

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 1

2022

САРАТОВ

**Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» – 29448**
Цена на издание за минимальный
подписной период – 686,52 руб.

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 издателя и редакции:
ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»
Роспотребнадзора
410005, Саратов,
ул. Университетская, 46
E-mail: jour@microbe.ru
Сайт: <http://journal.microbe.ru>

Начальник редакционно-издательского
отдела ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб»
Роспотребнадзора
Е.С. Герасимова
Тел. (845-2) 51-82-22
Факс (845-2) 51-52-12

Редакторы
Е.Ю. Лашкова, И.А. Дубчак
Технический редактор *Т.К. Меркулова*
Перевод на английский
А.П. Ножкиной, Т.Б. Караваевой

Проблемы особо опасных инфекций.
2022. Вып. 1. 162 с.

Подписано в печать 25.03.2022
Формат 60×84 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 19,8
Гарнитура Таймс
Заказ 1422-221/070422

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

© Федеральное казенное учреждение
здравоохранения «Российский научно-
исследовательский противочумный
институт «Микроб» Роспотребнадзора, 2022

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

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

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

Абдикаримов С.Т., докт. мед. наук, доцент (Бишкек, Кыргызстан)
Мотин В.Л., профессор (Галвестон, США)
Титов Л.П., докт. мед. наук, профессор, член-корр. НАН Беларуси,
иностраный 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)
Шемакин 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 (Гвинеяская 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

2022, Issue 1

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

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

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

Editorial Council

Abdikarimov S.T., Doctor of Medical Science, Associate Professor (Bishkek, Kyrgyzstan)

Akimkin V.G., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)

Balakhonov S.V., Doctor of Medical Science, Professor (Irkutsk, Russia)

Bondarev V.P., Doctor of Medical Science, Professor (Moscow, Russia)

Borisevich S.V., Doctor of Biological Science, Professor, Corresponding Member of the RAS (Sergiev Possad, Russia)

Gintsburg A.L., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)

Dyatlov I.A., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Obolensk, Russia)

Kulichenko A.N., Doctor of Medical Science, Professor, Corresponding Member of the RAS (Stavropol, Russia)

Lvov D.K., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)

Maleev V.V., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)

Motin V.L., Ph. D., Professor (Galveston, USA)

Onishchenko G.G., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)

Rudakov N.V., Doctor of Medical Science, Professor (Omsk, Russia)

Sergiev V.P., Doctor of Medical Science, Professor, Member of the RAS (Moscow, Russia)

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

Alkhovskiy 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)

Mikerov 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 (Stavropol, 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

- Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа А.В., Транквилевский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Генетическое разнообразие семейства *Francisellaceae*, анализ ситуации по заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации в 2021 г. и прогноз на 2022 г. 6
- Никитин А.Я., Андаев Е.И., Толмачёва М.И., Аюгин Н.И., Яцменко Е.В., Матвеева В.А., Туранов А.О., Балахонов С.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации за 2011–2021 гг. и краткосрочный прогноз ее развития 15
- Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В., Миронова Л.В., Крицкий А.А., Лопатин А.А., Чемисова О.С., Соболева Е.Г., Иванова С.М., Водопьянов А.С., Стенина С.И., Писанов Р.В., Левченко Д.А., Подойницына О.А., Непомнящая Н.Б., Ежова М.И. Холера: тенденции развития эпидемического процесса в 2021 г., прогноз на 2022 г. 24
- Попов Н.В., Карнауков И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Сафронов В.А., Поршаков А.М., Иванова А.В., Марцоха К.С., Корзун В.М., Вержущий Д.Б., Чипанин Е.В., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Ашибок У.М., Газиева А.Ю., Зенкевич Е.С., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Совершенствование эпидемиологического надзора в природных очагах чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2022 г. 35
- Путинцева Е.В., Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Шпак И.М., Фомина В.К., Несговорова А.В., Батурич А.А., Молчанова Е.В., Прилесская Д.Р., Пименова Е.В., Викторов Д.В., Топорков А.В. Лихорадка Западного Нила: результаты мониторинга за возбудителем в 2021 г. в Российской Федерации, прогноз заболеваемости на 2022 г. 43
- Рудаков Н.В., Пеневская Н.А., Кумпан Л.В., Блох А.И., Шпынов С.Н., Транквилевский Д.В., Штрек С.В. Эпидемиологическая ситуация по риккетсиозам группы клещевой пятнистой лихорадки в Российской Федерации в 2012–2021 гг. и прогноз на 2022–2026 гг. 54
- Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К., Логвин Ф.В., Чмеренко Д.К., Семенова О.В., Аксенова Л.Ю., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Печковский Г.А., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая и эпизоотическая обстановка по сибирской язве в мире в 2021 г., прогноз на 2022 г. в Российской Федерации 64

Оригинальные статьи

- Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Старцева О.Л., Катунина Л.С., Ковалев Д.А., Иванова Г.Ф., Костроминов А.В., Курилова А.А. Изучение влияния экспериментальных основ на ростовые качества жидких питательных сред для глубинного культивирования вакцинного штамма чумного микроба 71
- Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Якушева О.А., Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Зюзина В.П., Яговкин М.Э. Изучение с помощью панели МКА поверхностных антигенных детерминант атипичных по агглютинабельности штаммов *Vibrio cholerae* 77
- Ефимова М.А., Ахмадеев Р.М., Галеева А.Г., Валева А.Р., Мифтахов Н.Р., Мукминов М.Н., Хаертгын К.С., Шуралев Э.А. Выделение гликопротеина вируса бешенства методом трехфазной экстракции и характеристика его антигенных свойств 86

Reviews

- Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Kulikalova E.S., Kholin A.V., Mazepa A.V., Trankvilevsky D.V., Khramov M.V., Dyatlov I.A. Genetic Diversity of the Family *Francisellaceae*, Analysis of the Situation on Tularemia Incidence in the Russian Federation in 2021, and Forecast for 2022
- Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Tolmacheva M.I., Ayugin N.I., Yatsmenko E.V., Matveeva V.A., Turanov A.O., Balakhonov S.V. Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2011–2021 and Short-Term Forecast of its Development
- Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Monakhova E.V., Mironova L.V., Kritsky A.A., Lopatin A.A., Chemisova O.S., Soboleva E.G., Ivanova S.M., Vodop'yanov A.S., Stenina S.I., Pisanov R.V., Levchenko D.A., Podoinitsyna O.A., Nepomnyashchaya N.B., Ezhova M.I. Cholera: Trends in the Development of the Epidemic Process in 2021, Forecast for 2022
- Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Safronov V.A., Porshakov A.M., Ivanova A.V., Martsokha K.S., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Lopatin A.A., Dubyansky V.M., Ashibokov U.M., Gazieva A.Yu., Zenkevich E.S., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. Enhancement of Epidemiological Surveillance in Natural Plague Foci of the Russian Federation and Forecast of Epizootic Activity for 2022
- Putintseva E.V., Udovichenko S.K., Nikitin D.N., Borodai N.V., Shpak I.M., Fomina V.K., Nesgovorova A.V., Baturin A.A., Molchanova E.V., Prilepskaya D.R., Pimenova E.V., Viktorov D.V., Toporkov A.V. West Nile Fever: Results of Monitoring over the Causative Agent in the Russian Federation in 2021, the Incidence Forecast for 2022
- Rudakov N.V., Pen'evskaya N.A., Kumpan L.V., Blokh A.I., Shpynov S.N., Trankvilevsky D.V., Shtrek S.V. Epidemiological Situation on Tick-Borne Spotted Fever Group Rickettsioses in the Russian Federation in 2012–2021, Prognosis for 2022–2026
- Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., Logvin F.V., Chmerenko D.K., Semenova O.V., Aksenova L.Yu., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Golovinskaya T.M., Pechkovsky G.A., Kulichenko A.N. Epidemiological and Epizootiological Situation on Anthrax around the World in 2021, the Forecast for 2022 in the Russian Federation

Original articles

- Abzaeva N.V., Gostishcheva S.E., Startseva O.L., Katunina L.S., Kovalev D.A., Ivanova G.F., Kostrominov A.V., Kurilova A.A. Studying the Effect of Experimental Bases on the Growth Quality of Liquid Nutritional Media for Submerged Cultivation of Plague Microbe Vaccine Strain
- Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Zyuzina V.P., Yagovkin M.E. Study of the Surface Antigenic Determinants of *Vibrio cholerae* Strains with Atypical Agglutinability Using the Panel of Monoclonal Antibodies
- Efimova M.A., Akhmadeev R.M., Galeeva A.G., Valeeva A.R., Miftakhov N.R., Mukminov M.N., Khaertynov K.S., Shuralev E.A. Isolation of Rabies Virus Glycoprotein Using Three-Phase Extraction and Characteristics of its Antigenic Properties

Зайковская А.В., Гладышева А.В., Карташов М.Ю., Таранов О.С., Овчинникова А.С., Шиповалов А.В., Пьянков О.В. Изучение в условиях <i>in vitro</i> биологических свойств штаммов коронавируса SARS-CoV-2, относящихся к различным генетическим вариантам.....	94
Зайцева О.А., Гнусарева О.А., Васильева О.В., Вольнкина А.С., Сирица Ю.В., Алехина Ю.А., Чишенок Т.И., Газиева А.Ю., Ашибокоев У.М., Давыдова Н.А., Лазаренко Е.В., Ермолова Н.В., Куличенко А.Н. Результаты эпизоотологического мониторинга природных очагов бактериальных трансмиссивных инфекций в регионе Кавказских Минеральных Вод Ставропольского края в 2018–2020 гг.	101
Захарова И.Б., Чирсков П.Р., Устинов Д.В., Викторов А.Д., Шпак И.М., Топорков А.В., Викторов Д.В. Вариации адаптивного ответа <i>Burkholderia pseudomallei</i> на холодовой стресс.....	106
Мищенко В.А., Питерский М.В., Платонова Т.А., Смирнова С.С., Вялых И.В., Быков И.П., Вяткина Л.Г., Махорина Т.В., Орлов А.М., Попкова Н.Г., Семенов А.В. Оценка серопревалентности к SARS-CoV-2 в различных группах населения с помощью моделей логит-регрессии в начальный период формирования коллективного иммунитета	113
Никифоров К.А., Морозов О.А., Ерошенко Г.А., Оглодин Е.Г., Куклева Л.М., Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Корзун В.М., Балахонов С.В., Кутырев В.В. Анализ пространственной структуры популяции <i>Yersinia pestis</i> алтайского биовара центральноазиатского подвида по данным полногеномного секвенирования	122
Носков А.К., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., Гаевская Н.Е., Ковалев Е.В., Карпушенко Г.В., Лопатин А.А., Иванова С.М., Тихонов С.Н. Организационно-функциональное репрофилирование научной противочумной организации Роспотребнадзора в условиях пандемии коронавирусной инфекции.....	130
Рыбальченко Д.А., Щелканова Е.Ю., Лозовский Ю.В., Федоров А.В., Смирнова Н.И. Распространенность разных типов интегративного конъюгативного элемента SXT/R391, кодирующего множественную резистентность к антибиотикам, среди клинических штаммов возбудителя холеры	137
Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Томилов А.А., Боднев С.А., Болдырев Н.Д., Овчинникова А.С., Зайковская А.В., Таранов О.С., Пьянков О.В., Максютов Р.А. Изучение восприимчивости линий мышей к вызывающим беспокойность вариантам вируса SARS-CoV-2.....	148

Юбилеи

Куличенко А.Н., Таран Т.В., Ковалев Д.А., Малецкая О.В., Курчева С.А., Василенко Н.Ф. К 70-летию Ставропольского научно-исследовательского противочумного института: организация, становление, деятельность и перспективы развития	156
К юбилею Сергея Владимировича Борисевича.....	161
К юбилею Михаила Николаевича Ляпина	161

Памяти коллег

Памяти Дмитрия Викторовича Викторова.....	162
Памяти Юрия Михайловича Ломова	162

Zaykovskaya A.V., Gladysheva A.V., Kartashov M.Yu., Taranov O.S., Ovchinnikova A.S., Shipovalov A.V., P'yankov O.V. <i>In vitro</i> Study of Biological Properties of SARS-CoV-2 Coronavirus Strains Related to Various Genetic Variants	
--	--

Zaitseva O.A., Gnusareva O.A., Vasil'eva O.V., Volynkina A.S., Siritsa Yu.V., Alekhina Yu.A., Chishenyuk T.I., Gazieva A.Yu., Ashibokov U.M., Davydova N.A., Lazarenko E.V., Ermolova N.V., Kulichenko A.N. Results of Epizootiological Monitoring of Natural Foci for Bacterial Vector-Borne Infections in Caucasian Mineral Waters Region of the Stavropol Territory in 2018–2020	
---	--

Zakharova I.B., Chirskov P.R., Ustinov D.V., Viktorov A.D., Shpak I.M., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Variations in the Adaptive Response of <i>Burkholderia pseudomallei</i> to Cold Stress	
---	--

Mishchenko V.A., Piterisky M.V., Platonova T.A., Smirnova S.S., Vyalykh I.V., Bykov I.P., Vyatkina L.G., Makhorina T.V., Orlov A.M., Popkova N.G., Semenov A.V. Assessment of Seroprevalence to SARS-CoV-2 in Various Population Cohorts Using Logit Regression Models During Initial Period of Herd Immunity Formation	
---	--

Nikiforov K.A., Morozov O.A., Eroshenko G.A., Oglodin E.G., Kukleva L.M., Naryshkina E.A., Krasnov Ya.M., Korzun V.M., Balakhonov S.V., Kutyrev V.V. Spatial Structure of <i>Yersinia pestis</i> Population Belonging to Altai Biovar, Subspecies <i>central asiatica</i> According to Genome-Wide Sequencing Data	
--	--

Noskov A.K., Kruglikov V.D., Chemisova O.S., Gaevskaya N.E., Kovalev E.V., Karpushchenko G.V., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Tikhonov S.N. Organizational and Functional Reassignment of a Scientific Plague Control Institution of the Rospotrebnadzor under Conditions of Coronavirus Infection Pandemic	
--	--

Rybal'chenko D.A., Shchelkanova E.Yu., Lozovsky Yu.V., Fedorov A.V., Smirnova N.I. Prevalence of Different Types of Integrative Conjugative Element SXT/R391 Encoding Multiple Antibiotic Resistance Among Clinical Strains of Cholera Agent	
--	--

Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Tomilov A.A., Bodnev S.A., Boldyrev N.D., Ovchinnikova A.S., Zaikovskaya A.V., Taranov O.S., P'yankov O.V., Maksyutov R.A. Susceptibility to SARS-CoV-2 Virus Variants of Concern in Mouse Models	
---	--

Anniversaries

Kulichenko A.N., Taran T.V., Kovalev D.A., Maletskaya O.V., Kurcheva S.A., Vasilenko N.F. To the 70th Anniversary of the Stavropol Research Anti-Plague Institute: Formation, Establishing, Operation, and Prospects of Development	
To the Anniversary of Sergey V. Borisevich	
To the Anniversary of Mikhail N. Lyapin	

Revering the Memory of the Colleagues

Of blessed memory of Dmitry V. Viktorov	
Of blessed memory of Yuriy M. Lomov	

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-6-14

УДК 616.98:579.841.95(470)

Т.Ю. Кудрявцева¹, В.П. Попов², А.Н. Мокриевич¹, Е.С. Куликалова³, А.В. Холин³, А.В. Мазепа³,
Д.В. Транквилевский⁴, М.В. Храмов¹, И.А. Дятлов¹

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ СЕМЕЙСТВА *FRANCISELLACEAE*, АНАЛИЗ СИТУАЦИИ ПО ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ ТУЛЯРЕМИЕЙ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2021 г. И ПРОГНОЗ НА 2022 г.

