно-инженерных штаммов, созданных, например, на основе коммерческих непатогенных штаммов и содержащих фрагменты генома бактерий I–II групп патогенности. Штаммы предлагаются в качестве референтных при проведении диагностических и научных исследований, для контроля диагностических препаратов, получения биологически активных продуктов или фрагментов ДНК патогенных бактерий. Культивирование таких штаммов, в том числе в технологических процессах, не требует соблюдения специальных условий работы с патогенными микроорганизмами.

ГКПБ принимает на депонирование штаммы, предлагаемые в качестве референтных, при проведении научных, диагностических, биотехнологических работ с бактериями I–II групп патогенности, указанные в методических документах федерального, регионального или учрежденческого уровня; обладающие ранее неизвестными или уникальными свойствами, выделенные из новых объектов или на территории, где ранее не было отмечено выделение возбудителя; продуценты биологически активных веществ, перспективные для использования в производстве иммунобиологических препаратов; вос-

требуемые в текущих исследованиях, полученные из зарубежных коллекций; бактериальные штаммы I–II групп патогенности, характеризующие эпидемические и эпизоотические проявления инфекций на всей территории Российской Федерации.

Таким образом, ГКПБ принимает на депонирование как природные, так и генетически модифицированные штаммы патогенных бактерий. Общее требование – отсутствие штамма в доступном фонде коллекции и полноценная характеристика на современном методическом уровне. Исключения могут быть сделаны для штаммов, предлагаемых в качестве референтных, если они указаны в методических или нормативных документах. В этом случае, даже если штамм поддерживается в коллекции, необходимо его депонирование, предоставление образцов и документальное подтверждение наличия у них необходимого набора признаков. Это, на наш взгляд, исключит вероятность распространения и использования, в первую очередь при диагностических работах, неаутентичного биологического материала.

Кроме того, ГКПБ имеет статус депозитария патогенных бактерий I–II групп для целей национальной патентной процедуры и принимает на патентное депонирование все штаммы, соответствующие профилю коллекции [24]. Депонирование штаммов в авторизованной коллекции является обязательным условием при подаче заявки на патент и регламентируется приказом Министерства экономического развития Российской Федерации от 25 мая 2016 г. № 316.

Подводя итог вышеизложенному, следует отметить, что современный подход к формированию коллекционного фонда ГКПБ ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» определяет достаточно четкую систему включения в свой состав штаммов, как по количественным, так и по качественным критериям (рисунк). Обеспечивается выполнение основной цели данного алгоритма, ориентированного на сохранение разнообразия выделяемых штаммов, в рамках специализированной деятельности ГКПБ, с формированием положительного экономического эффекта, который достигается путем экономии средств на осуществление процедуры долгосрочной консервации и хранения ограниченного числа из идентифицируемых в течение года микроорганизмов.

В микробиологии, в том числе медицинской, не ставится задача постоянного хранения в коллекционных центрах всех выделяемых культур микроорганизмов или созданных штаммов. Каждая коллекция определяет свои критерии для депозитов, которые зависят от ее специализации и решаемых задач. Сервисные коллекции формируют свой фонд посредством депонирования или покупки типовых, не типовых, референтных, контрольных, учебных штаммов, востребованных в таксономических и других научных исследованиях, биотехнологических, диагностических работах, учебном процессе. В последние годы признана целесообразность расширения спектра штаммов для депонирования в сервис-

ных коллекциях. Предложены критерии «ключевых» штаммов для определения приоритетов при приобретении сервисными коллекциями новых депозитов.

ГКПБ при формировании коллекционного фонда решает задачу сохранения штаммов, характеризующих внутривидовое разнообразие бактерий I–II групп патогенности, бактериальные популяции возбудителей, вызвавших эпизоотические или эпидемические проявления, природные очаги или территории в определенный промежуток времени, а также необходимых для выполнения научных или прикладных работ. Создание и сохранение такой коллекции важно для будущих исследований с использованием новых технологий, а также для прослеживания эволюции патогенных бактерий – возбудителей особо опасных инфекционных болезней.

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

Список литературы

1. Culture Collections Information Worldwide. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.wfcc.info/ccinfo> (дата обращения 02.12.2020).
2. Overmann J. Significance and future role of microbial resource centers. *Syst. Appl. Microbiol.* 2015; 38(4):258–65. DOI: 10.1016/j.syapm.2015.02.008.
3. Microbiology Collections – ATCC. [Электронный ресурс]. URL: http://www.atcc.org/en/Products/Cells_and_Microorganisms.aspx (дата обращения 02.12.2020).
4. Сайт Всероссийской коллекции микроорганизмов – ВКМ. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.vkm.ru/rus/> (дата обращения 02.12.2020).
5. Dijkshoorn L., Ursing B.M., Ursing J.B. Strain, clone and species: comments on three basic concepts of bacteriology. *J. Med. Microbiol.* 2000; 49(5):397–401. DOI: 10.1099/0022-1317-49-5-397.
6. Lapage S.P., Sneath P.H.A., Lessel E.F., Skerman V.B.D., Seeliger H.P.R., Clark W.A., editors. International code of nomenclature of bacteria: bacteriological code, 1990 Revision. Washington (DC): ASM Press; 1992.
7. Lippi D., Gotuzzo E. The greatest steps towards the discovery of *Vibrio cholerae*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20(3):191–5. DOI:10.1111/1469-0691.12390.
8. Judicial Commission of the International Committee on Bacteriological Nomenclature. Opinion 31. Conservation of *Vibrio* Pacini 1854 as a bacterial generic name, conservation of *Vibrio cholerae* Pacini 1854 as the nomenclatural type species of the bacterial genus *Vibrio*, and designation of neo-type strain of *Vibrio cholerae* Pacini. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 1965; 15(3):185–6. DOI: 10.1099/00207713-15-3-185.
9. Reference strains: How many passages are too many? *Tech. Bulletin* № 6. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.atcc.org/~media/PDFs/Technical%20Bulletins/tb06.ashx> (дата обращения 02.12.2020).
10. Dedeurwaerdere T. Global microbial commons: institutional challenges for the global exchange and distribution of microorganisms in the life sciences. *Res. Microbiol.* 2010; 161(6):414–21. DOI:10.1016/j.resmic.2010.04.012.
11. Catalogue of microorganisms. German Collection of Microorganism (GCM). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.dsmz.de/catalogues/catalogue-microorganisms.html> (дата обращения 02.12.2020).
12. Reference strain catalogue pertaining to organisms for performance testing culture media. 29th version. [Электронный ресурс]. URL: http://refs.wdcm.org/pdf/WDCM%20Catalogue%20Version_V29.pdf (дата обращения 02.12.2020).
13. Tindall B.J., Garrity G.M. Proposals to clarify how type strains are deposited and made available to the scientific community for the purpose of systematic research. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2008; 58:1987–90. DOI: 10.1099/ijs.0.2008.006155-0.
14. De Vos P., Truper H.G. Judicial Commission of the International Committee on Systematic Bacteriology. IXth International (IUMS) Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Minutes of the meetings, 14, 15 and 18 August 1999, Sydney, Australia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2000; 50(6):2239–44. DOI: 10.1099/00207713-50-6-2239.

15. Tindall B.J., Kampfer P., Euzéby J.P., Oren A. Valid publication of names of prokaryotes according to the rules of nomenclature: past history and current practice. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006; 56(Pt 11):2715–20. DOI: 10.1099/ijls.0.64780-0.
16. Будапештский договор: практический кодекс для международных органов по депонированию. *Микробиология.* 1999; 68(3):423–30.
17. Ward N., Eisen, J., Fraser C., Stackebrandt E. Sequenced strains must be saved from extinction. *Nature.* 2001; 414(6860):148. DOI: 10.1038/35102737.
18. Stackebrandt E. Deposition of microbial strains in public resource centres: safeguarding valuable resources for academic and applied research. *Res. Microbiol.* 2012; 163(8):487–9. DOI: org/10.1016/j.resmic.2012.07.003.
19. Stackebrandt E., Smith D., Casaregola S., Varese G.C., Verkleij G., Lima N., Bridge P. Deposit of microbial strains in public service collections as part of the publication process to underpin good practice in science. *SpringerPlus.* 2014; 3:208. DOI: 10.1186/2193-1801-3-208.
20. Coenye T., Vandamme P. Bacterial whole-genome sequences: minimal information and strain availability. *Microbiology (Reading).* 2004; 150(Pt 7):2017–8. DOI: 10.1099/mic.0.27307-0.
21. Accession criteria of the CBS for new deposits of microorganisms. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap22.html> (дата обращения 02.12.2020).
22. Accession criteria of the DSMZ for new deposits of microorganisms. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap23.html> (дата обращения 02.12.2020).
23. BCCM Accession criteria for new deposits of microorganisms. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap21.html> (дата обращения 02.12.2020).
24. Уткина Е.А., Гаврилова Е.Б. Депонирование микроорганизмов для целей национальной патентной процедуры. *Патенты и лицензии.* 2011; 2:34–9.
25. Culture Collections Information Worldwide. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <http://www.wfcc.info/ccinfo>.
26. Overmann J. Significance and future role of microbial resource centers. *Syst. Appl. Microbiol.* 2015; 38(4):258–65. DOI: 10.1016/j.syapm.2015.02.008.
27. Microbiology Collections - ATCC. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: http://www.atcc.org/en/Products/Cells_and_Microorganisms.aspx.
28. [WebSite of the All-Russian collection of microorganisms - ARCM]. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <http://www.vkm.ru/rus/>.
29. Dijkshoorn L., Ursing B.M., Ursing J.B. Strain, clone and species: comments on three basic concepts of bacteriology. *J. Med. Microbiol.* 2000; 49(5):397–401. DOI: 10.1099/0022-1317-49-5-397.
30. Lapage S.P., Sneath P.H.A., Lessel E.F., Skerman V.B.D., Seeliger H.P.R., Clark W.A., editors. International code of nomenclature of bacteria: bacteriological code, 1990 Revision. Washington (DC): ASM Press; 1992.
31. Lippi D., Gotuzzo E. The greatest steps towards the discovery of *Vibrio cholerae*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2014; 20(3):191–5. DOI:10.1111/1469-0691.12390.
32. Judicial Commission of the International Committee on Bacteriological Nomenclature. Opinion 31. Conservation of *Vibrio* Pacini 1854 as a bacterial generic name, conservation of *Vibrio cholerae* Pacini 1854 as the nomenclatural type species of the bacterial genus *Vibrio*, and designation of neo-type strain of *Vibrio cholerae* Pacini. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 1965; 15(3):185–6. DOI: 10.1099/00207713-15-3-185.
33. Reference strains: How many passages are too many? *Tech. Bulletin No. 6.* (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <https://www.atcc.org/~media/PDFs/Technical%20Bulletins/tb06.ashx>.
34. Dedeurwaerdere T. Global microbial commons: institutional challenges for the global exchange and distribution of microorganisms in the life sciences. *Res. Microbiol.* 2010; 161(6):414–21. DOI:10.1016/j.resmic.2010.04.012.
35. Catalog of microorganisms. German Collection of Microorganism (GCM). (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <https://www.dsmz.de/catalogues/catalogue-microorganisms.html>.
36. Reference strain catalog pertaining to organisms for performance testing culture media. 29th version. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: http://refs.wdcm.org/pdf/WDCM%20Catalogue%20Version_V29.pdf.
37. Tindall B.J., Garrity G.M. Proposals to clarify how type strains are deposited and made available to the scientific community for the purpose of systematic research. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2008; 58:1987–90. DOI: 10.1099/ijls.0.2008/006155-0.
38. De Vos P., Truper H.G. Judicial Commission of the International Committee on Systematic Bacteriology. IXth International (IUMS) Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Minutes of the meetings, 14, 15 and 18 August 1999, Sydney, Australia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2000; 50(6):2239–44. DOI: 10.1099/00207713-50-6-2239.
39. Tindall B.J., Kampfer P., Euzéby J.P., Oren A. Valid publication of names of prokaryotes according to the rules of nomenclature: past history and current practice. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006; 56(Pt 11):2715–20. DOI: 10.1099/ijls.0.64780-0.
40. [The Budapest Treaty: Code of Practice for IDAs]. *Mikrobiologiya [Microbiology]*. 1999; 68(3):423–30.
41. Ward N., Eisen, J., Fraser C., Stackebrandt E. Sequenced strains must be saved from extinction. *Nature.* 2001; 414(6860):148. DOI: 10.1038/35102737.
42. Stackebrandt E. Deposition of microbial strains in public resource centres: safeguarding valuable resources for academic and applied research. *Res. Microbiol.* 2012; 163(8):487–9. DOI: org/10.1016/j.resmic.2012.07.003.
43. Stackebrandt E., Smith D., Casaregola S., Varese G.C., Verkleij G., Lima N., Bridge P. Deposit of microbial strains in public service collections as part of the publication process to underpin good practice in science. *SpringerPlus.* 2014; 3:208. DOI: 10.1186/2193-1801-3-208.
44. Coenye T., Vandamme P. Bacterial whole-genome sequences: minimal information and strain availability. *Microbiology (Reading).* 2004; 150(Pt 7):2017–8. DOI: 10.1099/mic.0.27307-0.
45. Accession criteria of the CBS for new deposits of microorganisms. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap22.html>.
46. Accession criteria of the DSMZ for new deposits of microorganisms. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap23.html>.
47. BCCM Accession criteria for new deposits of microorganisms. (Cited 02 Dec 2020). [Internet]. Available from: <http://www.cabri.org/guidelines/micro-organisms/M200Ap21.html>.
48. Utkina E.A., Gavrilova E.B. [Deposit of microorganisms for the purposes of national patent procedure]. *Patenty i Litsenzii. [Patents and licenses]*. 2011; 2:34–9.

Authors:

Грачева И.В., Осин А.В., Кутырев В.В. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Грачева И.В., Осин А.В., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-24-32

УДК 616.928.8

Е.И. Кривошеина¹, М.Ю. Карташов^{1,2}, Е.В. Найденова³**СОВРЕМЕННЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЖЕЛТОЙ ЛИХОРАДКИ**¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация;²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Российская Федерация;³ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Желтая лихорадка является острым инфекционным заболеванием вирусной природы, возбудитель которого передается трансмиссивным путем через укусы инфицированных комаров. Массовые эпидемии, вызванные вирусом желтой лихорадки, ежегодно отмечаются в странах Африки, Южной и Центральной Америки. Регистрируются завозные случаи и на неэндемичных территориях. В обзоре приведены имеющиеся в настоящее время литературные данные о распространении, строении и классификации вируса желтой лихорадки, выявлении его генетических вариантов в зависимости от географического распространения, а также о современных способах индикации и идентификации возбудителя в материале от больных и погибших людей. Рассматривается возможность применения вирусологических, иммуно-серологических и молекулярно-генетических методов для диагностики желтой лихорадки в разные периоды от начала болезни и при ретроспективных исследованиях. Приведены перечни диагностических препаратов отечественного и зарубежного производства для выявления маркеров возбудителей (антиген, РНК), а также специфических антител классов IgM и IgG, которые разрешены для применения на территории Российской Федерации и за рубежом. Показана актуальность дальнейшей разработки, совершенствования и внедрения в лабораторную практику наборов реагентов, позволяющих в короткие сроки, с высокой эффективностью и специфичностью обнаружить вирус желтой лихорадки в материале от больных людей, что поможет быстро установить диагноз и провести своевременные противоэпидемические мероприятия, а также определить уровень иммунной прослойки населения эндемичных регионов к возбудителю и оценить эффективность иммунизации для вакцинированного контингента.

Ключевые слова: желтая лихорадка, вирус желтой лихорадки, методы индикации и идентификации, клеточные культуры, ОТ-ПЦР, ИФА.

Корреспондирующий автор: Найденова Екатерина Владимировна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Кривошеина Е.И., Карташов М.Ю., Найденова Е.В. Современные лабораторные методы выявления возбудителя желтой лихорадки.

Проблемы особо опасных инфекций. 2021; 2:24–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-24-32

Поступила 20.05.2021. Принята к публ. 16.06.2021.

E.I. Krivosheina¹, M.Yu. Kartashov^{1,2}, E.V. Naidenova³**Advanced Laboratory Methods for Detecting Yellow Fever Pathogen**¹State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol'tovo, Novosibirsk Region, Russian Federation;²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation;³Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. Yellow fever is an acute infectious disease of viral nature, the causative agent of which is vector-borne – is transmitted through the bites of infected mosquitoes. Massive epidemics caused by the yellow fever virus are observed in the countries of Africa, South and Central America annually. Imported cases are also registered in non-endemic territories. The review presents the currently available data on the distribution, structure and classification of the yellow fever virus, the identification of its genetic variants depending on the geographical distribution, as well as modern methods of detection and identification of the pathogen in samples taken from sick and dead people. It considers the possibility of using virological, immunoserological and molecular-genetic methods for the diagnosis of yellow fever in different periods from the onset of the disease and in retrospective studies. The lists of diagnostic drugs of domestic and foreign production for the detection of agent markers (antigen, RNA), as well as specific antibodies of IgM and IgG classes, approved for use on the territory of the Russian Federation, are provided. The relevance of further development, improvement and introduction into laboratory practice of reagent kits that allow to detect the yellow fever virus in samples from sick people in a short time, with high efficiency and specificity is demonstrated. This will help to establish a diagnosis promptly and conduct timely anti-epidemic measures, as well as to determine the level of the population stratum immune to the pathogen in endemic regions and evaluate the effectiveness of immunization for the vaccinated contingent.

Key words: yellow fever, yellow fever virus, indication and identification methods, cell cultures, RT-PCR, ELISA.

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

Corresponding author: Ekaterina V. Naidenova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Krivosheina E.I., Kartashov M.Yu., Naidenova E.V. Advanced Laboratory Methods for Detecting Yellow Fever Pathogen. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; 2:24–32. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-24-32

Received 20.05.2021. Accepted 16.06.2021.

Krivosheina E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5181-0415>

Kartashov M.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7857-6822>

Naidenova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6474-3696>

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно в мире регистрируется примерно от 80 до 200 тыс. случаев желтой лихорадки (ЖЛ), из которых 30–60 тыс. заканчиваются летальным исходом, но реальную ситуацию оценить очень сложно, так как в некоторых странах в связи со сложной политической и экономической ситуацией не ведется статистика заболеваемости. Эндемичными регионами по ЖЛ признаны 47 стран, 34 из которых расположены на Африканском континенте, а 13 – в Центральной и Южной Америке. В 2015–2020 гг. о случаях заболевания сообщали медицинские организации Анголы, Демократической Республики Конго (ДРК), Уганды, Ганы, Нигерии, Сенегала, Либерии, Гвинеи, Эфиопии, Южного Судана, Кот-д’Ивуара, а также Боливии, Бразилии, Колумбии, Эквадора, Французской Гвианы, Перу и Республики Суринам [1].

В настоящее время продолжается крупнейшая вспышка ЖЛ в Бразилии (2245 лабораторно подтвержденных случаев, из которых 764 закончились летально). За последние годы завозные случаи данной инфекционной болезни регистрировали в Китае (11 заболевших) и Нидерландах (1) [2].

Цель обзора – систематизация имеющихся сведений о методах индикации и идентификации возбудителя желтой лихорадки в клиническом материале, эффективности их использования в зависимости от сроков от начала заболевания и об имеющихся диагностических препаратах отечественного и зарубежного производства.

Желтая лихорадка – острая природно-очаговая арбовирусная инфекционная болезнь с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя [1, 3–5]. Возбудителем ЖЛ является одноименный вирус – вирус желтой лихорадки (ВЖЛ), который относится к роду *Flavivirus* семейству *Flaviviridae*, как и другие известные патогены – вирусы Западного Нила, денге, Зика, японского и клещевого энцефалита. ВЖЛ содержит односпиральную, позитивную, линейную РНК и покрыт двухслойной липидной мембраной, состоящей из фосфолипидов и холестерина. Размеры сферического вириона колеблются в пределах 40–50 нм в диаметре. В состав вириона входят три структурных протеина: капсидный протеин С, мажорный оболочечный протеин Е и оболочечный протеин М. В инфицированных клетках синтезируется семь неструктурных протеинов: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B и NS5 [2, 5].

В соответствии с Санитарными правилами 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)», действующими в настоящее время на территории Российской Федерации, ВЖЛ отнесен ко II группе патогенности. ЖЛ является нозологической формой, входящей в список инфекционных (паразитарных) болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации (Приложение 1 к СП 3.4.2318-08 «Санитарная охрана

территорий Российской Федерации»), а также входит в перечень нозологий, ассоциированных с чрезвычайными ситуациями в области общественного здравоохранения, имеющими международное значение (Приложение 2 Международных медико-санитарных правил 2005 г.). Согласно Международной классификации болезней десятого пересмотра (МКБ-10) желтой лихорадке присвоен код A-95.