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», р.п. Оболенск, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ⁴ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация

В обзоре кратко изложена текущая систематика наиболее известных штаммов видов семейства *Francisellaceae*. Из-за значительного генетического разнообразия в семействе обнаружение *Francisella tularensis*, особенно в образцах из окружающей среды, становится еще более сложной задачей и возможно получение ложноположительных результатов. Показано сравнение уровня заболеваемости за пять лет в России и странах Европы, в которых ежегодно регистрируются наибольшие эпидемические проявления туляремии, а именно в Швеции, Финляндии, Норвегии и Чехии. В обзоре приведена сравнительная динамика заболеваемости туляремией за последние годы на территориях федеральных округов Российской Федерации. Представлена динамика заболеваемости туляремией при эпидемических вспышках в Республике Карелия и Омской области в последние годы. На территории Российской Федерации в 2021 г. зарегистрировано 17 случаев инфицирования человека возбудителем туляремии. Эпизоотические проявления инфекции различной степени интенсивности выявлены в 45 субъектах. На этом фоне спорадические случаи заболевания людей туляремией зарегистрированы в 11 регионах страны. Выделено 6 культур *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* из разных видов клещей на территориях Красноярского края, Республики Алтай и Алтайского края. На основании анализа представленных данных наиболее вероятны в 2022 г. эпидемические осложнения в виде спорадических случаев заболевания среди невакцинированного населения на территориях: Центрального федерального округа – в Воронежской, Рязанской, Смоленской областях и г. Москве; Северо-Западного федерального округа – в Архангельской области, Республике Карелия и г. Санкт-Петербурге; Приволжского федерального округа – на территориях Самарской, Кировской областей и Республики Татарстан; Уральского федерального округа – в Ханты-Мансийском и Ямало-Ненецком автономных округах; Сибирского федерального округа – на территориях отдельных районов Кемеровской, Новосибирской, Омской и Томской областей, Алтайского и Красноярского краев.

Ключевые слова: туляремия, *Francisella tularensis*, природные очаги, эпидемические вспышки, зоолого-эпидемиологический материал, иммунопрофилактика.

Корреспондирующий автор: Мокриевич Александр Николаевич, e-mail: mokrievich@obolensk.org.

Для цитирования: Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа А.В., Транквилевский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Генетическое разнообразие семейства *Francisellaceae*, анализ ситуации по заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации в 2021 г. и прогноз на 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:6–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-6-14

Поступила 24.02.2022. Отправлена на доработку 10.03.2022. Принята к публ. 29.03.2022.

T.Yu. Kudryavtseva¹, V.P. Popov², A.N. Mokrievich¹, E.S. Kulikalova³, A.V. Kholin³, A.V. Mazepa³,
D.V. Trankvilevsky⁴, M.V. Khramov¹, I.A. Dyatlov¹

Genetic Diversity of the Family *Francisellaceae*, Analysis of the Situation on Tularemia Incidence in the Russian Federation in 2021, and Forecast for 2022

¹State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation;

²Plague Control Center, Moscow, Russian Federation;

³Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

⁴Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The review briefly outlines the current taxonomy of the most studied strains of the species belonging to the family *Francisellaceae*. Due to the significant genetic diversity within the family, the detection of *Francisella tularensis*, especially in environmental samples, becomes even more difficult and may lead to false positive results. A comparison of the incidence rates in European countries, in which the extensive epidemic manifestations of tularemia are recorded annually, namely Sweden, Finland, Norway and the Czech Republic, and in Russia over the past five years is provided. The paper presents the comparative dynamics of tularemia incidence in the territories of the Federal Districts of the Russian Federation in recent years. The dynamics of the incidence during epidemic outbreaks in the Republic of Karelia and the Omsk Region over the past few years is shown. 17 cases of human infection with the causative agent of tularemia were registered on the territory of the Russian Federation in 2021. Epizootic manifestations of the infection of varying degrees

of intensity were detected in 45 constituent entities of the Federation. Against that background, sporadic cases of tularemia in humans were reported in 11 regions of the country. Six cultures of *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* from different types of ticks were isolated in the Krasnoyarsk Territory, the Republic of Altai and the Altai Territory. Based on the analysis of the data presented, in 2022, epidemic complications in the form of sporadic cases of the disease are most likely to occur among the unvaccinated population in the territories of the Central Federal District – the Voronezh, Ryazan, Smolensk Regions and in Moscow; Northwestern Federal District – in the Arkhangelsk Region, the Republic of Karelia and in St. Petersburg; Volga Federal District – in the territories of Samara, Kirov Regions and Republic of Tatarstan; Ural Federal District – in the Khanty-Mansiysk and Yamalo-Nenets Autonomous Districts; Siberian Federal District – in certain districts of the Kemerovo, Novosibirsk, Omsk and Tomsk Regions, Altai and Krasnoyarsk Territories.

Key words: tularemia, *Francisella tularensis*, natural foci, epidemic outbreaks, zoological and entomological material, immunophylaxis.

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

Corresponding author: Aleksandr N. Mokrievich, e-mail: mokrievich@obolensk.org.

Citation: Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Kulikalova E.S., Kholin A.V., Mazepa A.V., Trankvilevsky D.V., Khramov M.V., Dyatlov I.A. Genetic Diversity of the Family *Francisellaceae*, Analysis of the Situation on Tularemia Incidence in the Russian Federation in 2021, and Forecast for 2022. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:6–14. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-6-14

Received 24.02.2022. Revised 10.03.2022. Accepted 29.03.2022.

Kudryavtseva T.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0707-2376>
 Popov V.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4476-7831>
 Mokrievich A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3675-8780>
 Kulikalova E.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7034-5125>
 Kholin A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9344-3542>

Mazepa A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0843-4757>
 Trankvilevsky D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4896-9369>
 Khramov M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1816-0462>
 Dyatlov I.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1078-4585>

За последние годы резко возросло количество научных публикаций, в которых сообщается об обнаружении в разных частях земного шара микроорганизмов, близкородственных возбудителю туляремии *Francisella tularensis*. Выявляемые изоляты называли в первоначальных публикациях или некорректно, сравнивая с уже имеющимися видами, или разные источники предлагали другую номенклатуру генетически очень похожих штаммов. Поэтому назрела необходимость сравнить геномы и систематизировать все разнообразие найденных микроорганизмов. К настоящему времени собрана обширная коллекция последовательностей, состоящая из 499 геномов, представляющая наиболее известные штаммы видов семейства, которая реструктурирована в соответствии с таксономией, основанной на филогенетической структуре. Предложено разделить все генетическое многообразие семейства на четыре рода: *Francisella*, *Allofrancisella*, *Pseudofrancisella* и *Parafrancisella* [1].

Штаммы, принадлежащие к роду *Francisella*, четко кластеризуются в четыре крупных группы (clade). Штаммы вида *F. tularensis*, способные инфицировать млекопитающих, отнесены к подгруппе (sub-clade) 1.1 [2]. Также в эту подгруппу, кроме видов *F. tularensis* и *F. novicida*, вошли вид *F. sp. TX07-6608*, который представляет собой изолят, выделенный непосредственно из морской воды [3], и вид *F. hispaniensis* – условно-патогенный микроорганизм, который может вызывать заболевание у людей с ослабленным иммунитетом [4]. К подгруппе 1.2 отнесены виды эндосимбионтов клещей, FLEs (*Francisella*-like endosymbionts) [*Wolbachia persica* (*F. persica*) ATCC VR-331; DSM 101678; FSC845] и вид *F. opportunistica* [5]. При этом находящийся в одной группе с возбудителем туляремии изолят *F. persica*, по-видимому, является переходной формой с точки зрения способности расти на бесклеточной среде, поскольку его можно культивировать на чашках с агаром, но он растет чрезвычайно медленно (14–20 дней). Остальные эндосимбионты клещей не растут в бесклеточной среде, реплицируются только внутриклеточно, могут передаваться трансвариально [6–8] и их передача и вирулентность для человека неизвестны [9, 10].

К группе 2 отнесены виды, которые могут инфицировать рыб: *F. philomiragia*, *F. noatunensis*, *F. orientalis*, *F. sp. GA01-2794* и *F. salinarina*.

Группа 3 содержит единственного представителя – геном вида *F. endociliophora*.

Группа 4 состоит из недавно открытых видов: *F. haliotica*, *F. uliginis*, *F. sp. LA11-2445*, *F. sp. SYW*.

На территории Российской Федерации до настоящего времени тестировали два подвида возбудителя туляремии: подвид *F. tularensis* subsp. *holarctica*, который циркулирует на всей территории Российской Федерации, и подвид *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*, который до сих пор выделяется только на территориях Алтайского края, Республики Алтай и на юге Красноярского края. В коллекциях микроорганизмов научных учреждений Российской Федерации находятся еще штаммы подвидов *F. tularensis* subsp. *tularensis*, *F. tularensis* subsp. *novicida* и вида *F. philomiragia*, переданных туда еще в советское время. Для выявления всех других видов *Francisella* sp. из семейства *Francisellaceae*, обнаруженных к настоящему времени в мире, которые могут циркулировать и на территории нашей страны, необходим поиск высокоспецифичных последовательностей и создание тестов на их основе.

Авторами предложенной новой классификации штаммов семейства *Francisellaceae* выбраны генетические регионы, разработаны и проверены более специфичные тесты (Ft-sp.FTT0376, Ft-sp.3Pan и Ft-sp.FTS_0772) на основе метода ПЦР в реальном времени, которые можно использовать для обнару-

жения штаммов, принадлежащих к виду *F. tularensis*, в образцах окружающей среды, таких как водные и воздушные фильтры, где в последнее время обнаружено много новых видов, которые можно спутать с возбудителем туляремии [1, 11, 12].

В целом значительное генетическое разнообразие в семействе *Francisellaceae* делает обнаружение *F. tularensis*, особенно в образцах из окружающей среды, еще более сложной задачей и может приводить к ложноположительным результатам, а именно к выявлению близкородственных видов, а не возбудителя туляремии.

Заболееваемость туляремией ежегодно регистрируется на территориях, в основном, стран Евразии и Северной Америки. Впервые в 2021 г. сообщено о случае заражения туляремией на территории Тайваня [13].

Наибольший вклад в заболеваемость этой инфекцией на территории Европы вносят Швеция, Финляндия, Норвегия и Чехия (рис. 1) [14].

Возникновение вспышек туляремии происходит после длительных периодов эпидемического благополучия, часто при отсутствии видимых экологических, климатических, ландшафтных, гидрологических, хозяйственных и других факторов риска. Поиски причин возникновения эпидемической вспышки во Франции в 2018 г. (109 человек) с наличием 21 % легочных форм и двумя летальными исходами болезни показали, что микроорганизмы рода *Francisella* sp. широко распространены в водных объектах на территории Франции: в океане, ручьях, реках, каналах, прудах, озерах и плотинах [15, 16].

Анализ выживаемости клеток вирулентного подвида *F. tularensis* subsp. *holarctica* FSC200 в пресной воде при температуре 4 °C в течение 24 недель показал их жизнеспособность и вирулентность для мышей [17]. Ранее уже было продемонстрировано, что генетические субпопуляции клеток возбудителя туляремии присутствовали в пробах воды в те-

чение всего летнего сезона, а также сохранялись в течение нескольких лет без генетической изменчивости [18]. Клетки или ДНК штаммов *F. tularensis* subsp. *holarctica* обнаруживались в пробах воды и ила с помощью ПЦР или путем заражения животного инфицированной водой, но не культивировались на искусственных питательных средах из воды естественных водоемов, в отличие от штаммов *F. novicida* и *F. philomiragia* [19–21].

Также было продемонстрировано независимое от биопленки долгосрочное выживание патогенных штаммов в условиях, имитирующих перезимовку в водной среде. Чтобы выжить в наземных и водных средах обитания, особенно там, где количество питательных веществ ограничено, бактерии обычно образуют биопленку. Образование биопленок является важным и фундаментальным механизмом для выживания и персистенции во внешней среде многих бактерий. При формировании биопленки происходит концентрирование клеток на абиотических и биотических поверхностях в количествах, достаточных для инфицирования животных. Было показано, что штаммы *F. novicida* U112 образовывали биопленки, авирулентные для человека и животных штаммы *F. tularensis* subsp. *holarctica* FSC200, *F. tularensis* subsp. *tularensis* Schu S4 и вакцинный штамм *F. tularensis* subsp. *holarctica* LVS – нет [17].

Кроме того, длительное существование бактерий *F. tularensis* subsp. *holarctica* возможно в водно-болотной среде, насыщенной простейшими, с высокой питательной доступностью. Было показано, что бактерии *F. tularensis* subsp. *holarctica* не только длительное время персистируют в личинках комаров и других насекомых [22], но и проникают и размножаются в эндосомах простейших *Acanthamoeba castellanii*, *Hartmannella vermiformis* и *Dictyostelium discoideum* [23–26].

Таким образом, способность штаммов подвида *F. tularensis* subsp. *holarctica* занимать различные экологические ниши и резервуары и, соответственно, менять стиль жизни (внутриклеточный, симбиотический, некультивируемый, свободноживущий) объясняет его высокую экологическую стабильность и более широкое и длительное распространение в окружающей среде в сравнении с другими подвидами возбудителя туляремии. Например, на территории Российской Федерации изоляты *F. tularensis* subsp. *holarctica* выделяются в различных климатических зонах: от субарктических до субтропических. Биоценозы природных очагов самые разные: от водных до пустынных, со своими хозяевами и переносчиками [27].

При распространении возбудителя практически на всей территории страны заболеваемость туляремией удалось резко снизить после введения вакцинации в России с середины прошлого века. Объем вакцинации против туляремии достиг максимума в 2001 г. и составил 2425636 человек. В 2021 г. вакцинировано и ревакцинировано 914158 человек.