Основным переносчиком ВЖЛ являются комары рода *Aedes* – *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus*, которые обитают как на эндемичных по желтой лихорадке территориях (Африка и Южная Америка), так и в некоторых странах Европы. На территории Южной Америки в циркуляцию ВЖЛ включаются комары родов *Haemagogus* и *Sabethes* [6].

В настоящее время проблема распространения ВЖЛ становится актуальной и для нашей страны. Так, на территории Российской Федерации в районе г. Сочи (Краснодарский край) обнаружены местные популяции комаров *Ae. aegypti* и *Ae. albopictus* – основных переносчиков ВЖЛ [7, 8]. И после почти 40-летнего отсутствия комары вида *Ae. aegypti* вновь зарегистрированы на территории Черноморского побережья Кавказа [7]. В истории изучения желтой лихорадки есть сведения о заносе возбудителя на неэндемичные территории, где, после адаптации ВЖЛ к местным популяциям переносчиков, отмечались крупные вспышки заболевания. Такие события наблюдались в XIX и XX вв. в Лиссабоне (Португалия), Мемфисе (США) [9]. Эти данные не исключают возможность возникновения вспышки ЖЛ в пределах ареала обитания основных видов переносчиков возбудителя [10].

В 2017 г. специалистами ВОЗ разработана и запущена стратегия по ликвидации эпидемий желтой лихорадки (Eliminate Yellow fever Epidemics, EYE), которую поддерживают медицинские организации 40 стран Африки, Южной и Северной Америки, подвергающихся риску распространения данной инфекционной болезни. Цель такого партнерства – массовая вакцинация населения, проживающего в эндемичных регионах, своевременное выявление случаев ЖЛ и принятие соответствующих мер для ликвидации вспышек. По прогнозам ВОЗ, ожидается, что к 2026 г. более миллиарда человек примут участие в этой программе [11].

Инкубационный период при ЖЛ составляет от 3 до 6 дней. Во многих случаях заболевание протекает бессимптомно. При наличии клинических признаков наиболее распространенными являются: повышенная температура, мышечная и головная боль, потеря аппетита, тошнота и/или рвота. Обычно симптомы заболевания исчезают в первые 3–4 дня после начала болезни. Но в некоторых случаях в течение 24 часов развивается вторая, более тяжелая фаза заболевания – токсическая. Вновь сильно повышается температура и происходит поражение ряда внутренних органов, чаще всего печени и почек. Для этой фазы характерны потемнение мочи, боли в животе, рвота,

пожелтение кожных покровов и глазных яблок, что и определило название болезни. Часто возникают массивные желудочные кровотечения, а также кровотечения изо рта и носа. Более половины пациентов, у которых заболевание переходит в токсическую фазу, погибают на 7–10-й день [1, 3, 5].

Диагностировать желтую лихорадку клинически достаточно проблематично, т.к. ее проявления напоминают симптомы широкого спектра инфекционных заболеваний – малярии, лихорадки денге, лептоспироза, а также вирусных гепатитов [3]. В большинстве случаев решающее значение для постановки диагноза имеют результаты лабораторных исследований.

Лабораторные методы выявления возбудителя ЖЛ, как и других вирусных инфекций, основаны на обнаружении вируса или его частиц (РНК и специфических антигенов), а также исследовании динамики титра специфических антител и проводятся с использованием вирусологических, серологических и молекулярно-генетических тестов [5, 12–14].

Основным вирусологическим методом является изоляция возбудителя из проб клинического или биологического материала с последующей идентификацией. Для выделения ВЖЛ используют кровь, сыворотку крови или плазму, обогащенную эритроцитами, взятые в первые 7–10 дней после появления симптомов, в случае летального исхода – пробы внутренних органов, в основном печени, селезенки и головного мозга. В лабораторных условиях ВЖЛ культивируют на различных клеточных линиях, таких как фибробласты почек обезьян (MA-104 [15] и *Vero* [16]), клетках почек эмбрионов сирийского хомяка (ВНК) [12], а также на клетках личинок комаров видов *Aedes pseudoscutellaris* (AP-61) [17] и *Aedes albopictus* (C6/36) [6] и др.

В качестве биологической модели чаще всего используют новорожденных белых мышей, хомяков, а также нечеловекообразных обезьян, в основном макак-резусов (*Macaca mulatta*). Использование животных моделей имеет решающее значение и при изучении патогенеза ЖЛ [18].

Наличие вируса в культурах клеток и органах лабораторных животных учитывают на 4–5-й день после заражения и подтверждают с помощью электронной микроскопии, иммунофлуоресцентного анализа, иммуноферментного анализа (ИФА) для выявления антигенов и полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) [5, 12].

Молекулярное типирование выделенных вирусных изолятов проводят с использованием ОТ-ПЦР и секвенирования. Это является важным инструментом при изучении географической миграции отдельных вирусных штаммов и при прогнозировании вспышек и эпидемий ЖЛ. Предполагается, что ВЖЛ занесен на Американский континент 400 лет назад вместе с рабами из Африки [10]. Попав в страны Нового Света, где экологические условия были благоприятные, вирус закрепился в джунглевых лесах Амазонки, откуда распространился на

всю территорию Южной и Центральной Америки. При изучении штаммов ВЖЛ, циркулирующих в эндемичных регионах, идентифицированы отдельные генетические подтипы, четко связанные с географическим распределением. Филогенетический анализ показал, что вирусные последовательности из Западной Африки состояли в отдельных кладах от штаммов из Центральной и Восточной Африки. Исследования, основанные на анализе полной последовательности генома, показали, что ВЖЛ происходит из Центральной и Восточной Африки, где идентифицированы три генотипа: Ангола, Центральная/Восточная Африка и Восточная Африка, – после чего распространился на запад Африканского континента. Для стран Западной Африки определено наличие собственных генотипов ВЖЛ: Западная Африка I и II. Южноамериканские штаммы предположительно возникли в Западной Африке, затем во времена работорговли были завезены на американский континент, где адаптировались к местным видам переносчиков, широко распространились и, в результате дивергенции, образовали новые генотипы – Южная Америка I и Южная Америка II [9]. Рядом авторов показано, что количество смертельных случаев в Америке гораздо выше, чем в Африке, что, возможно, указывает на какие-либо генетические различия между этими двумя группами вирусных штаммов. Но для четкого установления существующих на настоящее время генотипов ВЖЛ и подтверждения теории их происхождения необходимы дальнейшие исследования [19].

Иммуносерологическая диагностика применяется как для определения вирусных антигенов, так и специфических антител классов IgM и IgG к возбудителю ЖЛ в сыворотках крови больных или вакцинированных лиц. На ранних стадиях заболевания, до 3–5-го дня, выявляют антиген NS1, присутствие которого в сыворотке крови больного указывает на размножение вируса ЖЛ в организме больного, а также ранние антитела – иммуноглобулины класса IgM, которые появляются в первые несколько дней от начала болезни. К 10–14-му дню от начала заболевания в крови начинают синтезироваться специфические антитела класса IgG. Успех серологической диагностики желтой лихорадки, как и большинства вирусных инфекций, зависит от специфичности реакции и соблюдения временных интервалов взятия проб крови [12].

На сегодняшний день иммуносерологические методы, которые можно использовать для диагностики ЖЛ, представлены достаточно широко: реакция нейтрализации бляшкообразования, ингибирование гемагглютинации, фиксация комплемента, метод непрямой иммунофлуоресценции антител, различные варианты иммуноферментного анализа.

Тесты нейтрализации бляшкообразования (англ. PRNT – plaque reduction neutralization test) считаются наиболее специфичными методами обнаружения антител и представляют собой так называемый «золо-

той стандарт» для дифференциальной диагностики как ЖЛ, так и всех инфекционных болезней, вызываемых флавивирусами. Несмотря на это, данный метод используют редко, так как возможны перекрестные иммунные реакции при вторичной флавивирусной инфекции, его постановка требует специального оборудования, наличия в штате квалифицированных вирусологов, а также из-за продолжительного времени, требующегося для интерпретации результатов (до 4–7 дней), что задерживает постановку окончательного диагноза [20]. Методы ингибирования гемагглютинации (англ. HI – haemagglutination inhibition) и фиксации комплемента (англ. CFT – complement fixation test) также на данный момент практически не используются при диагностике ЖЛ, так как не способны различить класс антител IgM/IgG, что не позволяет определить сроки от начала заболевания. В настоящее время наиболее распространенными методами обнаружения специфических антител классов IgM и IgG к возбудителю желтой лихорадки являются ИФА и метод непрямой иммунофлуоресценции [21].

По данным на начало 2021 г., зарегистрированные коммерческие наборы для выявления специфических антител к ВЖЛ производятся шестью компаниями: Euroimmun (Германия), Alpha Diagnostic (США), MyBioSource (США), Creative Diagnostics (США), Abbexa (Великобритания), National Institute of Health (Перу). Данные об имеющихся препаратах для иммуносерологической диагностики ЖЛ представлены в табл. 1.

В 2019 г. в зарубежной печати опубликованы результаты исследований, в которых описан способ получения и использования теста для выявления специфических белков NS1 ВЖЛ методом иммунохроматографического анализа (ИХА) с использованием моноклональных антител. Показано, что метод, основанный на принципе тонкослойной хроматографии для выявления вирусного антигена или антител к ВЖЛ в сыворотке или плазме крови человека в течение 5–10 минут без использования какого-либо дорогостоящего оборудования, позволит применять ИХА наряду с ОТ-ПЦР в качестве быстрых тестов, что ускорит процесс постановки диагноза [21].

Несмотря на то, что в медицинских учреждениях Российской Федерации возможно пройти процедуру вакцинации против желтой лихорадки живой аттенуированной вакциной производства Федерального научного центра исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М.П. Чумакова РАН (Москва, Россия), тест-системы для выявления специфических антител (IgM и IgG) к ВЖЛ и оценки эффективности иммунизации в настоящее время не производятся ни одной отечественной компанией.

Использование молекулярно-генетических методов диагностики вирусных инфекций (ОТ-ПЦР, NASBA – Nucleic Acid Sequence-Based Amplification Assay, LAMP – Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay) позволяет выявить РНК вируса в первые дни

от начала заболевания [21–24]. В связи с тем, что ВЖЛ является РНК-содержащим, перед проведением амплификации проводят реакцию обратной транскрипции. Эффективность методов генной диагностики во многом зависит от выбора оптимальных объектов для исследования и правильного забора и доставки клинического материала. Согласно рекомендациям ВОЗ, при исследовании проб от больных с подозрением на желтую лихорадку с использованием генодиагностических методов оптимальными сроками забора крови и/или сыворотки крови от пациентов являются первые дни болезни (до 5–7-го), когда вирус циркулирует в организме больного. Имеются данные о том, что РНК ВЖЛ можно обнаружить в моче и семенной жидкости больного, начиная с 10-го дня заболевания [25]. Рядом авторов показано, что вирус обнаруживали в моче у вакцинированных лиц до 21–27-го дня после вакцинации [26].

Основными генными мишенями для выявления РНК ВЖЛ являются гены, кодирующие NS1 [6, 20, 27] и NS5 белки [21, 25, 26], а также участок 5'-НТО [23–27]. Некоторые авторы указывают, что разработаны тесты, нацеленные на участки, которые включают ген NS3 белка и 3'-НТО [28], NS5-3'-НТО [29] или 5'-НТО-С [15].

По данным, полученным на начало 2021 г., в мире производится порядка 18 тест-систем (табл. 2), основанных на количественном анализе методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Из них три производятся российскими компаниями и научно-исследовательскими институтами: ЗАО «Синтол» (Москва), ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва) и ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (р.п. Кольцово, Новосибирская обл.). Все отечественные наборы реагентов прошли этапы государственных испытаний, имеют регистрационные документы и могут применяться для диагностики ЖЛ на территории нашей страны. Ни для одной из зарубежных тест-систем не получено разрешение на использование на территории Российской Федерации, и они предназначены только для научных исследований.

Также разработаны варианты для одновременного выявления РНК восьми наиболее важных с медицинской точки зрения флавивирусов: ВЖЛ, японского энцефалита, Западного Нила, энцефалита Сент-Луис и четыре типа вирусов денге – методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени [30]. Несмотря на публикации, посвященные созданию таких диагностических препаратов [31, 32], только компания Fast-Track Diagnostics (Люксембург) производит набор реагентов, позволяющий одновременно выявлять фрагменты РНК возбудителей тропических лихорадок Африки (вирусы денге, ЖЛ, Западного Нила, Чикунгунья и др.), остальные мультиплексные тест-системы можно использовать только в исследовательских целях.

В литературе имеются данные о разработке диагностических наборов, основанных на изотермиче-

Таблица 1 / Table 1

Диагностические препараты для выявления ВЖЛ иммуно-серологическими методами

Diagnostic drugs for the detection of YFV by immunoserological methods

Название набора реагентов, производитель The reagent kit, manufacturer	Уровень внедрения в диагностику ЖЛ Level of introduction in the diagnosis of YF
<i>Выявление антигена ВЖЛ методом ИФА Detection of YFV antigen using ELISA</i>	
“Human Yellow Fever Virus ELISA Kit” (MyBioSource, USA)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
<i>Выявление антител (IgM/IgG) против ВЖЛ методом ИФА Detection of antibodies (IgM / IgG) against YFV using ELISA</i>	
“Human Yellow Fever IgM (YF-IgM) ELISA Kit” (Creative Diagnostics, USA)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used only for research purposes
“Human Yellow Fever Virus IgM (or IgG) (YFV-IgM (or IgG)) ELISA Kit” (Abbexa, UK)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
“Human Anti-Yellow Fever Virus Envelop protein (YFV-Env) IgM (or IgG) ELISA kit”, 96 (Alpha Diagnostic, USA)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
“Human Anti-Yellow Fever Virus NS1 protein (YFV-NS1) IgM (or IgG) ELISA kit” (Alpha Diagnostic, USA)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used only for research purposes
“Human yellow fever virus (YFV) antibody (IgM or IgG) ELISA Kit” (MyBioSource, USA)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
“Tariki YF-ELISA (Tariki Fiebre Amarilla IgM)” (National Institute of Health, Peru)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
<i>Определение антител к ВЖЛ методом непрямой иммунофлуоресценции Determination of antibodies to YFV by indirect immunofluorescence</i>	
Набор реагентов для диагностики in vitro вирусных инфекций методом непрямой иммунофлуоресценции, вариант исполнения “Anti-Yellow fever virus IIFT (IgM/IgG)” (Euroimmun, Германия) A set of reagents for in vitro diagnostics of viral infections by the method of indirect immunofluorescence, version “Anti-Yellow fever virus IIFT (IgM/IgG)” (Euroimmun, Germany)	Зарегистрирован за рубежом и на территории РФ (№ ФСЗ 2010/07322 от 22.07.2010) Registered abroad and in the territory of the Russian Federation (No. 2010/07322 dated July 22, 2010)
Набор для дифференциальной диагностики клещевого энцефалита, лихорадки Западного Нила, японского энцефалита и желтой лихорадки методом непрямой иммунофлуоресценции, вариант исполнения “Flavivirus Mosaic 1 (IgM, IgG)” (Euroimmun, Германия) Kit for differential diagnosis of tick-borne encephalitis, West Nile fever, Japanese encephalitis and yellow fever using indirect immunofluorescence, version “Flavivirus Mosaic 1 (IgM, IgG)” (Euroimmun, Germany)	Зарегистрирован за рубежом и на территории РФ (№ ФСЗ 2010/07322 от 22.07.2010) Registered abroad and in the territory of the Russian Federation (No. 2010/07322 dated July 22, 2010)
Набор для исследования кросс-реактивности среди флавивирусов “IIFT: Flavivirus Profile 2 (IgM, IgG)” (Euroimmun, Германия) Kit for the study of cross-reactivity among flaviviruses “IIFT: Flavivirus Profile 2 (IgM, IgG)” (Euroimmun, Germany)	Зарегистрирован за рубежом и на территории РФ (№ ФСЗ 2010/07322 от 22.07.2010) Registered abroad and in the territory of the Russian Federation (No. 2010/07322 dated July 22, 2010)
Набор для исследования кросс-реактивности среди арбовирусов “Arbovirus Profile 3 (Arbovirus Profile 3 upper row: Zika virus (ZIKV), Chikungunya virus (CHIKV), Dengue virus types 1–4 (DENV), bottom row: TBE virus (TBEV), West Nile virus (WNV), Japanese encephalitis virus (JEV), Yellow fever virus (YFV)) (IgM, IgG)” (Euroimmun, Germany) Arbovirus Cross-Reactivity Kit “Arbovirus Profile 3 (Arbovirus Profile 3 upper row: Zika virus (ZIKV), Chikungunya virus (CHIKV), Dengue virus types 1–4 (DENV), bottom row: TBE virus (TBEV), West Nile virus (WNV), Japanese encephalitis virus (JEV), Yellow fever virus (YFV)) (IgM, IgG)” (Euroimmun, Germany)	Зарегистрирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Registered abroad and in the territory of the Russian Federation
Набор для дифференциальной диагностики клещевого энцефалита, лихорадки Западного Нила, японского энцефалита, желтой лихорадки и лихорадки денге “Flavivirus Mosaic 3 (IgM, IgG) (Flavivirus Mosaic 3 TBE virus (TBEV), West Nile virus (WNV), Japanese encephalitis virus (JEV) Yellow fever virus (YFV), Dengue virus types 1–4 (DENV))” (Euroimmun, Germany) Kit for differential diagnosis of tick-borne encephalitis, West Nile fever, Japanese encephalitis, yellow fever and dengue fever “Flavivirus Mosaic 3 (IgM, IgG) (Flavivirus Mosaic 3 TBE virus (TBEV), West Nile virus (WNV), Japanese encephalitis virus (JEV) Yellow fever virus (YFV), Dengue virus types 1–4 (DENV))” (Euroimmun, Germany)	Зарегистрирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Registered abroad, not registered in the Russian Federation

Таблица 2 / Table 2

Наборы реагентов, предназначенные для выявления РНК вируса желтой лихорадки

Reagent kits for the detection of RNA of the yellow fever virus

Название набора реагентов, производитель Reagent kit name, manufacturer	Уровень внедрения Degree of implementation
1	2
<i>Наборы реагентов отечественного производства Reagent kits of domestic production</i>	
Набор реагентов для качественного определения РНК вируса желтой лихорадки (Yellow fever virus, YFV) в биологическом материале (плазма крови, слюна, моча, тканевой (аутопсийный, биопсийный) материал, комары) методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации «АмплиСенс Yellow fever virus-FL» («АмплиСенс», Россия) A set of reagents for the qualitative determination of RNA of the yellow fever virus (YFV) in biological material (blood plasma, saliva, urine, tissue (autopsy, biopsy) material, mosquitoes) in PCR with hybridization-fluorescent detection of amplification products "AmpliSens Yellow fever virus-FL" (AmpliSens, Russia)	Зарегистрирован на территории РФ (РЗН 2017/6637 от 26.12.2017) Registered in the Russian Federation (2017/6637 dated December 26, 2017)
Набор реагентов для выявления и идентификации РНК вирусов денге и желтой лихорадки методом ПЦР в реальном времени «ОМ-Скрин-денге/ЖЛ-РВ» (ЗАО «Синтол», Россия) A set of reagents for RNA detection and identification of dengue and yellow fever viruses applying real-time PCR "OM-Screen-dengue/ZhL-RV" (CJSC "Syntol", Russia)	Зарегистрирован на территории РФ (РЗН 2016/4879 от 07.10.2016) Registered in the Russian Federation (2016/4879 dated October 07, 2016)
Набор реагентов для выявления кДНК вируса желтой лихорадки методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «Вектор-ПЦР-РВ-YFV» (ФБУН ГНЦ «Вектор» Роспотребнадзора, Россия) A set of reagents for the detection of cDNA of the yellow fever virus using real-time polymerase chain reaction "Vector-PCR-RV-YFV" (FBSI SSC "Vector" Rospotrebnadzor, Russia)	Зарегистрирован на территории РФ (РЗН 2017/6631) Registered in the Russian Federation (2017/6631)
<i>Наборы реагентов зарубежного производства Reagent kits of foreign production</i>	
"Yellow Fever Real Time PCR Detection Kit" (VIASURE, Spain)	Сертифицирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Certified abroad, not registered in the Russian Federation
"Yellow Fever Virus (YFV) Real Time RT-PCR Kit" (Liferiver, China)	Сертифицирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Certified abroad, not registered in the Russian Federation
"Yellow fever virus (Realtime PCR-Kit)" (Genekam, Germany)	Сертифицирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Certified abroad, not registered in the Russian Federation
"Quantification of Yellow Fever Virus genomes genesig Advanced kit" (Genesig, UK)	Сертифицирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Certified abroad, not registered in the Russian Federation
"Multiplex real-time PCR Tropical fever core (dengue virus, yellow fever virus, chikungunya virus; West Nile virus; Plasmodium spp.; Rickettsia spp.; Leptospira spp.; Salmonella spp.)" (Fast Track Diagnostics, Luxembourg)	Сертифицирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Certified abroad, not registered on the territory of the Russian Federation
"Yellow Fever Virus RT-PCR Kit 1.0" (Altona, Germany)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
"Yellow Fever Virus (YFV) Real Time RT-PCR Kit" (MyBioSource, USA)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
"Multiplex real-time PCR Ebola virus + Rift valley virus + Yellow fever virus (Realtime PCR-Kit)" (Genekam 2019, Germany)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
"Multiplex real-time PCR Zika Virus & Yellow Fever Virus (Realtime PCR-Kit)" (Genekam 2019, Germany)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
Multiplex real-time PCR Yellow Fever, Zika Virus and Chikungunya Virus (Realtime PCR-Kit)" (Genekam 2019, Germany)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
"Yellow Fever Virus genomes Advanced kit" (PCR max, UK)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
"Yellow Fever Virus RT-qPCR Kit" (ViPrimePLUS, Malaysia)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only