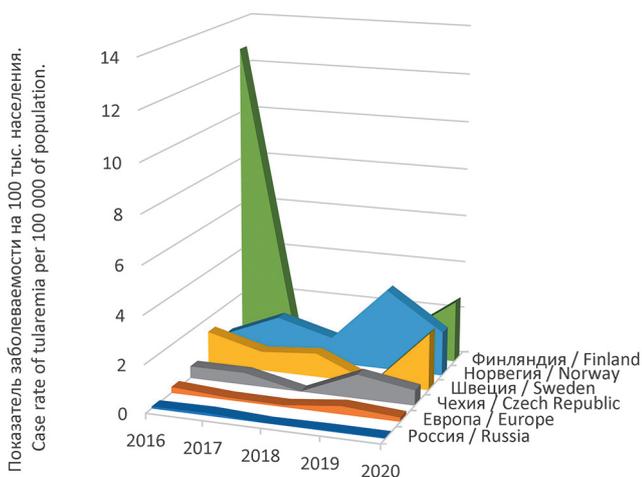


Рис. 1. Сравнение динамики заболеваемости туляремией за пять лет в ряде стран Европы и России

Fig. 1. Comparison of the tularemia incidence dynamics over 5-year term in a number of European countries and in Russia

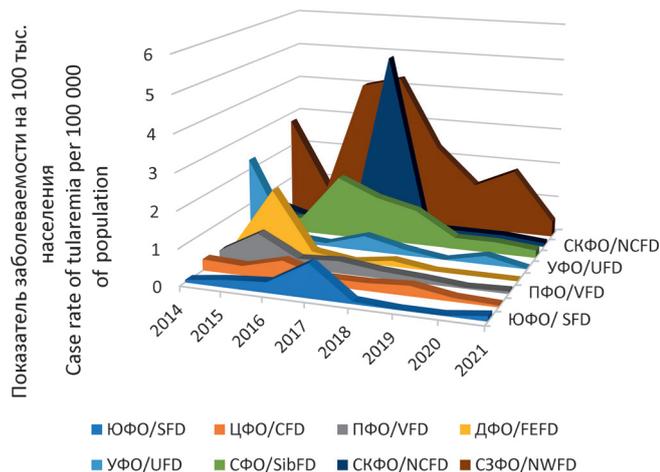


Рис. 2. Сравнительная динамика заболеваемости туляремией за последние годы на территориях федеральных округов Российской Федерации:

ЮФО – Южный; ЦФО – Центральный; ПФО – Приволжский; ДФО – Дальневосточный; УФО – Уральский; СФО – Сибирский; СКФО – Северо-Кавказский; СЗФО – Северо-Западный федеральные округа

Fig. 2. Comparative dynamics of tularemia incidence in the territories of the Federal Districts of the Russian Federation in recent years:

SFD – Southern; CFD – Central; VFD – Volga; FEFD – Far Eastern; UFD – Ural; SibFD – Siberian; NCFD – North-Caucasian; NWFD – North-Western Federal Districts

Динамика заболеваемости туляремией в России начиная с 1950 г., а также тенденция роста заболеваемости при тренде снижения вакцинации за последние двадцать и десять лет рассмотрены в предыдущих обзорах [28, 29]. За последние пять лет, как и в предшествующие годы, на территории Российской Федерации наиболее высокая заболеваемость туляремией наблюдается в Северо-Западном федеральном округе (рис. 2).

В 2021 г. на территории Российской Федерации зарегистрировано 17 случаев заболевания человека туляремией, показатель заболеваемости на 100 тыс. населения – 0,01. Для сравнения, в 2020 г. на территории Российской Федерации зарегистрирован 41 случай заболевания человека туляремией (показатель заболеваемости на 100 тыс. населения – 0,03). На территории Республики Карелия туляремией заболели 4 человека, в Самарской, Омской областях и Алтайском крае – по 2, по одному че-

ловеку – в Москве, Республике Крым, Брянской, Архангельской и Вологодской областях, Краснодарском и Ставропольском краях.

С 2016 г. сохраняется неблагоприятная эпидемиологическая обстановка по туляремии в Карелии (рис. 3).

Вспышки туляремии, начавшиеся в 2016 г. в Омской области и Республике Карелия (рис. 3), имеют различия и общие черты. Общее для обеих вспышек – это то, что в этих двух субъектах Федерации в последние годы значительно расширились территории, на которых были выявлены эпизоотические проявления туляремии различной степени интенсивности, а именно в 14 из 18 административных единиц Республики Карелия и в 21 из 32 районов Омской области и в г. Омске. Укус насекомого – основной путь передачи возбудителя туляремии человеку на обеих территориях. И, наконец, высокая заболеваемость в регионах показывает недостаточный уровень профилактических мероприятий, направленных на подавление активности природных очагов и развитие невосприимчивости населения к данной инфекции.

Различия выявились в том, что в Омской области большая часть заболевших – дети и взрослые трудоспособного возраста: из 70 заболевших – 33 ребенка до 17 лет (47 %). Треть инфицированных туляремией (23 человека) – горожане, заразились в четырех разных районах, не выезжая из Омска. В Омской области заражение невакцинированных людей происходило на фоне значительных показателей ежегодной иммунизации, что привело к затуханию вспышки и связано с недостаточным или неточным определением контингента лиц, подвергающихся риску заражения туляремией, и наличием очагов заражения на территории Омска.

Заболевшие в Республике Карелия в основном не относятся к группам профессионального риска, их заражения произошли во время пребывания на дачных участках, посещения лесных массивов, прилегающих к населенным пунктам. Например, из 23 случаев, произошедших в 2020 г., инфицирование возбудителем туляремии произошло во время пребывания на даче (11 случаев), купания в сельской местности (8 случаев) и при посещении лесных массивов (4 случая). Среди заболевших с 2015 по

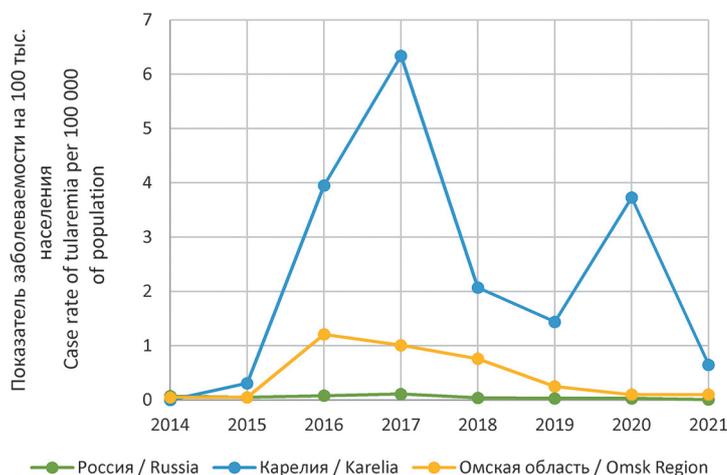


Рис. 3. Динамика заболеваемости туляремией в Республике Карелия и Омской области в последние годы

Fig. 3. Dynamics of tularemia incidence in the Republic of Karelia and the Omsk Region in recent years

2021 год люди всех возрастов, из 117 случаев – 12 детей (10 %) до 17 лет.

В Республике Карелия явно низкий уровень иммунопрофилактики туляремии. За последние пять лет вакцинировано всего 940 человек. В 2020 и 2021 гг. не вакцинировано и ревакцинировано ни одного человека. Поэтому наблюдается второй пик заболеваемости в регионе, так как не происходило ни оздоровления очагов, ни развития невосприимчивости населения к данной инфекции.

Кроме этого, несмотря на высокую заболеваемость туляремией в регионе в течение последних семи лет, нет настороженности врачей и обязательной постановки иммунологических реакций на возможное инфицирование возбудителем туляремии для больных с пневмониями, ангинами и конъюнктивитами, сопровождающимися лихорадкой и лимфаденитами, особенно в эпидемический сезон. Так, в 2021 г. из четырех заболевших туляремией правильный первоначальный диагноз «туляремия» поставлен только одному больному (25 %), другим трем – диагнозы «коронавирусная инфекция», «пневмония» и «панкреатит». А из 31 заболевшего туляремией в 2019 и 2020 гг. правильный первичный диагноз поставлен только в 9 случаях (29 %).

Надо отметить, что возрастающая в последние годы привлекательность Карелии в качестве туристического кластера требует обязательного проведения дезинсекционных, акарицидных, дератизационных и лесотехнических работ, особенно на территориях проживания, деятельности и отдыха населения, а также информирования путешествующих по региону о риске заражения этой тяжелой инфекционной болезнью и о соблюдении гигиены и необходимости использования репеллентов.

Центральный федеральный округ (ЦФО).

В 2021 г. на территории ЦФО зарегистрировано по одному больному туляремией в Брянской области и г. Москве (в 2020 г. – 4).

Сведения об изменении численности грызунов и насекомых за обзорный период и исследования зоолого-энтомологического материала на туляремию поступили из всех субъектов ЦФО. Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 7,5 % попаданий на 100 ловушко-суток (в 2020 г. – 6,7 %). Среди субъектов округа территориями с высоким числом попадания в ловушки мелких млекопитающих (15 % и более) являлись Рязанская, Калужская, Смоленская, Тульская и Ярославская области.

При помощи иммунологических и молекулярно-генетических методов выявлены инфицированные туляремией пробы при исследовании материала от мелких млекопитающих, насекомых и из объектов окружающей среды в 11 субъектах округа: в Курской, Брянской, Владимирской, Тверской, Тамбовской, Воронежской, Липецкой, Смоленской, Калужской, Рязанской и Тульской областях (в 2020 г. – в 12 субъектах).

Традиционно недостаточный уровень иммунопрофилактики туляремии в Ярославской области и у москвичей, выезжающих на выходные дни и в отпускное время в другие регионы России на отдых, на природу и на дачи.

Наиболее неблагоприятная ситуация по туляремии прогнозируется в 2022 г. на территориях Воронежской, Рязанской, Смоленской областей и г. Москвы.

Северо-Западный федеральный округ (СЗФО).

В 2021 г. на территории СЗФО зарегистрировано 6 больных туляремией (в 2020 г. – 25). Четверо заболели в Республике Карелия и по одному человеку – в Архангельской и Вологодской областях.

Сведения об изменении численности грызунов и насекомых за обзорный период и исследования зоолого-энтомологического материала на туляремию поступили из всех субъектов СЗФО, кроме Ненецкого автономного округа.

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 6,8 % попаданий на 100 ловушко-суток (в 2020 г. – 7,4 %). Среди субъектов округа территориями с высоким числом попадания в ловушки мелких млекопитающих (15 % и более) являлись Архангельская область и г. Санкт-Петербург.

При помощи иммунологических и молекулярно-генетических методов выявлены инфицированные туляремией пробы при исследовании материала от мелких млекопитающих, насекомых и из объектов окружающей среды в 5 субъектах округа: в Республике Карелия, в Архангельской, Ленинградской и Калининградской областях и г. Санкт-Петербурге (в 2020 г. – в 7 субъектах).

В СЗФО заметный уровень иммунопрофилактики туляремии достигнут только в Архангельской, Вологодской областях, а также в Республике Коми и Ненецком автономном округе.

Наиболее неблагоприятная ситуация по туляремии прогнозируется в 2022 г. на территориях в Архангельской области, Республике Карелия и г. Санкт-Петербурге.

Южный федеральный округ (ЮФО).

За 2021 г. на территории ЮФО зарегистрировано двое больных туляремией (за аналогичный период прошлого года больных туляремией не зарегистрировано). По одному заболевшему было в Краснодарском крае и Республике Крым. Сведения об изменении численности грызунов и насекомых за обзорный период поступили из всех субъектов ЮФО. Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 10,2 % попаданий на 100 ловушко-суток (в 2020 г. – 10,3 %). Более 15 % попаданий в ловушки мелких млекопитающих отмечено в Республике Крым.

Исследования зоолого-энтомологического материала на туляремию в 2021 г. проводились на всей территории округа. При помощи иммунологических и молекулярно-генетических методов выявлены ин-

фицированные туляремией пробы при исследовании материала от мелких млекопитающих, насекомых и из объектов окружающей среды в 3 субъектах округа (в 2020 г. – в 5 субъектах): в Волгоградской, Ростовской областях и Республике Крым.

Наиболее неблагоприятная ситуация по туляремии прогнозируется в 2022 г. в Республике Крым, где на территории 11 районов выявлены инфицированные возбудителем туляремии пробы, высокая численность мелких млекопитающих и уровень вакцинации в несколько раз ниже, чем в Волгоградской, Ростовской областях и Краснодарском крае.

Северо-Кавказский федеральный округ (СКФО). В 2021 г. на территории СКФО зарегистрирован один больной туляремией в Ставропольском крае (за аналогичный период прошлого года – два человека).

Сведения об изменении численности грызунов и насекомоядных за обзорный период и результаты исследований зоолого-энтмологического материала на туляремию поступили из всех субъектов СКФО. Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 9,7 % попадения на 100 ловушко/суток (в 2020 г. – 10,0 %). Только в Кабардино-Балкарской Республике зафиксировано высокое число попадений в ловушки мелких млекопитающих (15 % и более).

Положительные результаты получены при исследовании иммунологическими и молекулярно-генетическими методами проб от домовых, малых лесных и полевых мышей, общественной полевки и серых хомячков в Ставропольском крае и Республике Северная Осетия – Алания, а также от инфицированных клещей в Чеченской Республике.

Наиболее неблагоприятная ситуация по туляремии прогнозируется в 2022 г. в Ставропольском крае, но ежегодная значительная вакцинация населения, возможно, позволит избежать группового заражения и тяжелых случаев заболевания туляремией.

Приволжский федеральный округ (ПФО). В 2021 г. на территории ПФО зарегистрировано двое больных туляремией в Самарской области (в 2020 г. – один больной в Оренбургской области).

Сведения об изменении численности грызунов и насекомоядных за обзорный период и исследования зоолого-энтмологического материала на туляремию поступили из всех субъектов ПФО.

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 13,8 % попадений на 100 ловушко/суток (в 2020 г. – 13,5 %). Среди субъектов округа территориями с высоким числом попадения в ловушки мелких млекопитающих (15 % и более) являлись Оренбургская, Саратовская, Самарская, Пензенская, Кировская области, Чувашская, Удмуртская республики и Республика Башкортостан.

Исследования зоолого-энтмологического материала на туляремию проводились на территории всех субъектов ПФО. При помощи иммунологиче-

ских и молекулярно-генетических методов выявлены инфицированные возбудителем туляремии пробы при исследовании материала от мелких млекопитающих, насекомых и из объектов окружающей среды в 8 субъектах округа (в 2020 г. – в 6 субъектах): в республиках Мордовия, Татарстан, в Удмуртской Республике, а также в Оренбургской, Пензенской, Кировской, Саратовской и Самарской областях.

Из 14 субъектов ПФО только в Оренбургской, Саратовской и Пензенской областях достигнуты значительные уровни иммунопрофилактики туляремии.

Эпидемические осложнения по туляремии в виде спорадических случаев заболевания среди невакцинированного населения наиболее вероятны в 2022 г. на территориях Самарской, Кировской областей и Республики Татарстан, где кроме высокой численности мелких млекопитающих отмечена высокая инфицированность проб органов грызунов, насекомых и объектов внешней среды, выявленная на значительных территориях регионов, а также низкий уровень иммунопрофилактики населения.

Уральский федеральный округ (УФО). В 2021 г. на территории УФО больных туляремией не зарегистрировано (в 2020 г. – 3 случая).

Сведения об изменении численности грызунов и насекомоядных за обзорный период и исследования зоолого-энтмологического материала на туляремию поступили из всех субъектов УФО.

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 6,3 % попадений на 100 ловушко/суток (в 2020 г. – 8,6 %). Среди субъектов округа территориями с высоким числом попадения в ловушки мелких млекопитающих (15 % и более) являлись Ханты-Мансийский автономный округ (ХМАО) и Тюменская область.

Исследования зоолого-энтмологического материала на туляремию проводились на территории всех субъектов УФО. При помощи иммунологических и молекулярно-генетических методов выявлены инфицированные возбудителем туляремии пробы при исследовании материала от мелких млекопитающих, насекомых и из объектов окружающей среды в трех субъектах округа: в ХМАО, Тюменской области и Ямало-Ненецком автономном округе (ЯНАО). Наиболее высокий процент зараженных туляремией проб выявлен на территориях ХМАО и ЯНАО.

Только в Тюменской области и ХМАО проводится заметная вакцинопрофилактика туляремии.

Спорадические случаи заболевания среди невакцинированного населения наиболее вероятны в 2022 г. на территориях ХМАО и ЯНАО.

Сибирский федеральный округ (СФО). В 2021 г. на территории СФО зарегистрировано 4 больных туляремией, по 2 – в Омской области и Алтайском крае (в 2020 г. – 6).

Сведения об изменении численности грызунов и насекомоядных за обзорный период и исследования

зоолого-энтомологического материала на туляремию поступили из всех субъектов СФО.

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 8,3 % попаданий на 100 ловушко/суток (в 2020 г. – 9,6 %). Среди субъектов округа территориями с высоким числом попадания в ловушки мелких млекопитающих (15 % и более) являлись Республика Алтай, Кемеровская и Томская области.

Исследования зоолого-энтомологического материала на туляремию проводились на территории всех субъектов СФО. При помощи бактериологических, иммунологических и молекулярно-генетических методов выявлены инфицированные возбудителем туляремии пробы при исследовании материала от мелких млекопитающих, насекомых и из объектов окружающей среды в 8 субъектах округа: в Томской, Новосибирской, Иркутской, Омской и Кемеровской областях, в Алтайском и Красноярском краях и Республике Алтай.

Выделено 6 культур *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica*: 1 культура – из клещей *Haemaphysalis concinna* в Каратузском районе Красноярского края, 2 – из клещей *Dermacentor silvarum* и 2 культуры – из клещей *H. concinna*, добытых в Чойском районе Республики Алтай, а также 1 культура – из клещей *D. reticulatus*, отловленных в Алтайском районе Алтайского края.

Имеет место явно недостаточный уровень иммунопрофилактики туляремии в республиках Тыва, Хакасия, Красноярском крае, Иркутской, Кемеровской и Томской областях.

Эпизоотическая ситуация останется по-прежнему напряженной в 2022 г. на территориях природных очагов туляремии отдельных районов Кемеровской, Новосибирской, Омской и Томской областей, Алтайского и Красноярского краев.

Дальневосточный федеральный округ (ДФО). В 2021 г. на территории ДФО больных туляремией не зарегистрировано, так же как и в 2020 г.

Сведения об изменении численности грызунов и насекомых за обзорный период и исследования зоолого-энтомологического материала на туляремию поступили из всех субъектов ДФО.

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 8,7 % попаданий на 100 ловушко/суток (в 2020 г. – 6,5 %). Среди субъектов округа территориями с высоким числом попадания в ловушки мелких млекопитающих (15 % и более) являлись Хабаровский и Камчатский края и Еврейская автономная область.

Исследования зоолого-энтомологического материала на туляремию проводились на территории всех субъектов ДФО. При помощи иммунологических и молекулярно-генетических методов выявлены инфицированные возбудителем туляремии пробы при исследовании материала от мелких млекопитающих, насекомых и из объектов окружающей среды в Камчатском и Приморском краях.

На территориях всех субъектов ДФО, кроме Республики Саха (Якутия), уровень иммунопрофилактики туляремии явно недостаточный.

Таким образом, на территории Российской Федерации в 2021 г. зарегистрировано 17 случаев инфицирования человека возбудителем туляремии. Эпизоотические проявления инфекции различной степени интенсивности выявлены в 45 субъектах Федерации. На этом фоне спорадические случаи заболевания людей туляремией зарегистрированы в 11 регионах страны.

За 2021 г. сведения об изменении численности грызунов и насекомых не поступили и исследования зоолого-энтомологического материала на туляремию не проводились на территории Ненецкого автономного округа,

Выделено 6 культур *Francisella tularensis* subsp. *mediasiatica* из разных видов клещей на территориях Красноярского края, Республики Алтай и Алтайского края.

В 2021 г. вакцинировано и ревакцинировано от туляремии 914158 человек.

Иммунопрофилактика против туляремии находится на низком уровне в 50 субъектах Российской Федерации. Неоправданно низкие уровни вакцинации и ревакцинации или отсутствие специфической профилактики туляремии наблюдаются в республиках Карелия, Татарстан, Крым, Красноярском крае, а также в Ярославской, Ленинградской, Кировской, Самарской, Кемеровской и Томской областях.

На основании анализа данных регулярных обзоров ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», ФКУЗ «Противочумный центр» и ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, карт эпизоотолого-эпидемиологического обследования очагов зоонозных заболеваний, а также ряда форм статистического наблюдения Роспотребнадзора, эпидемические осложнения по туляремии в виде спорадических случаев заболевания среди невакцинированного населения наиболее вероятны в 2022 г. на территориях: Центрального федерального округа – в Воронежской, Рязанской, Смоленской областях и г. Москве; Северо-Западного федерального округа – в Архангельской области, Республике Карелия и в г. Санкт-Петербурге; Южного федерального округа – в Республике Крым; Приволжского федерального округа – на территориях Самарской, Кировской областей и Республики Татарстан; Уральского федерального округа – в ХМАО, ЯНАО; Сибирского федерального округа – на территориях отдельных районов Кемеровской, Новосибирской, Омской, Томской областей, Алтайского и Красноярского краев.

Уровень заболеваемости населения туляремией в 2022 г. в Российской Федерации во многом будет обусловлен полнотой осуществления запланированных объемов профилактических мероприятий на территории различных субъектов страны и спе-

цифической иммунизации контингентов населения потенциально высокого риска инфицирования. При строгом выполнении регламентированных мер профилактики, проведении комплексного эпизоотолого-эпидемиологического надзора за туляремийной инфекцией заболеваемость людей в России будет ограничена выявлением спорадических случаев заражения, которые потенциально возможны в пределах практически всех регионов страны.

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

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора и деятельности Референс-центра по мониторингу за туляремией ФБУН ГНЦ ПМБ.

Список литературы

1. Öhrman C., Sahl J.W., Sjödin A., Uneklint I., Ballard R., Karlsson L., McDonough R.F., Sundell D., Soria K., Bäckman S., Chase K., Brindefalk B., Sozhamannan S., Vallesi A., Hägglund E., Ramirez-Paredes J.G., Thelaus J., Colquhoun D., Myrtennäs K., Birdsell D., Johansson A., Wagner D.M., Forsman M. Reorganized genomic taxonomy of *Francisellaceae* enables design of robust environmental PCR assays for detection of *Francisella tularensis*. *Microorganisms*. 2021; 9(1):146. DOI: 10.3390/microorganisms9010146.

2. Sjödin A., Svensson K., Öhrman C., Ahlinder J., Lindgren P., Duodu S., Johansson A., Colquhoun D.J., Larsson P., Forsman M. Genome characterisation of the genus *Francisella* reveals insight into similar evolutionary paths in pathogens of mammals and fish. *BMC Genomics*. 2012; 13:268. DOI: 10.1186/1471-2164-13-268.

3. Petersen J.M., Carlson J., Yockey B., Pillai S., Kuske C., Garbalena G., Pottumarthy S., Chalcraft L. Direct isolation of *Francisella* spp. from environmental samples. *Lett. Appl. Microbiol.* 2009; 48(6):663–7. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2009.02589.x.

4. Huber B., Escudero R., Busse H.J., Seibold E., Scholz H.C., Anda P., Kämpfer B., Spletstoesser W.D. Description of *Francisella hispaniensis* sp. nov., isolated from human blood, reclassification of *Francisella novicida* (Larson et al. 1955) Olsufiev et al. 1959 as *Francisella tularensis* subsp. *novicida* comb. nov. and emended description of the genus *Francisella*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2010; 60(Pt 8):1887–96. DOI: 10.1099/ij.s.0.015941-0.

5. Kugeler K.J., Mead P.S., McGowan K.L., Burnham J.M., Hogarty M.D., Ruchelli E., Pollard K., Husband B., Conley C., Rivera T., Kelesidis T., Lee W.M., Mabey W., Winchell J.M., Stang H.L., Staples J.E., Chalcraft L.J., Petersen J.M. Isolation and characterization of a novel *Francisella* sp. from human cerebrospinal fluid and blood. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(7):2428–31. DOI: 10.1128/JCM.00698-08.

6. Gerhart J.G., Auguste Dutcher H., Brenner A.E., Moses A.S., Grubhoffer L., Raghavan R. Multiple acquisitions of pathogen-derived *Francisella* endosymbionts in soft ticks. *Genome Biol. Evol.* 2018; 10(2):607–5. DOI: 10.1093/gbe/evy021.

7. Gerhart J.G., Moses A.S., Raghavan R. A *Francisella*-like endosymbiont in the Gulf Coast tick evolved from a mammalian pathogen. *Sci. Rep.* 2016; 6:33670. DOI: 10.1038/srep33670.

8. Liu J.N., Yu Z.J., Liu L.M., Li N.X., Wang R.R., Zhang C.M., Liu J.Z. Identification, distribution and population dynamics of *Francisella*-like endosymbiont in *Haemaphysalis doenitzii* (Acari: Ixodidae). *Sci. Rep.* 2016; 6:35178. DOI: 10.1038/srep35178.

9. Wójcik-Fatla A., Zając V., Sawczyn A., Cisek E., Sroka J., Dutkiewicz J. Occurrence of *Francisella* spp. in *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus* ticks collected in eastern Poland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015; 6(3):253–7. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2015.01.005.

10. Ivanov I.N., Mitkova N., Reye A.L., Hübschen J.M., Vatcheva-Dobrevska R.S., Dobрева E.G., Kantardjiev T.V., Muller C.P. Detection of new *Francisella*-like tick endosymbionts in *Hyalomma* spp. and *Rhipicephalus* spp. (Acari: Ixodidae) from Bulgaria. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(15):5562–5. DOI: 10.1128/AEM.02934-10.

11. Mitchell J.L., Chatwell N., Christensen D., Diaper H., Minogue T.D., Parsons T.M., Walker B., Weller S.A. Development of real-time PCR assays for the specific detection of *Francisella tularensis* ssp. *tularensis*, *holarctica* and *mediaasiatica*. *Mol. Cell. Probes.* 2010; 24(2):72–6. DOI: 10.1016/j.mcp.2009.10.004.

12. Larson M.A., Sayood K., Bartling A.M., Meyer J.R., Starr C., Baldwin J., Dempsey M.P. Differentiation of *Francisella tularen-*

sis subspecies and subtypes. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(4):e01495-19. DOI: 10.1128/JCM.01495-19.

13. Taiwan reports first local tularemia case. [Электронный ресурс]. URL: <http://outbreaknewstoday.com/taiwan-reports-first-local-tularemia-case-85489/> (дата обращения 04.02.2022).

14. Disease data from ECDC Surveillance Atlas – tularaemia. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/tularaemia/surveillance-and-disease-data/disease-data-atlas> (дата обращения 04.02.2022).

15. Mailles A., Ollivier R., Benezit F., Lepoivre H., Faisant M., Aranda grau J.H., Lefebvre M., Caspar Y., Guimard T. Une épidémie de tularemie en France en 2018 suggérant une modification de l'épidémiologie de la maladie. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2019; 49(4):S4. DOI: 10.1016/j.medmal.2019.04.028.

16. Brunet C., Hennebique A., Peyroux J., Pelloux I., Caspar Y., Maurin M. Presence of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* DNA in the aquatic environment in France. *Microorganisms*. 2021; 9(7):1398. DOI: 10.3390/microorganisms9071398.

17. Golovliov I., Bäckman S., Granberg M., Salomonsson E., Lundmark E., Näslund J., Busch J.D., Birdsell D., Sahl J.W., Wagner D.M., Johansson A., Forsman M., Thelaus J. Long-term survival of virulent tularemia pathogens outside a host in conditions that mimic natural aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 2021; 87(6):e02713-20. DOI: 10.1128/AEM.02713-20.

18. Svensson K., Bäck E., Eliasson H., Berglund L., Granberg M., Karlsson L., Larsson P., Forsman M., Johansson A. Landscape epidemiology of tularemia outbreaks in Sweden. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(12):1937–47. DOI: 10.3201/eid1512.090487.

19. Мирончук Ю.В., Мазепа А.В. Жизнеспособность и вирулентность *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* в водных экосистемах (экспериментальное изучение). *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2002; 2:9–13.

20. Broman T., Thelaus J., Andersson A.C., Bäckman S., Wikström P., Larsson E., Granberg M., Karlsson L., Bäck E., Eliasson H., Mattsson R., Sjöstedt A., Forsman M. Molecular detection of persistent *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in natural waters. *Int. J. Microbiol.* 2011; 2011:851946. DOI: 10.1155/2011/851946.

21. Forsman M., Henningson E.W., Larsson E., Johansson T., Sandström G. *Francisella tularensis* does not manifest virulence in viable but non-culturable state. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2000; 31(3):217–24. DOI: 10.1111/J.1574-6941.2000.TB00686.X.

22. Lundström J.O., Andersson A.C., Bäckman S., Schäfer M.L., Forsman M., Thelaus J. Transstadial transmission of *Francisella tularensis holarctica* in mosquitoes, Sweden. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(5):794–9. DOI: 10.3201/eid1705.100426.

23. Thelaus J., Andersson A., Mathisen P., Forslund A.L., Noppa L., Forsman M. Influence of nutrient status and grazing pressure on the fate of *Francisella tularensis* in lake water. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2009; 67(1):69–80. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2008.00612.x.

24. Abd H., Johansson T., Golovliov I., Sandström G., Forsman M. Survival and growth of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba castellanii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69(1):600–6. DOI: 10.1128/AEM.69.1.600-606.2003.

25. Ozanic M., Marecic V., Abu Kwaik Y., Santic M. The divergent intracellular lifestyle of *Francisella tularensis* in evolutionarily distinct host cells. *PLoS Pathog.* 2015; 11(12):e1005208. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005208.

26. Santic M., Ozanic M., Semic V., Pavokovic G., Mrvcic V., Kwaik Y.A. Intra-vacuolar proliferation of *F. novicida* within *H. vermiformis*. *Front. Microbiol.* 2011; 2:78. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00078.

27. Попова А.Ю., Мефодьев В.В., Степанова Т.Ф., Ежлова Е.Б., Дёмина Ю.В., Марченко А.Н. Эпидемиология и профилактика туляремии на эндемичных территориях России. Тюмень; 2016. 316 с.

28. Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Пакскина Н.Д., Холин А.В., Мазепа А.В., Куликалова Е.С., Транквилевский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Туляремия: актуальные вопросы и прогноз эпидемической ситуации на территории Российской Федерации в 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:22–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-22-29.

29. Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Пакскина Н.Д., Холин А.В., Мазепа А.В., Куликалова Е.С., Косилко С.А., Бирковская Ю.А., Транквилевский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Эпидемическая активность природных очагов туляремии на территории Российской Федерации в 2018 г. и прогноз ситуации на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 1:32–41. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-32-41.

References

1. Öhrman C., Sahl J.W., Sjödin A., Uneklint I., Ballard R., Karlsson L., McDonough R.F., Sundell D., Soria K., Bäckman S., Chase K., Brindefalk B., Sozhamannan S., Vallesi A., Hägglund E., Ramirez-Paredes J.G., Thelaus J., Colquhoun D., Myrtennäs K., Birdsell D., Johansson A., Wagner D.M., Forsman M. Reorganized genomic taxonomy of *Francisellaceae* enables

- design of robust environmental PCR assays for detection of *Francisella tularensis*. *Microorganisms*. 2021; 9(1):146. DOI: 10.3390/microorganisms9010146.
2. Sjödin A., Svensson K., Öhrman C., Ahlinder J., Lindgren P., Duodu S., Johansson A., Colquhoun D.J., Larsson P., Forsman M. Genome characterisation of the genus *Francisella* reveals insight into similar evolutionary paths in pathogens of mammals and fish. *BMC Genomics*. 2012; 13:268. DOI: 10.1186/1471-2164-13-268.
 3. Petersen J.M., Carlson J., Yockey B., Pillai S., Kuske C., Garbalena G., Pottumarthy S., Chalcraft L. Direct isolation of *Francisella* spp. from environmental samples. *Lett. Appl. Microbiol.* 2009; 48(6):663–7. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2009.02589.x.
 4. Huber B., Escudero R., Busse H.J., Seibold E., Scholz H.C., Anda P., Kämpfer P., Spletstoesser W.D. Description of *Francisella hispaniense* sp. nov., isolated from human blood, reclassification of *Francisella novicida* (Larson et al. 1955) Olsufiev et al. 1959 as *Francisella tularensis* subsp. *novicida* comb. nov. and emended description of the genus *Francisella*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2010; 60(Pt 8):1887–96. DOI: 10.1099/ijso.0.015941-0.
 5. Kugeler K.J., Mead P.S., McGowan K.L., Burnham J.M., Hogarty M.D., Ruchelli E., Pollard K., Husband B., Conley C., Rivera T., Kelesidis T., Lee W.M., Mabey W., Winchell J.M., Stang H.L., Staples J.E., Chalcraft L.J., Petersen J.M. Isolation and characterization of a novel *Francisella* sp. from human cerebrospinal fluid and blood. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(7):2428–31. DOI: 10.1128/JCM.00698-08.
 6. Gerhart J.G., Auguste Dutcher H., Brenner A.E., Moses A.S., Grubhoffer L., Raghavan R. Multiple acquisitions of pathogen-derived *Francisella* endosymbionts in soft ticks. *Genome Biol. Evol.* 2018; 10(2):607–5. DOI: 10.1093/gbe/evy021.
 7. Gerhart J.G., Moses A.S., Raghavan R. A *Francisella*-like endosymbiont in the Gulf Coast tick evolved from a mammalian pathogen. *Sci. Rep.* 2016; 6:33670. DOI: 10.1038/srep33670.
 8. Liu J.N., Yu Z.J., Liu L.M., Li N.X., Wang R.R., Zhang C.M., Liu J.Z. Identification, distribution and population dynamics of *Francisella*-like endosymbiont in *Haemaphysalis doenitzii* (Acari: Ixodidae). *Sci. Rep.* 2016; 6:35178. DOI: 10.1038/srep35178.
 9. Wójcik-Fatla A., Zając V., Sawczyn A., Cisak E., Sroka J., Dutkiewicz J. Occurrence of *Francisella* spp. in *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus* ticks collected in eastern Poland. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015; 6(3):253–7. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2015.01.005.
 10. Ivanov I.N., Mitkova N., Reye A.L., Hübschen J.M., Vatcheva-Dobrevska R.S., Dobreva E.G., Kantardjiev T.V., Muller C.P. Detection of new *Francisella*-like tick endosymbionts in *Hyalomma* spp. and *Rhipicephalus* spp. (Acari: Ixodidae) from Bulgaria. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(15):5562–5. DOI: 10.1128/AEM.02934-10.
 11. Mitchell J.L., Chatwell N., Christensen D., Diaper H., Minogue T.D., Parsons T.M., Walker B., Weller S.A. Development of real-time PCR assays for the specific detection of *Francisella tularensis* ssp. *tularensis*, *holarctica* and *mediaasiatica*. *Mol. Cell. Probes.* 2010; 24(2):72–6. DOI: 10.1016/j.mcp.2009.10.004.
 12. Larson M.A., Sayood K., Bartling A.M., Meyer J.R., Starr C., Baldwin J., Dempsey M.P. Differentiation of *Francisella tularensis* subspecies and subtypes. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(4):e01495-19. DOI: 10.1128/JCM.01495-19.
 13. Taiwan reports first local tularemia case. (Cited 04 Feb 2022). [Internet]. Available from: <http://outbreaknewstoday.com/taiwan-reports-first-local-tularemia-case-85489/>.
 14. Disease data from ECDC Surveillance Atlas – tularemia. (Cited 04 Feb 2022). [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/tularemia/surveillance-and-disease-data-atlas>.
 15. Mailles A., Ollivier R., Benezit F., Lepoivre H., Faisant M., Aranda grau J.H., Lefebvre M., Caspar Y., Guimard T. Une épidémie de tularémie en France en 2018 suggérant une modification de l'épidémiologie de la maladie. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 2019; 49(4):S4. DOI: 10.1016/j.medmal.2019.04.028.
 16. Brunet C., Hennebique A., Peyroux J., Pelloux I., Caspar Y., Maurin M. Presence of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* DNA in the aquatic environment in France. *Microorganisms*. 2021; 9(7):1398. DOI: 10.3390/microorganisms9071398.
 17. Golovliov I., Bäckman S., Granberg M., Salomonsson E., Lundmark E., Näslund J., Busch J.D., Birdsell D., Sahl J.W., Wagner D.M., Johansson A., Forsman M., Thelaus J. Long-term survival of virulent tularemia pathogens outside a host in conditions that mimic natural aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 2021; 87(6):e02713-20. DOI: 10.1128/AEM.02713-20.
 18. Svensson K., Bäck E., Eliasson H., Berglund L., Granberg M., Karlsson L., Larsson P., Forsman M., Johansson A. Landscape epidemiology of tularemia outbreaks in Sweden. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15(12):1937–47. DOI: 10.3201/eid1512.090487.
 19. Mironchuk Yu.V., Mazepa A.V. [Viability and virulence of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in water ecosystems (experimental study)]. *Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2002; 2:9–13.
 20. Broman T., Thelaus J., Andersson A.C., Bäckman S., Wikström P., Larsson E., Granberg M., Karlsson L., Bäck E., Eliasson H., Mattsson R., Sjöstedt A., Forsman M. Molecular detection of persistent *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in natural waters. *Int. J. Microbiol.* 2011; 2011:851946. DOI: 10.1155/2011/851946.
 21. Forsman M., Henningson E.W., Larsson E., Johansson T., Sandström G. *Francisella tularensis* does not manifest virulence in viable but non-culturable state. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2000; 31(3):217–24. DOI: 10.1111/J.1574-6941.2000.TB00686.X.
 22. Lundström J.O., Andersson A.C., Bäckman S., Schäfer M.L., Forsman M., Thelaus J. Transstadial transmission of *Francisella tularensis holarctica* in mosquitoes, Sweden. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(5):794–9. DOI: 10.3201/eid1705.100426.
 23. Thelaus J., Andersson A., Mathisen P., Forslund A.L., Noppa L., Forsman M. Influence of nutrient status and grazing pressure on the fate of *Francisella tularensis* in lake water. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2009; 67(1):69–80. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2008.00612.x.
 24. Abd H., Johansson T., Golovliov I., Sandström G., Forsman M. Survival and growth of *Francisella tularensis* in *Acanthamoeba castellanii*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69(1):600–6. DOI: 10.1128/AEM.69.1.600-606.2003.
 25. Ozanic M., Marecic V., Abu Kwaik Y., Santic M. The divergent intracellular lifestyle of *Francisella tularensis* in evolutionarily distinct host cells. *PLoS Pathog.* 2015; 11(12):e1005208. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005208.
 26. Santic M., Ozanic M., Semic V., Pavokovic G., Mrvcic V., Kwaik Y.A. Intra-vacuolar proliferation of *F. novicida* within *H. vermiformis*. *Front. Microbiol.* 2011; 2:78. DOI: 10.3389/fmicb.2011.00078.
 27. Popova A.Yu., Mefod'ev V.V., Stepanova T.F., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Marchenko A.N. [Epidemiology and Prophylaxis of Tularemia in Endemic Territories of Russia]. Tyumen; 2016. 316 p.
 28. Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Paksina N.D., Kholin A.V., Mazepa A.V., Kulikalova E.S., Trankvilevsky D.V., Khramov M.V., Dyatlov I.A. [Tularemia: relevant issues and forecast of epidemic situation in the territory of the Russian Federation in 2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (1):22–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-22-29.
 29. Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Paksina N.D., Kholin A.V., Mazepa A.V., Kulikalova E.S., Kosilko S.A., Birkovskaya Yu.A., Trankvilevsky D.V., Khramov M.V., Dyatlov I.A. [Epidemic activity of natural tularemia foci in the territory of the Russian Federation in 2018 and forecast of the situation for 2019]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (1):32–41. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-32-41.
- Authors:**
 Kudryavtseva T.Yu., Mokrievich A.N., Khramov M.V., Dyatlov I.A. State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obolensk.org.
 Popov V.P. Plague Control Center. 4, Mussorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nl.n.ru.
 Kulikalova E.S., Kholin A.V., Mazepa A.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.
 Trankvilevsky D.V. Federal Center of Hygiene and Epidemiology. 19a, Varshavskoe highway, Moscow, 117105, Russian Federation. E-mail: Sgsen@fcgsen.ru.
- Об авторах:**
 Кудрявцева Т.Ю., Мокриевич А.Н., Храмов М.В., Дятлов И.А. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., р.п. Оболensk. E-mail: info@obolensk.org.
 Попов В.П. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nl.n.ru.
 Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа А.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.
 Транквилевский Д.В. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии. Российская Федерация, 117105, Москва, Варшавское шоссе, 19а. E-mail: gsen@fcgsen.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-15-23

УДК 616.98:578.833.2

А.Я. Никитин¹, Е.И. Андаев¹, М.И. Толмачёва¹, Н.И. Аюгин¹, Е.В. Яценко², В.А. Матвеева³,
А.О. Туранов⁴, С.В. Балахонов¹

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО КЛЕЩЕВОМУ ВИРУСНОМУ ЭНЦЕФАЛИТУ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ЗА 2011–2021 гг. И КРАТКОСРОЧНЫЙ ПРОГНОЗ ЕЕ РАЗВИТИЯ

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ³ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация; ⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Забайкальском крае», Чита, Российская Федерация

Цель работы – анализ эпидемиологической ситуации по клещевому вирусному энцефалиту (КВЭ) на эндемичных территориях Российской Федерации в 2021 г. в сравнении с динамикой за 2011–2020 гг. и краткосрочный прогноз на 2022 г. В России эндемичными по КВЭ являются 48 субъектов в семи федеральных округах. В Сибирском (характеризуется максимальным уровнем заболеваемости), Приволжском и Дальневосточном федеральных округах наблюдается статистически значимая тенденция к снижению инцидентности КВЭ. В Уральском федеральном округе (втором по уровню инцидентности КВЭ) с 2021 г. снижение заболеваемости приостановилось. Среднегодовое количество случаев КВЭ в субъектах страны варьирует от спорадической (Республика Крым) до 12,5 на 100 тыс. населения (10^{-4}) (Красноярский край). В 2021 г. случаи КВЭ выявлены в 42 эндемичных субъектах и одном неэндемичном (Ставропольский край). В стране зарегистрировано 1015 случаев КВЭ, 0,69 10^{-4} . Во всех федеральных округах заболеваемость КВЭ ниже среднегодовое количество показателей. С использованием программы Quantum GIS заболеваемость КВЭ в 917 административных территориях субъектов страны ранжирована и сгруппирована по уровню эпидемиологического риска. Это позволило установить, что 65 % территорий формируют зону низкого эпидемиологического риска. Высокий и очень высокий эпидемиологический риск наблюдается в 13 % проанализированных районов. В структуре клинических проявлений КВЭ в 2021 г. преобладали лихорадочная (59,7 %) и менингеальная (24,3 %) формы. Зарегистрировано 14 летальных исходов. В 2021 г. в стране вакцинировано 2889515 человек (в том числе 1433850 детей), из них 14 заболело. Специфический иммуноглобулин применен для предотвращения манифестного развития инфекции у 100704 человек, что составляет 22,6 % пострадавших от присасывания клещей (30,6 % среди детей). Акарицидные обработки выполнены на оперативной площади в 233125 га территорий социально значимых объектов. Объемы всех мер профилактики КВЭ в 2021 г. возросли по сравнению с 2020 г. В 2022 г. прогнозируется снижение заболеваемости КВЭ в эндемичных федеральных округах и в целом по стране (до $0,64 \pm 0,192 10^{-4}$).

Ключевые слова: клещевой вирусный энцефалит, заболеваемость, эпидемиологическая ситуация, прогноз.

Корреспондирующий автор: Никитин Алексей Яковлевич, e-mail: nikitin_irk@mail.ru.

Для цитирования: Никитин А.Я., Андаев Е.И., Толмачёва М.И., Аюгин Н.И., Яценко Е.В., Матвеева В.А., Туранов А.О., Балахонов С.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации за 2011–2021 гг. и краткосрочный прогноз ее развития. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:15–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-15-23

Поступила 14.02.2022. Отправлена на доработку 21.02.2022. Принята к публ. 24.02.2022.