Окончание табл. 2 / Ending of the Table 2

1	2
“Multiplex real-time PCR (YFV + ZIKV + CHIKV)” (Fast-Track Diagnostics, Luxembourg)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
“Multiplex real-time PCR (YFV + EBOV + Rift Valley fever virus)” (Fast-Track Diagnostics, Luxembourg)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
“Multiplex real-time PCR (YFV + ZIKV)” (Fast-Track Diagnostics, Luxembourg)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only

ской амплификации (LAMP-PCR) генома ВЖЛ [27, 33–35]. К сожалению, ни один из них в данный момент не производится.

Петлевая изотермическая амплификация с обратной транскрипцией (RT-LAMP) представляет собой быстрый, чувствительный, специфичный и недорогой молекулярный подход для выявления РНК ВЖЛ. Рядом авторов показана возможность использования данного метода во время крупных вспышек в эндемичных регионах. В качестве мишени в большинстве случаев используется ген NS1, амплификация проходит в течение 30 минут в изотермических условиях. Показано, что метод RT-LAMP в данном случае позволял выявлять как вакцинный штамм YFV 17D, полученный из африканского дикого прототипного штамма (Asibi), так и природные штаммы, выделенные в Бразилии и других эндемичных странах Южной и Центральной Америки и Карибского бассейна [23].

Любая из вышеперечисленных тест-систем должна детектировать большинство геновариантов ВЖЛ и не выявлять вакцинные штаммы (если того не требует исследование).

Сравнение полногеномных последовательностей ВЖЛ, взятых из Международной базы данных GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov), и целевых нуклеотидных последовательностей, которые используются для выявления генетического материала возбудителя ЖЛ методами ОТ-ПЦР и петлевой изотермической амплификации, показало, что большинство из 14 исследованных диагностикумов не подходили для выявления многих штаммов из-за несоответствия между праймерами и/или зондами и целевым геномом и лишь 4 из них в ОТ-ПЦР в режиме реального времени обнаруживают все рассматриваемые штаммы [36]. Российская тест-система производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Москва, Россия) позволяет выявлять фрагменты РНК всех эпидемически значимых штаммов ВЖЛ, в том числе и вакцинного 17-D (в соответствии с прилагаемой инструкцией).

Таким образом, современные методы диагностики ЖЛ должны включать детекцию РНК ВЖЛ при помощи ОТ-ПЦР и/или выявление специфических антител класса IgM к ВЖЛ, используя ИФА или метод непрямой иммунофлуоресценции. Обнаружение специфических антител класса IgG к ВЖЛ методом ИФА имеет значение при ретроспективной диагно-

стике заболевания и оценке эффективности иммунизации против ВЖЛ [37]. Так, выявление специфических антител класса IgM при отсутствии недавней вакцинации против ЖЛ и отрицательного диагноза (включая антитела IgM) для других флавивирусов считается подтверждением ЖЛ. Однако более надежное подтверждение инфицирования ВЖЛ обеспечивается серологическим обнаружением вирусных антигенов, амплификацией геномных последовательностей в крови больного и, в идеале, выделением вирусного штамма на культуре клеток [12].

Но, несмотря на все вышесказанное, в большинстве эндемичных регионов Африки и Южной Америки диагностика ЖЛ лабораторными методами, как правило, не проводится из-за отсутствия условий, специального оборудования и квалифицированного персонала. Действует небольшое количество референсных лабораторий, но отправка на их базу проб клинического материала не всегда доступна из-за отдаленности и невозможности в достаточной мере обеспечить биологическую безопасность и надлежащие условия транспортировки. Все это препятствует своевременному подтверждению случаев желтой лихорадки и, следовательно, раннему обнаружению вспышек и реализации программ эпидемиологического надзора [37].

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

Список литературы

1. WHO. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/csr/don/archive/disease/yellow_fever/ru/ (дата обращения 07.06.2021).
2. Письмо Роспотребнадзора от 24.03.2021 № 02/5670-2021-32 «О профилактике желтой лихорадки». [Электронный ресурс]. URL: https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=17269 (дата обращения 12.05.2021).
3. Monath T.P. Yellow fever: an update. *Lancet Infect. Dis.* 2001; 1(1):11–20. DOI: 10.1016/S1473-3099(01)00016-0.
4. Покровский В.И., редактор. Инфекционные болезни: Руководство для врачей. М.: Медицина, 1996. 528 с.
5. Львов Д.К., редактор. Медицинская вирусология: руководство. М.: МИА, 2008. 655 с.
6. Amraoui F., Pain A., Piorkowski G., Vazeille M., Couto-Lima D., de Lamballerie X., Lourenço-de-Oliveira R., Failloux A.-B. Experimental adaptation of the yellow fever virus to the mosquito *Aedes albopictus* and potential risk of urban epidemics in Brazil, South America. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):14337. DOI: 10.1038/s41598-018-32198-4.
7. Федорова М.В., Швеиц О.Г., Юничева Ю.В., Медяник И.М., Рябова Т.Е., Отставнова А.Д. Современные границы распространения инвазивных комаров *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L., 1762) и *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1895) на юге

DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-33-40

УДК 616.921.5(470)

В.Ю. Марченко, Н.И. Гончарова, Е.В. Гаврилова, Р.А. Максютков, А.Б. Рыжиков

ОБЗОР ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ВЫСОКОПАТОГЕННОМУ ГРИППУ ПТИЦ В РОССИИ В 2020 г.*ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация*

В обзоре рассмотрена современная ситуация по высокопатогенному вирусу гриппа птиц в 2020 г. и сделан прогноз возможного дальнейшего распространения вирусов на территории России. В 2020 г. в мире отмечена циркуляция разнообразных вариантов вируса, имеющих важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение. Вспышки инфекционных заболеваний, вызванные высокопатогенными вирусами гриппа, зарегистрированы более чем в 30 странах. Помимо этого, зафиксированы случаи инфицирования людей вирусами гриппа подтипов А/Н5Nx и А/Н9N2. В России в 2020 г. зарегистрирована масштабная эпизоотия, которая затронула более десяти регионов. Вспышки заболевания среди диких и домашних птиц были вызваны высокопатогенным вариантом вируса гриппа А/Н5N8 клады 2.3.4.4b. В результате эпизоотии погибло или было уничтожено более 1,5 млн голов сельскохозяйственной птицы. Выявлено, что некоторые штаммы вируса гриппа, выделенные в России, имели высокую степень идентичности со штаммами, циркулировавшими в Европе и Юго-Восточной Азии. Таким образом, в очередной раз показано, что территория России играет важную географическую роль в глобальном распространении вируса гриппа птиц.

Ключевые слова: вирус гриппа птиц, мониторинг, эпизоотия, вспышки, H5N8, H9N2, Россия.

Корреспондирующий автор: Марченко Василий Юрьевич, e-mail: marchenko_vyu@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Марченко В.Ю., Гончарова Н.И., Гаврилова Е.В., Максютков Р.А., Рыжиков А.Б. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России в 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 2:33–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-33-40

Поступила 12.02.2021. Отправлена на доработку 22.03.2021. Принята к публ. 26.03.2021.

V.Yu. Marchenko, N.I. Goncharova, E.V. Gavrilo, R.A. Maksyutov, A.B. Ryzhikov**Overview of the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza in Russia in 2020***State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation*

Abstract. This review describes the current situation on highly pathogenic avian influenza virus in 2020 and provides forecast of the possible further spread of avian influenza in Russia. In 2020, the circulation of a wide variety of highly pathogenic avian influenza virus subtypes which have epizootiological and epidemiological significance was recorded in the world. Outbreaks of highly pathogenic avian influenza were reported in over 30 countries. Apart from this, human infections with influenza viruses of the A/H5Nx and A/H9N2 subtypes were reported. There was a large-scale epizootic in Russia in 2020, which affected more than 10 regions. Outbreaks among wild birds and poultry were caused by the highly pathogenic influenza virus A/H5N8 of clade 2.3.4.4b. As a result of those outbreaks, more than 1.5 mil. poultry were killed or perished. It was revealed that strains of the influenza virus isolated in Russia have a high degree of identity with the strains circulating in Europe and Southeast Asia. Thus, it was shown again that the territory of Russia plays an important role in the global spread of avian influenza virus.

Key words: avian influenza virus, surveillance, epizooty, outbreaks, H5N8, H9N2, Russia.

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

Corresponding author: Vasily Yu. Marchenko, e-mail: marchenko_vyu@vector.nsc.ru.

Citation: Marchenko V.Yu., Goncharova N.I., Gavrilo E.V., Maksyutov R.A., Ryzhikov A.B. Overview of the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza in Russia in 2020. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; 2:33–40. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-33-40

Received 12.02.2021. Revised 22.03.2021. Accepted 26.03.2021.