А.Я. Nikitin¹, E.I. Andaev¹, M.I. Tolmacheva¹, N.I. Ayugin¹, E.V. Yatsmenko², V.A. Matveeva³,
A.O. Turanov⁴, S.V. Balakhonov¹

Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2011–2021 and Short-Term Forecast of its Development

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

²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation;

³Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation;

⁴Center of Hygiene and Epidemiology in Trans-Baikal Territory, Chita, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to analyze the epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the endemic territories of the Russian Federation in 2021 in comparison with the dynamics over 2011–2020 and its short-term forecast for 2022. In Russia, 48 constituent entities belonging to seven federal districts are endemic for tick-borne viral encephalitis (TBVE). There is a statistically significant downward trend in the incidence of TBVE in the Siberian Federal District (which is characterized by the maximum incidence rate in the country), the Volga and Far Eastern Federal Districts. In the Ural Federal District (the second in terms of TBVE incidence), the decline in the incidence has stalled since 2021. The average long-term incidence of TBVE in the constituent entities of the Russian Federation varies from sporadic (Republic of Crimea) up to 12.5 per 100 thousand of the population (10^{-4}) (Krasnoyarsk Territory). In 2021, TBVE cases were detected in 42 endemic regions and in one non-endemic region – Stavropol Territory. At the same time, 1015 cases of TBVE were in the country ($0.69 10^{-4}$). In all Federal Districts, the incidence of TBVE is below the long-term average values. Using the Quantum GIS program, the incidence of TBVE in 917 administrative territories of the country has been ranked and grouped according to the level of epidemiological risk. This made it possible to establish that 65 % of the territories form a zone of low epidemiological risk. High and very high epidemiological risk is observed in 13% of the analyzed districts. The structure of TBVE clinical manifestations in 2021 was dominated by febrile (59.7 %) and meningeal (24.3 %) forms. 14 lethal outcomes were reported. In 2021, 2 889 515 people were vaccinated

(including 1 433 850 children), of which 14 fell ill. Specific immunoglobulin was used to prevent the overt development of infection in 100 704 individuals, which accounts for 22.6 % of the persons affected by tick bites (30.6 % among children). Acaricidal treatments were carried out on an operational area of 233 125 hectares of territories of socially significant objects. The scope of all TBVE prevention measures in 2021 increased as compared to 2020. In 2022, a decline in the incidence of TBVE in endemic Federal Districts and in the country on the whole is forecasted to $(0,64 \pm 0,192) \text{ }^0/_{0000}$.

Key words: tick-borne viral encephalitis, morbidity, epidemiological situation, forecast.

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

Corresponding author: Aleksey Ya. Nikitin, e-mail: nikitin_irk@mail.ru.

Citation: Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Tolmacheva M.I., Ayugin N.I., Yatsmenko E.V., Matveeva V.A., Turanov A.O., Balakhonov S.V. Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2011–2021 and Short-Term Forecast of its Development. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*, 2022; 1:15–23. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-15-23

Received 14.02.2022. Revised 21.02.2022. Accepted 24.02.2022.

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

Andaev E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6612-479X>

Ayugin N.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8548-3595>

Turanov A.O., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2055-1646>

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

В Российской Федерации на протяжении двух десятилетий XXI в. регистрируют снижение заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ) (рис. 1). Причем происходит это при отсутствии уменьшения обращаемости в медицинские организации людей, пострадавших от присасывания иксодовых клещей, из чего напрашивается предположение о затухании эпидемического процесса. Вместе с тем разброс показателей риска заболеваемости КВЭ по административным районам страны очень большой [1]. Это не позволяет считать эпидемиологическую обстановку по КВЭ благополучной. Более того, отмечен рост инцидентности этой инфекции в ряде стран Европы и Азии, частично связанный с изменением ареала иксодовых клещей [2, 3]. Произошло увеличение доли случаев КВЭ с 6,3 % (2019 г.) до 9,1 % (2020 г.) от суммы природно-очаговых зоонозов, регистрируемых в РФ [4]. На севере нашей страны наблюдается увеличение контактов населения с иксодовыми клещами, которые могут являться переносчиками и резервуарами вируса клещевого энцефалита [5–7].

Следовательно, мониторинг природных очагов КВЭ, разработка риск-ориентированного подхода к профилактике, расширение лабораторной базы экспресс-тестирования пострадавших от присасывания клещей, создание препаратов для терапии вирусной инфекции остаются актуальными вопросами для органов и учреждений Роспотребнадзора и здравоохранения РФ.

Цель работы – анализ эпидемиологической ситуации по клещевому вирусному энцефалиту на эндемичных территориях Российской Федерации в 2021 г. в сравнении с динамикой за 2011–2020 гг. и краткосрочный прогноз на 2022 г.

Ретроспективный эпидемиологический анализ материалов о заболеваемости КВЭ в РФ проведен на основе данных государственной статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за январь – декабрь 2021 г. в субъектах страны (форма № 1) и «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2011–2020 гг. (форма № 2). Учтена информация о результатах мониторинга инфекции на эндемичных территориях РФ. В качестве показателя инцидентности

использовано число больных в расчете на 100 тыс. населения ($^0/_{0000}$).

Статистическая обработка материалов выполнена стандартными методами вариационной статистики в программе MS Excel. При анализе использованы показатель средней арифметической и величины ее ошибки ($M \pm m$), построены уравнения линейной регрессии [8].

Для деления субъектов РФ на группы низкого, среднего и высокого эпидемиологического риска проявлений КВЭ использован расчет 95 % доверительного интервала по среднемноголетним значениям инцидентности. Территории с заболеваемостью ниже или равной величине $M - t \cdot m$ отнесены к группе низкого риска (Г1). Субъекты с заболеваемостью, укладывающейся в границы от $M - t \cdot m$ до $M + t \cdot m$, формируют группу среднего эпидемиологического риска (Г2), а со значениями инцидентности, превышающими величину $M + t \cdot m$, – входят в группу высокого риска (Г3). Здесь t – критерий Стьюдента по специальным таблицам для $P < 0,05$ и соответствующего числа степеней свободы [8].

Ретроспективный анализ заболеваемости КВЭ в РФ в 2011–2020 гг. Нозоареал КВЭ на территории РФ почти полностью совпадает с зоной обитания двух видов иксодовых клещей: *Ixodes ricinus* (европейская часть) и *I. persulcatus* (частично европейская часть, Урал, Сибирь, Дальний Восток). Вместе с тем существуют неэндемичные по КВЭ территории (Камчатский край, г. Москва, Республика Саха (Якутия) и ряд других районов), где встречаются клещи рода *Ixodes*, но случаи КВЭ редки или отсутствуют [5–7]. Роль дополнительных переносчиков вируса на территории РФ выполняют *I. pavlovskyi*, *Haemaphysalis concinna*, *H. japonica*, несколько видов рода *Dermacentor* [1, 6].

В природных очагах КВЭ на территории РФ циркулируют варианты вируса КЭ четырех субтипов: дальневосточный (прототипный штамм Софьин), европейский (Neudoerfl), сибирский (Васильченко и Заусаев) и байкальский (группа «886-84» подобных вариантов вируса) [9].

Среднемноголетний показатель за 2012–2021 гг. ($СМП_{2012-2021}$) инцидентности КВЭ в РФ со-

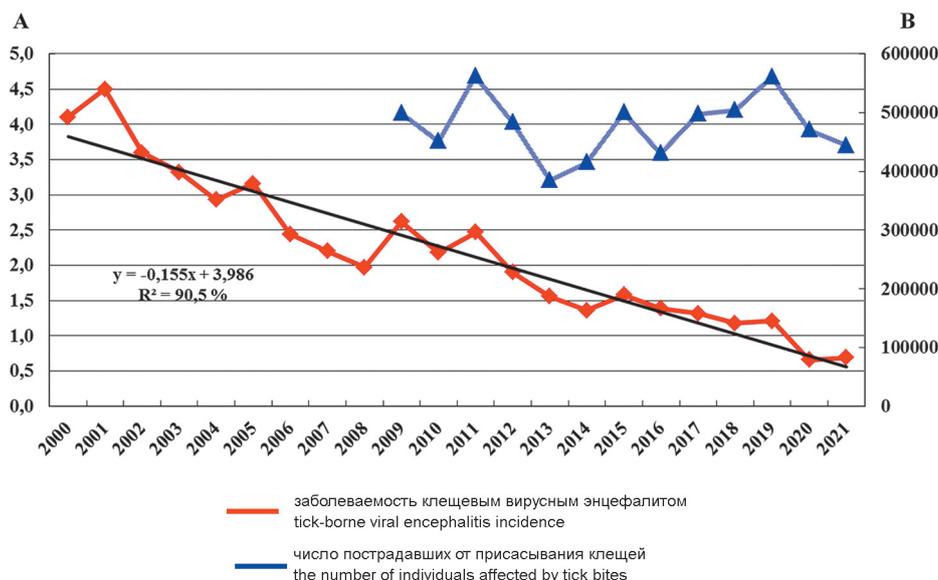


Рис. 1. Изменение заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом за 2000–2021 гг. (A – левая ось ординат, ‰) и числа пострадавших от присасывания клещей за 2009–2021 гг. (B – правая ось ординат в абсолютных значениях) в Российской Федерации

Fig. 1. Changes in tick-borne viral encephalitis morbidity rate over 2000–2021 (A – left ordinate axis in ‰) and tick bite casualty toll in 2009–2021 (B – right ordinate axis in absolute values) in the Russian Federation

ставил 1,5 ‰ (рис. 1). За это время показатель заболеваемости снижался со среднегодовым темпом 6,2 %. Резкое падение уровня заболеваемости после 2019 г. совпадает с характером изменения числа контактов людей с переносчиком и, вероятно, этим обусловлено. В свою очередь триггером изменения числа пострадавших от присасывания клещей могли стать как естественные процессы, так и меры неспецифической профилактики инфекции и/или социальные факторы, обусловленные введением режима самоизоляции граждан в период пандемии COVID-19 и перераспределением объемов оказания медицинской помощи в пользу больных этой инфекцией.

В соответствии с «Перечнем административных территорий субъектов Российской Федерации эндемичных по клещевому вирусному энцефалиту в 2020 году» (приложение к письму Роспотребнадзора

от 17.02.2021 № 02/3025-2021-32) эндемичными по КВЭ являются 48 субъектов страны, входящих в состав семи федеральных округов (ФО). Кроме того, в декабре 2021 г. зарегистрировано пять случаев КВЭ (0,05 ‰) на неэндемичной территории Ставропольского края Северо-Кавказского федерального округа (СКФО).

На рис. 2 сопоставлен вклад эндемичных ФО в заболеваемость КВЭ по материалам 2011–2020 гг. (рис. 2, A) и по данным 2021 г. (рис. 2, B). Как и ранее [1], определяющую роль в формировании заболеваемости КВЭ по стране имеют (в порядке убывания): Сибирский (СФО), Уральский (УФО), Северо-Западный (СЗФО) федеральные округа (рис. 2, A). В 2021 г. ранги эпидемиологической роли этих субъектов не изменились (рис. 2, B), однако вклад в общую заболеваемость КВЭ у СФО снизился на 9 %, а у УФО – вырос.

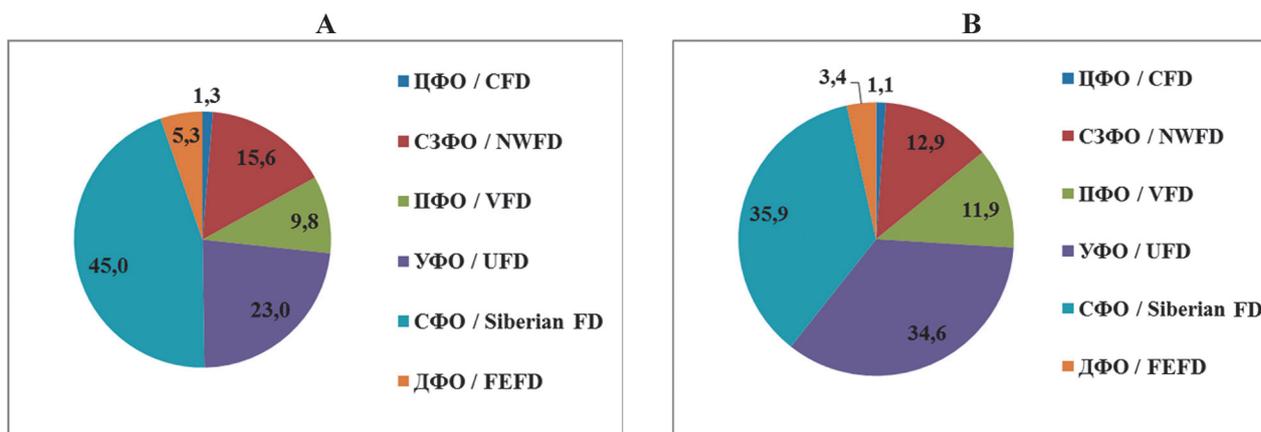


Рис. 2. Доля больных клещевым вирусным энцефалитом в эндемичных федеральных округах страны от общей заболеваемости (%): A – по материалам за 2011–2020 гг.; B – по материалам за 2021 г. ЦФО – Центральный федеральный округ (ФО); СЗФО – Северо-Западный ФО; ПФО – Приволжский ФО; УФО – Уральский ФО; СФО – Сибирский ФО; ДФО – Дальневосточный ФО. Данные по Южному федеральному округу при используемом масштабе не визуализируются

Fig. 2. The share of tick-borne encephalitis patients in the endemic federal districts of the country out of overall morbidity (%): A – according to data collected for the period of 2011–2020; B – according to the evidence for 2021. CFD – Central Federal District (FD); NWFD – North-Western FD; VFD – Volga FD; UFD – Ural FD; SFD – Siberian FD; FEFD – Far Eastern FD. The data for the Southern Federal District are not visualized at the scale used

В 2021 г. только в 42 субъектах РФ (в 2020 г. – в 38) из 48 эндемичных и в двух неэндемичных (г. Москва – Центральный ФО (ЦФО), Ставропольский край – СКФО) регистрировали случаи КВЭ. Всего за этот год в РФ выявлено 1015 больных КВЭ (в том числе 165 детей). Показатель инцидентности составил $0,69 \text{ ‰}$. Снижение заболеваемости КВЭ в 2021 г. (по отношению к СМП_{2011–2020}) характерно для большинства эндемичных территорий страны. Увеличение произошло в Кировской области (с 7,3 до $8,5 \text{ ‰}$), Республике Коми (с 1,6 до $1,9 \text{ ‰}$), Оренбургской (с 0,28 до $0,41 \text{ ‰}$) и Нижегородской (с 0,08 до $0,16 \text{ ‰}$) областях.

Дифференцирование субъектов РФ на основе анализа СМП_{2011–2020} инцидентности КВЭ позволило выделить группы низкого, среднего и высокого риска по уровню заболеваемости. Объем статьи не позволяет подробно описать каждый субъект, поэтому в работе приведены данные преимущественно по территориям, которые вносят наибольший вклад в заболеваемость КВЭ в стране или регионе.

К субъектам высокого эпидемиологического риска отнесены Красноярский ($12,5 \text{ ‰}$) и Алтайский ($9,3 \text{ ‰}$) края, Томская область ($9,2 \text{ ‰}$) – все три региона входят в СФО.

В группу со средним уровнем заболеваемости (от 3,0 до $8,9 \text{ ‰}$) включены: в ЦФО – Костромская область ($4,4 \text{ ‰}$); в СЗФО – Республика Карелия ($4,4 \text{ ‰}$), Вологодская ($5,0 \text{ ‰}$) и Архангельская ($5,2 \text{ ‰}$) области; в Приволжском ФО (ПФО) – Удмуртская Республика ($3,8 \text{ ‰}$), Пермский край ($5,8 \text{ ‰}$), Кировская область ($7,3 \text{ ‰}$); в УФО – Курганская ($5,1 \text{ ‰}$) и Тюменская ($5,3 \text{ ‰}$) области; в СФО – Иркутская ($4,1 \text{ ‰}$), Кемеровская ($4,6 \text{ ‰}$) и Новосибирская ($5,5 \text{ ‰}$) области, республики Хакасия ($6,5 \text{ ‰}$) и Тыва ($8,2 \text{ ‰}$); в Дальневосточном ФО (ДФО) – Забайкальский край ($4,1 \text{ ‰}$) и Республика Бурятия ($4,3 \text{ ‰}$).