Gavrilo E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7118-5749>

Maksyutov R.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1314-281X>

Вирусы гриппа А (ВГА) в настоящее время распространены повсеместно и представляют серьезную угрозу сельскому хозяйству и общественному здравоохранению. Экология и эпидемиология вирусов гриппа А являются очень сложными процессами, в которых помимо людей участвуют различные виды диких и домашних птиц, а также различные виды млекопитающих: свиньи, лошади, собаки, летучие мыши. Помимо этого, регистрируются спорадические случаи инфекции у прочих видов млекопитающих [1].

Вирусы гриппа подразделяются на субтипы на основании антигенных различий в поверхностных гликопротеинах. На сегодняшний день известно 18 субтипов гемагглютинина и 11 субтипов нейраминидазы, при этом большинство известных комбинаций сохраняется в популяциях диких птиц, за исключением вирусов гриппа подтипов А/Н17N10 и А/Н18N11, которые выделены от летучих мышей и до настоящего времени от других видов хозяев не выделялись [2–4]. При этом во многих исследова-

ниях показано, что естественным хозяином и природным резервуаром большинства подтипов вируса гриппа А являются дикие птицы, преимущественно водоплавающие или околотовные. Полный спектр хозяев ВГА среди диких птиц неизвестен, но на основании ряда исследований выявлено, что наиболее подвержены инфицированию два отряда диких птиц – гусеобразные (Anseriformes) и ржанкообразные (Charadriiformes) [5–7].

Одной из ключевых характеристик вируса гриппа является генетическая и антигенная изменчивость, возникающая в результате сочетания сегментированного генома и высокой частоты мутаций, что обеспечивает возможность быстрого изменения и адаптации к новым хозяевам. В определенных условиях ВГА может адаптироваться к новому хозяину, в результате чего вирус эффективно реплицируется, распространяется и становится эндемичным для определенного вида [8, 9]. Другая особенность вирусов гриппа – это большое разнообразие вариантов вируса, которые могут инфицировать домашнюю птицу. При этом вирусы могут антигенно отличаться друг от друга даже в пределах одного и того же подтипа. Это связано с тем, что большинство эпидемиологически не связанных вспышек, вызванных как низкопатогенными, так и высокопатогенными вирусами гриппа, являются результатом независимого проникновения вирусов из различных резервуаров диких птиц [10, 11]. Благодаря своим генетическим особенностям вирус гриппа постоянно изменяется, приобретая уникальные мутации, что способствует формированию различных генетических линий, клад и субклад. Так, современная линия высокопатогенных вирусов гриппа А/Н5 – А/goose/Guangdong/1/1996 (H5N1) (Gs/Gd) разделена на несколько сублиний, сформированных в систему клад, основанных главным образом на различиях в аминокислотных последовательностях гена НА [12]. С момента своего первого обнаружения в 1996 г. линия Gs/Gd подверглась реассортации сегментов генома, кодирующих внутренние белки, что привело к разделению гена Н5 на десять отдельных клад. Впоследствии антигенный дрейф привел к тому, что в настоящее время уже определены клад пятого порядка. Например, циркулирующие вирусы клад 2.3.2.1 сейчас дополнительно разделены на основании различий в аминокислотных последовательностях на 2.3.2.1a, 2.3.2.1b и 2.3.2.1c и т.д. [13].

Как уже говорилось, водоплавающие птицы отрядов гусеобразные и ржанкообразные считаются естественным резервуаром ВГА [6, 14]. Заболевание, вызванное вирусами гриппа, у этих видов хозяев зачастую протекает бессимптомно [6, 15–18]. Было показано, что такое течение инфекции у перелетных птиц способствует распространению как низкопатогенных, так и высокопатогенных вирусов на большие расстояния [14, 19–21]. При этом распространение различных линий вируса гриппа птиц отмечено по определенным миграционным маршрутам [22–25]. Это подтверждено исследованиями с применением дистанционного зондирования и филогенетиче-

ского анализа, которые показали, что распространение вирусов подтипа H5N1 в Восточной Азии в 2003–2012 гг. связано с миграциями диких птиц [24]. Однако, поскольку первичным резервуаром для ВГА являются дикие птицы, конечная цель полного уничтожения вируса гриппа недостижима, а возможность появления новых и уникальных вирусов из резервуара диких птиц является постоянной угрозой.

Таким образом, очевидно, что в борьбе с данным инфекционным заболеванием необходим комплексный подход. В частности, важным является сбор и анализ информации как о циркулирующих в настоящее время и зарегистрированных ранее вариантах вируса гриппа, выявленных в популяциях диких птиц, так и о штаммах, которые вызывали вспышки заболевания среди домашних птиц. Полученные данные позволят спрогнозировать эпидемиологическую и эпизоотологическую ситуацию, оценив возможные пути распространения высокопатогенных вариантов вируса гриппа.

В данной работе представлен анализ циркуляции наиболее важных в эпизоотологическом аспекте высокопатогенных вариантов вируса гриппа птиц в России и мире за 2020 г.

Ситуация по высокопатогенному гриппу в мире. В 2020 г. в мире сохранялась неблагоприятная ситуация по заболеваемости гриппом птиц, вызванным высокопатогенными вирусными штаммами, и связанная с более широким, чем в 2019 г., распространением эпидемиологически и эпизоотологически значимых вариантов вируса. В ряде стран зафиксированы вспышки среди диких и домашних птиц, а также случаи инфицирования человека, вызванные различными вариантами вируса гриппа подтипа А/Н5 линии Gs/Gd. За истекший год более 30 стран заявили о вспышках среди дикой и домашней птицы (таблица) [26, 27]. Наиболее широкое распространение в 2020 г. имели вирусы гриппа клад 2.3.4.4. При этом основное количество вспышек среди дикой и домашней птицы было вызвано вирусами гриппа подтипа А/Н5N8 клад 2.3.4.4b и зарегистрировано во многих странах Европы, на Ближнем Востоке и в Юго-Восточной Азии. Вспышки регистрировались в течение всего года и нанесли серьезный экономический ущерб. Погибли или уничтожены в результате принятых противоэпизоотических мер миллионы голов сельскохозяйственной птицы – кур, уток, индюков [28]. Так, только за период с августа по декабрь 2020 г. в Европе зарегистрировано более 40 вспышек, в результате которых уничтожено более 2,5 млн голов птицы. Надо сказать, что за 2020 г., как и за весь период циркуляции вирусов гриппа подтипа А/Н5N8, не зарегистрировано ни одного случая заболевания человека.

Помимо широкой циркуляции вируса гриппа подтипа А/Н5N8, в некоторых странах также зарегистрирована циркуляция других представителей клад 2.3.4.4b. Так, в Великобритании, Германии, Дании, Италии, Словакии, Франции, Швеции, а также России зарегистрированы вспышки среди диких

Данные ВОЗ и ОИЕ по циркуляции вируса гриппа А/Н5 в 2020 г.
 WHO and OIE data on influenza virus A/H5 circulation in 2020

Страна Country	Хозяин Host	Генетическая линия вируса Н5 Genetic clade of H5
Бангладеш / Bangladesh	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4h (H5N6) 2.3.2.1a (H5N1)
Бельгия / Belgium	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N8)
Великобритания / Great Britain	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N2/5/N8) 2.3.4.4b (H5N8)
Венгрия / Hungary	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N8)
Вьетнам / Vietnam	с.-х. птица / poultry	2.3.2.1c (H5N1), 2.3.4.4h (H5N6), 2.3.4.4g (H5N6)
Германия / Germany	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N5/N8) 2.3.4.4b (H5N5/N8)
Гонконг / Hong Kong	дикая птица / wild birds	(H5N8)
Дания / Denmark	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N5/N8) 2.3.4.4b (H5N8)
Израиль / Israel	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N8)
Индия / India	с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8), 2.3.2.1a (H5N1)
Ирак / Iraq	с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8)
Иран / Iran	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N8)
Ирландия / Ireland	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N8)
Испания / Spain	дикая птица / wild birds	2.3.4.4b (H5N8)
Италия / Italy	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N2/3/5/8) 2.3.4.4b (H5N8)
Казахстан / Kazakhstan	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N8)
Камбоджа / Cambodia	с/х птица / poultry	2.3.2.1c (H5N1)
Китай / China	человек (1) / human case (1) с.-х. птица / poultry дикая птица / wild birds	2.3.4.4h, (H5N6), 2.3.4.4h (H5N6), 2.3.2.1f (H5N1) 2.3.4.4c (H5N2/5) 2.3.4.4h (H5N8)
Корея / Korea	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N8)
Кувейт / Kuwait	с.-х. птица / poultry	(H5N8)
Лаос / Laos	человек (1) / human case (1) с.-х. птица / poultry	2.3.2.1c (H5N1) (H5N1)
Литва / Lithuania	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	(H5N8) (H5N8)
Нидерланды / Netherlands	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N8)
Норвегия / Norway	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	(H5N8) (H5N8)
Польша / Poland	с.-х. птица / poultry дикая птица / wild birds	2.3.4.4b (H5N8/N6) 2.3.4.4b (H5N8)
Россия / Russia	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N8/N5)
Сенегал / Senegal	с.-х. птица / poultry	(H5N1)
Словакия / Slovakia	с.-х. птица / poultry	(H5N8)
Словения / Slovenia	дикая птица / wild birds	(H5N5/N8)
Тайвань / Taiwan	с.-х. птица / poultry	2.3.4.4c (H5N2/5)
Украина / Ukraine	с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8)
Филиппины / Philippines	с.-х. птица / poultry	(H5N6)
Финляндия / Finland	с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8)
Франция / France	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N5/8)
Хорватия / Croatia	с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8)
Чехия / Czech Republic	с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8)
Швеция / Sweden	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N5/8) 2.3.4.4b (H5N5/8)
Япония / Japan	дикая птица / wild birds с.-х. птица / poultry	2.3.4.4b (H5N8) 2.3.4.4b (H5N8)

и домашних птиц, вызванные вирусом гриппа подтипа А/Н5N5 [29]. Циркуляция вируса гриппа подтипа А/Н5N5, а также подтипа А/Н5N2 зарегистрирована и на Тайване, при этом случаи заболеваний были вызваны другим антигенным вариантом вируса, который относился к кладе 2.3.4.4с. Следует отметить, что оба циркулирующие на Тайване варианта вируса гриппа – А/Н5N2 и А/Н5N5 – генетически отличаются от аналогичных подтипов вируса, циркулировавших в 2020 г. в Италии и Великобритании, и формируют отдельную тайваньскую линию этих вирусов [30]. Циркуляция подобного вируса также отмечена в Китае.

В 2020 г. отмечено распространение другого варианта вируса гриппа клады 2.3.4.4. Так, во Вьетнаме, Камбодже, Бангладеш и на Филиппинах зафиксированы вспышки, вызванные вирусом гриппа А/Н5N6 генетической клады 2.3.4.4h. Территории вышеуказанных стран являются эндемичным регионом по данному варианту вируса гриппа, который циркулирует там на протяжении нескольких последних лет. Надо сказать, что в Китае в 2020 г. зафиксирована циркуляция разнообразных генетических вариантов высокопатогенного вируса гриппа А/Н5, которые в том числе являлись причиной нескольких случаев заболевания человека. Так, за последнее время в Китае зарегистрирован один новый случай заражения человека вирусом гриппа А/Н5N6 [26, 27, 31]. Всего на сегодняшний день опубликованы данные о 27 лабораторно подтвержденных случаях заболевания человека, вызванного вирусом гриппа А/Н5N6 [32]. Еще один случай заболевания человека зарегистрирован в Лаосе. Данный случай вызван вирусом гриппа подтипа А/Н5N1. Всего зарегистрировано 862 случая заражения людей вирусом гриппа подтипа А/Н5N1, 455 из которых имели летальный исход [31].

Если говорить о распространении других эпидемиологически и эпизоотологически важных подтипов вируса гриппа, то в 2020 г. не зарегистрировано ни одной вспышки среди диких или домашних птиц, вызванной вирусом гриппа подтипа А/Н7N9. Последняя вспышка зарегистрирована в марте 2019 г. в провинции Ляонин, Китай [29]. Очевидно, что это результат масштабной программы вакцинации сельскохозяйственной птицы, начатой в сентябре 2017 г., после чего регистрировались только отдельные, спорадические случаи инфицирования. Также за исследуемый период не зарегистрировано ни одного случая заболевания человека в результате заражения вирусом гриппа А/Н7N9. С февраля 2013 г. по настоящее время зарегистрировано 1568 случаев заражения человека, 615 из которых имели летальный исход [33].

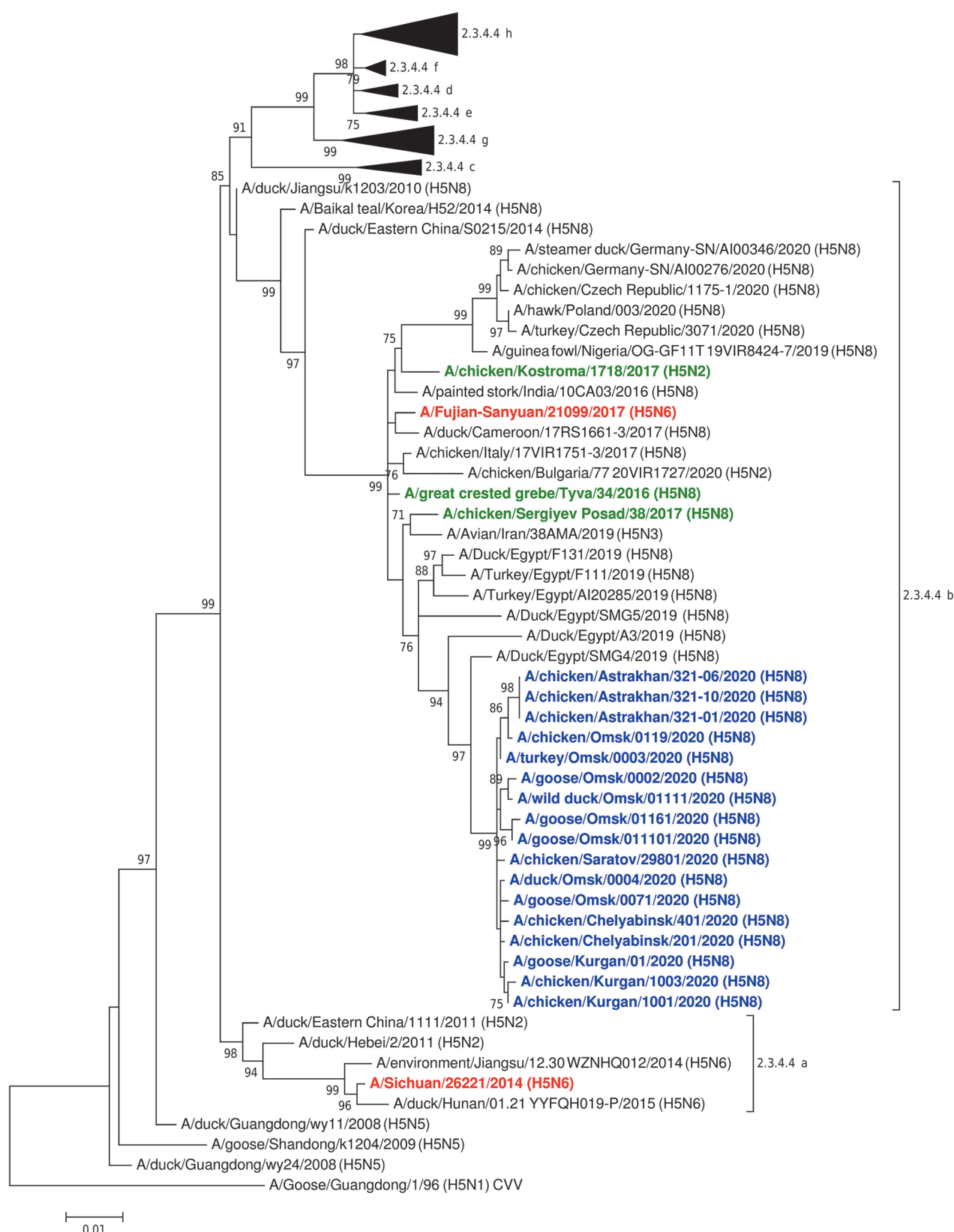
В 2020 г. выявлено семь новых случаев заболевания людей, вызванного вирусом гриппа подтипа А/Н9N2 [32]. Все они зарегистрированы на территории Китая. Случаев инфекции А/Н9N2 с летальным исходом среди них не выявлено. За все время исследований зарегистрировано 68 лабораторно подтверж-

денных случаев, из которых только один закончился смертью, и все они зарегистрированы в странах Юго-Восточной Азии (57 – в Китае, 4 – в Египте, 3 – в Бангладеш и по одному случаю в Индии, Омане, Пакистане и Сенегале) [34]. Надо сказать, что в июле 2020 г. была опубликована научная статья, в которой сообщалось о 16 новых случаях инфекции среди людей, вызванной вирусом гриппа А/Н9N2, однако позднее данная работа была отозвана, вероятно, по причине того, что информация оказалась недостоверной [35]. Тем не менее, учитывая, что вирус гриппа подтипа А/Н9N2 является эндемичным во многих странах Азии, Ближнего Востока и Африки и риск возникновения новых вспышек сохраняется, мониторингу распространения данного подтипа вируса необходимо уделять особое внимание.

Ситуация по высокопатогенному гриппу в России. В 2020 г. в России, так же как в странах Европы и Азии, отмечено широкое распространение высокопатогенного вируса гриппа. В отличие от относительно спокойного периода в 2019 г. [36], когда в январе были зарегистрированы только две вспышки инфекционной болезни, вызванной вирусом гриппа А/Н5N8 среди сельскохозяйственной птицы в Ростовской области, в 2020 г. зафиксировано резкое расширение географии распространения вируса и связанное с ним значительное количество вспышек на птицефабриках, а также среди диких птиц, по масштабу сравнимое со вспышками вызванного высокопатогенным вирусом гриппа, которые зарегистрированы в период 2017–2018 гг. [37, 38].

Так, в феврале 2020 г. на территории ПАО «Челябинская птицефабрика» зарегистрирован падеж сельскохозяйственной птицы. В результате исследования в биоматериале от павших кур выявлена РНК вируса гриппа А. После доставки биоматериала из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» нами методом ПЦР в режиме реального времени подтверждено наличие РНК вируса гриппа А/Н9N2. К сожалению, выделить вирус из биоматериала от птиц не удалось, поэтому информация о биологических свойствах этого вируса недоступна. Затем до июля 2020 г. на территории России не регистрировалось вспышек, вызванных вирусом гриппа птиц, или случаев циркуляции вируса гриппа.

В августе на территории Омской области зарегистрирован падеж домашней птицы на частных подворьях. Установлено, что гибель птицы вызвана высокопатогенным вариантом вируса гриппа А/Н5N8. Впоследствии вспышки заболевания регистрировались и на птицефабриках. Сообщения о гибели птицы поступили не менее чем из десяти районов Омской области. Затем вирус гриппа А/Н5N8 распространился в соседние регионы. В августе – сентябре 2020 г. сообщения о гибели диких и домашних птиц поступали из Томской, Тюменской, Курганской и Челябинской областей, после чего вирус был занесен на юг России. В период с сентября по декабрь 2020 г. поступали сообщения о вспышках в Саратовской,



Филогенетическое дерево гена HA штаммов вируса гриппа A/H5Nx. Штаммы, выделенные в России в 2020 г., отмечены синим цветом. Штаммы, выделенные в России ранее, – зеленым. Кандидатные вакцинные штаммы, использованные для определения генетических групп/подгрупп, выделены красным. Филогенетическое дерево построено с помощью программного обеспечения MEGA версии 6.0 (www.megasoftware.net) с использованием метода neighbor-joining (1000 повторов) с Kimura 2-parameter model

Phylogenetic tree of the HA gene of A/H5Nx virus strains. Strains isolated in Russia in 2020 are indicated by blue color. Viruses previously isolated in Russia are indicated by green. Candidate vaccine strains used for the identification of genetic groups/subgroups are marked with red. The tree was constructed using MEGA 6.06 software (www.megasoftware.net) using neighbor-joining method (1000 replicates) with Kimura 2-parameter model

к антимикробным препаратам первого выбора для лечения бруцеллеза [10–13].

Сохраняется эпидемиологическое неблагополучие по бруцеллезу в Китае, где за последние 15 лет ежегодное регистрируемое количество случаев бруцеллеза увеличилось более чем в 3 раза. В течение последнего десятилетия прослеживается выраженная тенденция распространения инфекции от севера Китая до южных провинций, что обусловлено ростом объемов внутренней миграции людей, перемещением животных и ввозом продуктов животного происхождения на юг страны из эпизоотически неблагополучных по бруцеллезу регионов. В большинстве случаев (более 75 % от общего количества) люди инфицировались возбудителем бруцеллеза в результате тесных контактов с больными бруцеллезом КРС, МРС, свиньями и другими животными. Более чем в 10 % случаев заражение бруцеллезной инфекцией происходило после употребления продуктов животного происхождения, контаминированных бруцеллами. Интенсивный показатель заболеваемости на 100 тыс. человек в Китае увеличился с 0,92 в 2004 г. до 3,3–4,2 в среднем за последние пять лет [14–16].