Группа субъектов с низким уровнем заболеваемости (от 0 до $2,9 \text{ ‰}$) включает: в ЦФО – Ярославскую ($0,9 \text{ ‰}$), Тверскую ($0,5 \text{ ‰}$), Ивановскую ($0,2 \text{ ‰}$) и Московскую ($0,0 \text{ ‰}$) области; в СЗФО – Республику Коми ($1,6 \text{ ‰}$), Ленинградскую ($1,4 \text{ ‰}$), Псковскую ($1,4 \text{ ‰}$), Калининградскую ($1,1 \text{ ‰}$) и Новгородскую ($0,8 \text{ ‰}$) области, г. Санкт-Петербург ($1,0 \text{ ‰}$); в Южном ФО (ЮФО) – Республику Крым ($0,05 \text{ ‰}$), г. Севастополь ($0,0 \text{ ‰}$); в ПФО – республики Башкортостан ($0,9 \text{ ‰}$), Марий Эл ($0,1 \text{ ‰}$) и Татарстан ($0,0 \text{ ‰}$), Оренбургскую ($0,3 \text{ ‰}$), Ульяновскую ($0,1 \text{ ‰}$), Нижегородскую ($0,1 \text{ ‰}$) и Самарскую ($0,1 \text{ ‰}$) области; в УФО – Свердловскую ($2,9 \text{ ‰}$) и Челябинскую ($2,5 \text{ ‰}$) области, Ханты-Мансийский автономный округ – Югру ($0,8 \text{ ‰}$); в СФО – Омскую область ($1,7 \text{ ‰}$) и Алтайский край ($1,5 \text{ ‰}$); в ДФО – Приморский ($1,2 \text{ ‰}$) и Хабаровский ($0,4 \text{ ‰}$) края, Еврейскую автономную область ($0,5 \text{ ‰}$), Сахалинскую ($0,5 \text{ ‰}$) и Амурскую ($0,3 \text{ ‰}$) области.

Внутри субъектов эпидемиологическая обстановка по КВЭ крайне неоднородна, и для формирования риск-ориентированного подхода к профилактике болезни необходим анализ эпидемического процесса на уровне административных территорий (АТ) субъектов РФ.

По методу Дженкса (последовательные итерации состава кластеров, минимизирующие внутриклассовую дисперсию [10] по заболеваемости КВЭ, выполненные в программе QGIS 2.18.28 с набором открытых геоданных OpenStreetMap) СМП_{2011–2020} инцидентности КВЭ в 917 АТ эндемичных по КВЭ субъектов РФ ранжированы и распределены в пять групп, различающихся по уровню эпидемиологического риска. Показано, что более 65 % районов страны формируют зону низкого эпидемиологического риска КВЭ (с инцидентностью от 0,0 до $3,6 \text{ ‰}$). АТ с высоким и очень высоким эпидемиологическим риском включены в третью – пятую группы (заболеваемость выше 10 ‰). На их долю приходится немногим более 13 % от числа всех исследованных районов.

Центральный федеральный округ. В ЦФО из 18 субъектов эндемичными по КВЭ являются пять (27,8 %). В этом ФО отсутствует значимый тренд к снижению заболеваемости (таблица). СМП_{2011–2020} инцидентности составил ($0,16 \pm 0,017 \text{ ‰}$).

Наибольший вклад в заболеваемость КВЭ в ЦФО вносит Костромская область: эндемичны все АТ субъекта; СМП_{2011–2020} инцидентности в три раза выше ($4,4 \pm 0,33 \text{ ‰}$), чем по РФ, причем отсутствует тенденция к его снижению.

Несколько лучше эпидемиологическая обстановка в Тверской (эндемичны 12 АТ из 37 – 32,4 %; СМП_{2011–2020} – $0,48 \text{ ‰}$) и Ярославской (8 АТ из 23 – 34,8 %; СМП_{2011–2020} – $0,32 \text{ ‰}$) областях. СМП_{2011–2020} инцидентности КВЭ в этих субъектах ниже, чем в РФ, а в Тверской области, кроме того, наблюдается значимое снижение заболеваемости. В 2021 г. и в Ярославской области инцидентность КВЭ упала в четыре раза по отношению к СМП_{2011–2020} – до $0,08 \text{ ‰}$.

В Московской (эндемичны две АТ из 53 – 3,4 %) и Ивановской (эндемичны три 3 из 27 – 11,1 %) областях КВЭ проявляется спорадически и не ежегодно. Например, в Московской области больных не регистрируют два последних года.

Особого внимания заслуживает анализ обстановки в Москве. Территория города относится к неэндемичной. Однако известно, что в его зеленой зоне обитают клещи рода *Ixodes*, и недавно подтвержден местный случай заражения КВЭ [11, 12]. В 2021 г. вновь зарегистрирован больной КВЭ ($0,01 \text{ ‰}$), информация о месте инфицирования которого на данный момент отсутствует. За эпидемиологический сезон 2021 г. в ЦФО выявлено 29 случаев КВЭ ($0,07 \text{ ‰}$), т.е. фактически показатели остались на уровне 2020 г. ($0,06 \text{ ‰}$).

Северо-Западный федеральный округ. Из 11 субъектов, входящих в СЗФО, Мурманская об-

Среднедолгосрочные показатели заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом на территории Российской Федерации: средние значения за 2011–2020 гг., данные за 2021 г. и прогноз на 2022 г. с учетом 95 % доверительного интервала возможной вариации ожидаемых значений

The long-term average annual rate of tick-borne viral encephalitis morbidity in the territory of the Russian Federation: mean values over the period of 2011–2020, data for 2021 and forecast for 2022 with regard to 95 % confidence interval of possible variation in expected values

Российская Федерация (РФ) и федеральные округа Russian Federation (RF) and Federal Districts (FD)	Заболеваемость КВЭ				95 % ДИ вариации ожидаемого значения: нижняя ↔ верхняя границы, ‰ 95 % CI of expected value variations: lower ↔ upper limits, ‰	Наличие значимого тренда на снижение (↓) заболеваемости КВЭ за 2012–2021 гг. Significant downward trend (↓) in TBVE incidence in 2012–2021
	СМП _{2011–2020} , ‰ Long-term average indicators for 2011–2020, ‰	2021 г., ‰ 2021, ‰	2021 г., число случаев 2021, number of cases	Прогноз на 2022 г. ± ошибка среднего значения Forecast for 2022 ± mean value error		
РФ / RF	1,46±0,151	0,69	1015	0,64±0,192	0,20↔1,1	тренд ↓ / trend ↓
ЦФО / Central FD	0,16±0,017	0,07	29	0,14±0,019	0,1↔0,2	нет / no
СЗФО / North-Western FD	1,92±0,151	0,79	110	0,86±0,333	0,1↔1,6	тренд ↓ / trend ↓
ЮФО / South FD	0,05±0,021	0,01	1	спорадическая / sporadic		нет / no
ПФО / Volga FD	1,20±0,140	0,73	213	0,59±0,388	0,0↔1,5	тренд ↓ / trend ↓
УФО / Ural FD	2,83±0,479	2,12	262	2,35±0,154	2,0↔2,7	нет / no
СФО / Siberian FD	5,62±0,591	2,20	378	2,21±0,761	0,5↔4,0	тренд ↓ / trend ↓
ДФО / Far Eastern FD	1,79±0,181	0,21	17	0,54±0,469	0,0↔1,6	тренд ↓ / trend ↓

ласть и Ненецкий автономный округ эндемичны по КВЭ. В СЗФО наблюдается значимый тренд к снижению заболеваемости (таблица). СМП_{2011–2020} инцидентности КВЭ равен (1,9±0,15) ‰, т.е. несколько выше, чем по стране. Наибольший вклад в заболеваемость КВЭ в СЗФО вносят Архангельская (5,1±0,73 ‰) и Вологодская (5,0±0,51 ‰) области, а также Республика Карелия (4,4±0,36 ‰). В остальных субъектах СЗФО СМП_{2011–2020} заболеваемости населения КВЭ ниже, чем в РФ.

Отметим, что в эндемичной Мурманской области за 2011–2020 гг. зарегистрировано девять случаев, а в Ненецком автономном округе – один больной КВЭ. Однако все заболевшие инфицированы вирусом не в субъекте проживания.

За 2021 г. в СЗФО выявлено 110 случаев КВЭ (0,79 ‰). Их максимум наблюдали в Архангельской области (29) и г. Санкт-Петербурге (25). В разрезе АТ наибольшая инцидентность КВЭ зарегистрирована в Верхнетоемском (32,1 ‰) и Кич-Городецком (26,3 ‰) районах Архангельской области.

Южный федеральный округ. Из восьми субъектов эндемичны по КВЭ два: Республика Крым и г. Севастополь.

В Республике Крым эндемичными являются 9 АТ из 25 (36 %). За 2011–2020 гг. в республике выявлено 10 случаев КВЭ с колебаниями инцидентности по годам от 0,0 до 0,16 ‰, т.е. заболеваемость проявляется спорадично и не ежегодно.

В 2021 г. зарегистрирован один больной КВЭ (0,05 ‰). Таким образом, характер эпидемического процесса на территории республики не изменился, и нет оснований ожидать ухудшения эпидемиологической обстановки (таблица).

В г. Севастополе за десять лет больных КВЭ не выявлено.

Приволжский федеральный округ. Эндемичными по КВЭ являются 10 из 14 субъектов, входящих в ПФО (71 % районов). СМП_{2011–2020} заболеваемости КВЭ составил (1,2±0,14) ‰ при наличии значимой тенденции к снижению (таблица).

Наиболее неблагоприятная эпидемиологическая обстановка наблюдается в трех субъектах: в Кировской области (СМП_{2011–2020} равен 7,3±0,93 ‰; суммарное число случаев – 934), Пермском крае (5,8±0,86 ‰; 1503) и Удмуртской Республике (3,9±0,51 ‰; 565). Причем в Кировской области отсутствует тенденция к снижению заболеваемости.

В остальных семи эндемичных по КВЭ субъектах ПФО случаи заболеваний носят нерегулярный, спорадический характер, с низким уровнем инцидентности.

За 2021 г. в ПФО выявлено 213 случаев КВЭ (0,73 ‰): в Кировской области – 108, Пермском крае – 41 и Удмуртской Республике – 29. К АТ с наиболее высокой инцидентностью КВЭ относятся три района Кировской области: Даровский (34,1 ‰), Афанасьевский (24,7 ‰) и Свечинский (23,2 ‰).

Уральский федеральный округ. Из шести субъектов УФО только Ямало-Ненецкий автономный округ не является эндемичным по КВЭ. За 2011–2020 гг. в УФО зарегистрировано 3454 больных КВЭ (2,8±0,48) ‰. При этом отсутствует статистически значимая тенденция к снижению КВЭ (таблица). В настоящее время роль УФО в формировании заболеваемости по стране выросла и уступает лишь СФО (рис. 2, А и В).

Максимум СМП_{2011–2020} инцидентности КВЭ зарегистрирован в Тюменской (5,3±1,06 ‰; число случаев – 751) и Курганской (5,1±1,63 ‰; 450) областях. Несколько лучше эпидемиологическая обстановка в Свердловской и Челябинской областях.

Низкая заболеваемость КВЭ наблюдается лишь в Ханты-Мансийском автономном округе – Югре (ХМАО), где значительные территории малоприспособлены для обитания иксодовых клещей.

В разрезе АТ наибольший эпидемиологический риск связан с Абатским (22,1^{0/0000}) и Сорокинским (23,5^{0/0000}) районами Тюменской области и Мокроусовским (20,8^{0/0000}) районом Курганской области.

В 2021 г. в УФО выявлено 262 случая КВЭ (2,1^{0/0000}). Во всех эндемичных субъектах УФО, кроме Курганской области, произошло увеличение заболеваемости КВЭ по сравнению с 2020 г. Необходим анализ мест инфицирования или причины позднего срока подтверждения диагноза семи случаев КВЭ в декабре 2021 г. (0,06^{0/0000}): пяти – в Челябинской области, двух – в ХМАО.

Сибирский федеральный округ. В СФО эндемичными по КВЭ являются все десять субъектов. Уже много лет в этом ФО наблюдается самая высокая заболеваемость в стране: СМП_{2011–2020} инцидентности составил (5,6±0,59)^{0/0000}; число случаев – 10157 (таблица). При этом мы не учитывали заболеваемость КВЭ за 2011–2020 гг. в Республике Бурятия и Забайкальском крае, так как с 2018 г. они входят в состав ДФО. Статистически значимое снижение заболеваемости КВЭ в СФО является важным фактором улучшения эпидемиологической обстановки в РФ.

Во всех субъектах СФО СМП_{2011–2020} инцидентности КВЭ выше, чем в РФ. Субъекты СФО, ранжированные по этому показателю в порядке убывания, образуют ряд: Красноярский край (12,5±1,51^{0/0000}; число случаев – 3573; эндемичны 57 АТ из 61), Республика Алтай (9,3±1,33^{0/0000}; число случаев – 197; все 11 АТ эндемичны), Томская область (9,2±1,73^{0/0000}; число случаев – 973; все 20 АТ эндемичны), Республика Тыва (8,2±1,42^{0/0000}; число случаев – 258; 13 АТ из 18 эндемичны), Республика Хакасия (6,5±1,13^{0/0000}; число случаев – 345; 10 АТ из 13 эндемичны), Новосибирская область (5,5±0,45^{0/0000}; число случаев – 1488; 23 АТ из 33 эндемичны), Кемеровская область (4,6±0,35^{0/0000}; число случаев – 1255; все 34 АТ эндемичны), Иркутская область (4,1±0,38^{0/0000}; число случаев – 1001; 30 АТ из 36 эндемичны), Омская область (1,7±0,28^{0/0000}; число случаев – 337; 16 АТ из 33 эндемичны), Алтайский край (1,5±0,18^{0/0000}; число случаев – 357; все 68 АТ эндемичны). Во всех субъектах СФО, кроме Кемеровской области и Республики Тыва, наблюдается значимый тренд к снижению СМП_{2011–2020} инцидентности КВЭ.

При анализе заболеваемости в АТ максимумы СМП_{2011–2020} инцидентности КВЭ наблюдали в Красноярском крае: Каратузский (69,7^{0/0000}), Манский (49,1^{0/0000}) районы, городской округ Дивногорск (63,0^{0/0000}) и в Иркутской области – городской округ Иркутск (44,6^{0/0000}).

В 2021 г. в СФО зарегистрировано 378 случаев КВЭ (2,2^{0/0000}). Больше всего людей заболело в Красноярском крае – 124. Максимум инцидентности зафиксирован в Республике Алтай – 7,3^{0/0000}. Рост

заболеваемости КВЭ по отношению к 2020 г. наблюдался в республиках Алтай, Тыва, Хакасия, а также в Алтайском крае.