Страны Центральной Азии и Восточной Европы имеют одни из самых высоких мировых показателей заболеваемости людей бруцеллезом. За последние десять лет наиболее высокие значения заболеваемости людей бруцеллезом регистрировались в республиках Кыргызстан (более 18,0 случаев на 100 тыс. населения), Казахстан (16,6), Таджикистан (9,25), Армения (9,2), Грузия (5,42), Азербайджан (4,55), Узбекистан (2,64) [17–21].

Вспышки инфекционных болезней рассматриваются экспертами Всемирной организации здравоохранения как индикатор эпизоотолого-эпидемиологического неблагополучия по отдельным нозологиям в государстве и регионе в целом [22]. За последние десять лет в мире групповые случаи бруцеллеза, имевшие вспышечный характер, зарегистрированы в Израиле (2011, 2014, 2016 гг.) [23, 24], Малайзии (2011) [25], Бразилии (2012, 2013) [26, 27], Южной Корее (2012–2013) [28], Казахстане (2012) [29], Индии (2013) [30], Катаре (2015) [31], Омане (2016) [32], Китае (2012–2014, 2019–2020) [33–36], Болгарии (2015) [37], Парагвае (2017) [38] Испании (2017) [39], Армении (2015) [40], Алжире (2015, 2016, 2018) [4, 41, 42], Нигерии (2018) [5], Турции (2019) [43]. Подавляющее большинство (более 80 %) групповых вспышек бруцеллеза в мире было связано с употреблением молока или молочных продуктов от больных бруцеллезом животных, вместе с тем достаточно часто регистрировались групповые случаи бруцеллеза среди работников скотобоен (убойных пунктов), мясоперерабатывающих предприятий.

В 2020 г. службы здравоохранения Китая продолжили расследование одной из самых крупных в истории вспышки бруцеллеза среди людей, произошедшей в июле – августе 2019 г. в г. Ланьчжоу (провинция Ганьсу на северо-западе Китая) на заводе по

производству противобруцеллезных вакцин для животных. В результате биологической аварии возник выброс во внешнюю среду аэрозоля, содержащего живые бруцеллы. По состоянию на 05.11.2020 обследовано более 55 тыс. человек, из которых выявлено 6620 положительно реагирующих на бруцеллез [44].

Анализ эпизоотологической и эпидемиологической ситуации в Российской Федерации (РФ) проведен на основе данных Роспотребнадзора и Россельхознадзора о заболеваемости бруцеллезом людей и сельскохозяйственных животных, Департамента ветеринарии Минсельхоза России об объемах иммунизации скота против бруцеллеза, материалов и сообщений, представленных в специальной научной и периодической печати по вопросам бруцеллеза сельскохозяйственных животных и людей, результатов эпидемиологических исследований случаев заболевания, предоставленных Референс-центру по мониторингу за бруцеллезом управлениями Роспотребнадзора по субъектам РФ, а также сведений, обобщенных Федеральным центром гигиены и эпидемиологии по заболеваемости бруцеллезом, объемам вакцинации и ревакцинации подлежащих контингентов против бруцеллеза в разрезе субъектов РФ.

Цель исследования – анализ эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по бруцеллезу в мире в 2011–2020 гг. и прогноз на 2021 г. в Российской Федерации.

В Российской Федерации сохраняется нестабильная эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу, обусловленная стойким эпизоотическим неблагополучием по бруцеллезу среди крупного и мелкого рогатого скота. В период с 2010 по 2019 год в Российской Федерации было зарегистрировано 4283 неблагополучных пункта (н.п.) по бруцеллезу КРС, в которых выявлено 95979 голов больных животных и 398 н.п. по бруцеллезу МРС, 15880 больных бруцеллезом овец и коз. Анализ заболеваемости сельскохозяйственных животных бруцеллезом свидетельствует о сохранении многолетнего восходящего тренда эпизоотологического неблагополучия по бруцеллезу КРС [45, 46] в России (рис. 1).

Анализ очаговой инцидентности (ОИ) бруцеллеза КРС указывает на сохранение тенденции по ежегодному снижению данного показателя. В сравнении со средними многолетними данными за последние десять лет (39,1) значение ОИ в 2020 г. (27,0) снизилось на 30,9 %, что указывает на уменьшение среднего количества заболевших животных в пересчете на один неблагополучный пункт. Указанная динамика отражает большую вовлеченность в эпизоотический процесс бруцеллеза поголовья из хозяйств индивидуального сектора, где численность животных существенно ниже, чем в хозяйствах общественной формы собственности.

За 9 месяцев 2020 г., по сравнению с аналогичным периодом 2019 г., отмечается незначительное увеличение количества первичных н.п. по бруцелле-



Рис. 3. Регистрация случаев заболевания бруцеллезом среди людей на территории Российской Федерации в период 2011–2020 гг.

Fig. 3. Registration of brucellosis cases among the population in the territory of the Russian Federation in 2011–2020

эпизоотиями бруцеллеза КРС и МРС на территориях указанных округов.

За период 2011–2020 гг. в СКФО зарегистрирован 2291 человек с впервые выявленным бруцеллезом. Среднее многолетнее количество подтвержденных случаев бруцеллеза среди людей составляет 229 (2,39 на 100 тыс. населения). В 2020 г. выявлен 91 заболевший бруцеллезом (0,92 на 100 тыс. населения), в том числе 3 случая среди детей до 17 лет (0,11 на 100 тыс. населения). В сравнении со средней многолетней заболеваемостью людей бруцеллезом в округе в прошлом году отмечается существенное снижение числа случаев – на 60,3 % (138 сл.).

Основное количество заболевших в округе приходится на Республику Дагестан (РД), где за последние десять лет установлено 1483 случая бруцеллеза (в среднем 148 сл. в год, 5,03 на 100 тыс. населения). В 2020 г. в РД выявлен 81 случай (2,63 на 100 тыс. населения, 68,6 % от общероссийских показателей) бруцеллеза у людей, что на 45,2 % (67 сл.) ниже среднеемноголетних значений. На протяжении последних десятилетий в РД регистрируется самый высокий в стране уровень впервые выявленного бруцеллеза среди несовершеннолетних – в среднем 15 случаев в год, 1,73 на 100 тыс. населения. В 2020 г. в РД установлено 3 случая бруцеллеза среди детей до 17 лет (0,34 на 100 тыс. населения), что существенно ниже

среднегголетних значений в РД, однако составляет 100 % от общего количества выявленных случаев бруцеллеза среди несовершеннолетних в стране. Проблема высокой заболеваемости несовершеннолетних бруцеллезом во многом связана с традициями индивидуального ведения животноводства в республике, когда дети с раннего возраста активно участвуют в кормлении, обслуживании и подворном убое скота.

В последние годы в РД можно выделить два периода календарного года, когда регистрируется наибольшее количество заболевших – летний и осенне-зимний. В периоды июнь – август было выявлено 18 случаев (22,2 % от общего количества случаев в РД), январь – февраль и сентябрь – декабрь – 60 случаев (74,1 %). Заболевания людей бруцеллезом в летний период, а также в сентябре могут быть связаны с непосредственными контактами людей с больными бруцеллезом животными в период окотной кампании, стрижки и проведения ветеринарных обработок перед летним сезоном. Выявление заболевших в период осень – зима можно связать с их участием в работах по убою скота и первичной переработке животноводческого сырья.

По данным эпидемиологических исследований, основное количество случаев (69,1 %) заболевания людей бруцеллезом в РД преимущественно связа-

12. Platonov A.E., Avksent'ev N.A., Avksent'eva M.V., Derkach E.V., Platonova O.V., Titkov A.V., Kolyasnikova N.M. [Social and Economic Burden of Five Natural Focal Infections in the Russian Federation]. *Farmakoekonomika. Sovremennaya Farmakoekonomika i Farmakoepidemiologiya [Pharmacoeconomics. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology]*. 2015; (1):47–56. DOI: 10.17749/2070-4909.2015.8.1.047-056.

13. Rudakova S.A., Pen'evskaya N.A., Blokh A.I., Savel'ev D.A., Teslova O.E., Kaneshova N.E., Rudakov N.V., Trankvilevsky D.V. [Epidemiological Situation on Tick-Borne Borreliosis in the Russian Federation in 2019 Compared to the Period of 2002–2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):131–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-131-138.

14. Savilov E.D., Astaf'ev V.A., Zhdanova S.N., Zarudnev E.A. [Epidemiological Analysis. Methods of Statistical Data Processing]. Novosibirsk: "Nauka-Tsentr"; 2011. 156 p.

15. Rebrova O.Yu. [Statistical Analysis of Medical Data. Using the STATISTICA Application Package]. Moscow: "Mediasphere"; 2000. 312 p.

16. Lang T.A., Sessic M. [How to Describe Statistics in Medicine. Annotated Guide for Authors, Editors, and Reviewers]. Moscow: "Practical medicine"; 2011. 477 p.

17. Rudakova S.A., Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Pakskina N.D., Savel'ev D.A., Blokh A.I. [Intensity and trends in development of epidemic process of Ixodes tick-borne borrelioses in the Russian Federation in 2002–2018 and forecast for 2019]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (2):22–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-22-29.

18. Korenberg E.I. [Borders and type of the areal]. In: [The Taiga Tick *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae): Morphology,

Systematics, Ecology, Medical Significance]. Leningrad: "Nauka"; 1985. P. 188–93.

19. Hyndman R.J., Athanasopoulos G. Forecasting: Principles and Practice. 2nd ed. OTexts: Melbourne, Australia. 2018. 384 p. (Cited 15 Mar 2021). [Internet]. Available from: <https://otexts.org/fpp2/>.

Authors:

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

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

Trankvilevsky D.V. Federal Center of Hygiene and Epidemiology. 19a, Varshavskoe Highway, Moscow, 117105, Russian Federation. E-mail: gsen@fcgie.ru.

Об авторах:

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

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

Транквилевский Д.В. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии. Российская Федерация, 117105, Москва, Варшавское шоссе, 19а. E-mail: gsen@fcgie.ru.