Дальневосточный федеральный округ. Из 11 субъектов ДФО неэндемичны по КВЭ четыре: Камчатский край, Магаданская область, Республика Саха (Якутия), Чукотский автономный округ. Большая часть территорий этих субъектов (кроме Камчатского края) находится в климатических зонах, неблагоприятных для обитания иксодовых клещей. Вместе с тем в Республике Саха (Якутия) наблюдается рост числа случаев присасывания клещей к людям [7]. Рядом специалистов ранее высказано мнение, что на Крайнем Севере существуют природные очаги клещевого энцефалита, циркуляция вируса в которых поддерживается клещами гнездоворонового комплекса с участием *I. persulcatus* [5].

За десять лет в ДФО зарегистрировано 1150 случаев КВЭ (1,8±0,18)^{0/0000}. Наблюдается значимый тренд к снижению заболеваемости (таблица).

Наиболее неблагоприятная эпидемиологическая обстановка по КВЭ наблюдается в Республике Бурятия (СМП_{2011–2020} 4,4±0,51^{0/0000}; число случаев – 425) и Забайкальском крае (СМП_{2011–2020} 3,6±0,38^{0/0000}; число случаев – 387). Вместе с тем в этих субъектах уровень заболеваемости статистически значимо снижается.

Особого надзора за обстановкой по КВЭ требуют пять АТ эндемичных территорий ДФО. В Республике Бурятия: Знаменский (СМП_{2011–2020} 27,0±0,78^{0/0000}), Тункинский (17,2±3,22^{0/0000}) и Кабанский (10,2±2,65^{0/0000}) районы [13]. В Забайкальском крае: Красночикийский (24,9±3,83^{0/0000}) и Петровск-Забайкальский (19,5±3,87^{0/0000}) районы [14].

В остальных эндемичных по КВЭ субъектах ДФО эпидемиологическая обстановка в 2011–2020 гг. лучше, чем в РФ: Приморский край (1,2±0,11^{0/0000}; число случаев – 224; эндемичны все 32 АТ); Еврейская автономная область (0,5±0,19^{0/0000}; число случаев – 9; эндемичны все 6 АТ); Сахалинская область (0,49±0,141^{0/0000}; число случаев – 24; эндемичны 15 АТ из 18); Хабаровский край (0,41±0,06^{0/0000}; число случаев – 55; эндемичны 16 АТ из 19); Амурская область (0,29±0,118^{0/0000}; число случаев – 24; эндемичны 16 АТ из 28).

Данные о заболеваемости КВЭ в 2021 г. подтверждают достаточно устойчивую эпидемиологическую обстановку на территории ДФО. Всего выявлено 17 больных при инцидентности КВЭ – 0,21^{0/0000}.

Особенности эпидемического сезона 2021 г. За год пострадало от присасывания клещей в 83 субъектах РФ 446282 человека (304,1^{0/0000}). Несмотря на абсолютное преобладание трансмиссивного пути передачи вируса, зарегистрировано 6 случаев заражения КВЭ алиментарным путем: в Кировской (3 случая), Архангельской (1), Кемеровской (1) и Свердловской (1) областях.

Первый случай КВЭ в 2021 г. выявлен во второй декаде апреля в Республике Бурятия (ДФО), а 15 по-

следних больных – в декабре (в ЦФО, СКФО, ПФО и УФО). Требуется изучения причина поздних случаев регистрации (или подтверждения диагноза) болезни, особенно в СКФО, территория которого не относится к эндемичной по КВЭ. Наибольшая сезонная заболеваемость (41,7 %) наблюдалась в июле. В июне и августе зарегистрировано по 22,7 и 18,2 % случаев КВЭ соответственно.

По данным, поступившим в Референс-центр по мониторингу за клещевым вирусным энцефалитом, в структуре клинических проявлений КВЭ преобладали лихорадочная (59,7 %) и менингеальная (24,3 %) формы. Далее по мере убывания: менингоэнцефалитическая (11,2 %), субклиническая (2,6 %), полиомиелитическая (2,1 %), полирадикулоневритическая (0,25 %). Сравнительный анализ материалов о клинических проявлениях КВЭ за 2019–2021 гг. показывает, что их структура за этот период практически не изменилась.

За сезон зарегистрировано 14 летальных исходов от КВЭ: в Архангельской и Оренбургской областях – по два; в Костромской, Вологодской, Кировской, Челябинской, Кемеровской, Новосибирской областях, республиках Башкортостан и Хакасия, Красноярском и Приморском краях – по одному. Причинами летальных исходов явились позднее обращение инфицированных за медицинской помощью, отсутствие вакцинации против КВЭ, наличие сопутствующих заболеваний.

Случаи КВЭ выявлены среди работающего населения (32,8 %), пенсионеров (28,7 %) и неработающих лиц (21,2 %). Доля больных из других социальных групп (дети, студенты) – 17,3 %. Городское население болело КВЭ чаще (67,1 %), чем сельское (32,7 %).

В ходе эпидемиологического расследования на территории 21 субъекта РФ выявлено 54 случая КВЭ завозного характера: в Москве и Санкт-Петербурге – по шесть больных; в Новосибирской области – пять; в Республике Татарстан и Тюменской области – по четыре; в Кемеровской, Нижегородской, Томской областях, ХМАО – по три; в Омской, Новгородской областях, Красноярском крае – по два; в Курганской, Мурманской, Оренбургской, Ульяновской, Ярославской областях, Пермском крае, республиках Коми и Крым – по одному случаю. Заражение произошло при посещении людьми эндемичных территорий других регионов страны, а также во время пребывания за границей (в Республике Беларусь, Финляндии, Швеции).

Лабораторная экспресс-диагностика КВЭ.

На наличие маркеров вируса КВЭ в РФ исследовано более 309 тыс. экземпляров иксодовых клещей, удаленных с людей, и около 51 тыс. – с объектов окружающей среды. В 71,5 % исследований использован метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), в 28,5 % – иммуноферментного анализа (ИФА). Вирусофорность клещей, снятых с людей, составила в среднем в 2021 г. 1,9 % в ИФА (СМП_{2015–2020} равен

3,6 %) и 0,72 % в ПЦР (СМП_{2015–2020} – 0,74). При сборе переносчиков из природных стадий также наблюдали сезонное снижение инфицированности клещей вирусом по отношению к СМП_{2015–2020}: в ИФА – 1,9 % (СМП_{2015–2020} – 2,3 %), в ПЦР – 0,31 % (СМП_{2015–2020} – 0,78 %). Подчеркнем, что за 2015–2021 гг. методом ИФА выявлена статистически значимая тенденция к снижению вирусофорности клещей, снятых с людей, а также схожая тенденция изменения их инфицированности при исследовании в ПЦР, что согласуется с предшествующими наблюдениями [1] и может являться одним из факторов снижения заболеваемости КВЭ в РФ.

Меры профилактики КВЭ. Комплекс мероприятий, включающий вакцинацию, экстренную этиотропную серопротекцию и неспецифические меры, с учетом риск-ориентированного подхода успешно применяется на эндемичных по КВЭ территориях РФ. Следует отметить, что объемы всех профилактических мероприятий в 2021 г. возросли по отношению к 2020 г.

Наиболее эффективной мерой профилактики КВЭ является вакцинация. В 2021 г. в стране вакцинировано 2889515 человек (включая 1433850 детей), из них 41807 отметили присасывание клеща, причем 14 заболели (0,03 %). Вместе с тем показатель манифестных случаев болезни среди непривитых лиц составил 0,25 % (1004 заболевших из 403438 пострадавших от присасывания клещей и невакцинированных). Таким образом, заболеваемость КВЭ среди привитых лиц в 8,3 раза меньше, чем у невакцинированных.

Специфический иммуноглобулин применен для профилактики инфекции у 100704 человек, что составляет 22,6 % от числа контактировавших с клещами (у детей – для 30,6 %). Несмотря на определенный дефицит специфического иммуноглобулина, в ряде субъектов его назначают, вероятно, без учета анализа клеща на инфицированность. Об этом свидетельствует значительно больший охват серопротекцией лиц, обратившихся после присасывания клеща в медицинские организации Тюменской области (95,6 %) и ХМАО (64,7 %).

Акарицидные обработки выполнены на оперативной площади в 233125 га территорий социально значимых объектов. Важность этой меры профилактики определяется ее универсальностью по отношению к вирусным и бактериальным инфекциям. Во всех эндемичных по КВЭ федеральных округах произошло увеличение площадей акарицидных работ по сравнению с 2020 г., особенно сильное – в ДФО. Вместе с тем в ряде субъектов плановые показатели по объему работ не выполнены. Наибольшее отставание допущено в Псковской области, Санкт-Петербурге и Севастополе. Несмотря на высокую эффективность акарицидных обработок, зарегистрировано три случая присасывания клещей на территориях летних оздоровительных учреждений в 2021 г.: в Тульской области, Республике Калмыкия и на территории, на-

ходящейся в ведении Управления Роспотребнадзора по железнодорожному транспорту.

Важными элементами мер неспецифической профилактики являются использование населением индивидуальных средств защиты от присасывания иксодовых клещей, в том числе противоклещевых костюмов, а также санитарно-гигиеническое просвещение жителей эндемичных по КВЭ субъектов и АТ. Правила поведения людей в лесу на эндемичных территориях в сезон активности иксодовых клещей доводятся до населения через средства массовой информации. В 2021 г. в РФ проведено 2129 выступлений по телевидению и 2857 – по радио, опубликовано 5973 статьи в печатных изданиях, тираж листовок превысил 615 тыс. Наиболее активно пропаганда знаний о КВЭ и мерах профилактики болезни осуществлялась в СФО, ПФО и УФО.

Прогноз заболеваемости КВЭ на 2022 г.

Прогноз заболеваемости проведен методом экстраполяции тенденций, выявленных во временных рядах изменений СМП_{2011–2020} инцидентности КВЭ за десять лет наблюдений (базовый период). При этом допускается, что в очередной эпидемиологический сезон параметры изменения инцидентности КВЭ сохраняют особенности, отмеченные при анализе базового периода наблюдений. Использован ранее примененный алгоритм расчета прогнозных величин [1]. Результаты прогноза отражены в таблице.

Расчет ожидаемой заболеваемости КВЭ в РФ на 2022 г. показывает, что инцидентность КВЭ составит $(0,64 \pm 0,192) /_{0000}$ при 95 % границах доверительного интервала возможных изменений от 0,2 до $1,1 /_{0000}$. Тренд на снижение заболеваемости отсутствует в ЦФО, ЮФО и УФО. Причем в ЮФО заболеваемость носит спорадический характер. Наибольшая инцидентность КВЭ, как и в прежние годы, ожидается в СФО ($2,21 \pm 0,761) /_{0000}$ и УФО ($2,35 \pm 0,154) /_{0000}$. Таким образом, эпидемиологическая обстановка по КВЭ в РФ в краткосрочной перспективе останется стабильной. На территории ЦФО и ряда субъектов ДФО (Амурская, Еврейская автономная и Сахалинская области) заболеваемость КВЭ вскоре может приобрести спорадический характер. Однако важно отметить, что прогноз заболеваемости КВЭ реализуется при отсутствии на эндемичных территориях существенных отклонений в многолетнем характере действия абиотических (температура, высота снежного покрова, количество осадков и т.д.), биотических (обилие прокормителей клещей, их инфицированность), антропогенных (наличие поллютантов, процессы урбанизации, изменение ландшафтов и т.п.) и социально-экономических факторов (изменение уровня жизни людей, пандемия COVID-19, которая влияет на занятость и характер перемещения населения по АТ субъектов и страны).

Несмотря на ожидаемое снижение заболеваемости КВЭ в РФ в 2022 г., на эндемичных территориях необходимо проводить комплекс мер профилактики.

На территориях со спорадической заболеваемостью КВЭ и с ее низким уровнем (ниже СМП инцидентности, наблюдаемой в РФ) объемы существующих профилактических мер можно считать достаточными. Однако в зонах с высоким уровнем инцидентности КВЭ профилактические работы должны быть усилены и требуется увеличить их адресность.

Необходима разработка алгоритма оценки эпидемиологической обстановки на территориях малонаселенных АТ субъектов РФ, так как при низком числе жителей показатель инцидентности имеет смещенную оценку (завышенную). В этом случае важен анализ числа случаев КВЭ, повторяемости их регистрации во времени. АТ с высокой инцидентностью КВЭ и практически ежегодной регистрацией больных требуют особого внимания. На их территории должна быть проведена массовая вакцинация населения (включая детей), которая, по мнению экспертов Всемирной организации здравоохранения, необходима при уровне заболеваемости КВЭ, равной и выше $5 /_{0000}$ [15]. В остальных случаях достаточно прививать от КВЭ лиц контингента риска.

Серопротекция КВЭ в РФ осуществляется единственным препаратом – донорским иммуноглобулином человека. Эту работу необходимо проводить в соответствии с имеющимися инструкциями по применению и с учетом индивидуального исследования вирусофорности клеща, что делается не во всех субъектах. Поэтому важной фундаментальной и прикладной проблемой остается поиск и/или синтез новых соединений, лишенных недостатков препаратов из крови человека и способных обеспечить эффективную и высокоспецифичную профилактику и/или терапию КВЭ.

Объемы акарицидных работ на эндемичных по КВЭ территориях должны быть пропорциональны уровню контактов местного населения с иксодовыми клещами. При этом важно учитывать данные о заболеваемости жителей района иксодовыми клещевыми боррелиозами, так как на некоторых территориях возможно проявление преимущественно или исключительно этой инфекции (например, Камчатский край, г. Москва). Ввиду отсутствия в РФ вакцин от бактериальных инфекций, передающихся клещами, значение проведения акарицидных работ и других мероприятий неспецифической профилактики на территории таких АТкратно возрастает, и их отмена является недопустимой.

Таким образом, не только рост объемов используемых мер профилактики КВЭ, но и увеличение адресности их применения на основе риск-ориентированного подхода, особенно в субъектах РФ и АТ с высоким уровнем заболеваемости, позволят обеспечить дальнейшее улучшение эпидемиологической обстановки на территории РФ.

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

Список литературы

1. Андаев Е.И., Никитин А.Я., Яценко Е.В., Веригина Е.В., Толмачёва М.И., Аюгин Н.И., Матвеева В.А., Балахонов С.В. Тенденции развития эпидемиологического процесса клещевого вирусного энцефалита в Российской Федерации, лабораторная диагностика, профилактика и прогноз на 2021 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 1:6–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-6-16.

2. Randolph S.E., Rogers D.J. Tick-borne disease systems: mapping geographic and phylogenetic space. *Adv. Parasitol.* 2006; 62:263–91. DOI: 10.1016/S0065-308X(05)62008-8.

3. Holding M., Schmitt H.-J., Ellsbury G. TBE in United Kingdom. Chapter 12b. In: Dobler G., Erber W., Bröker M., Schmitt H.-J., eds. *The TBE Book*. 3rd ed. Singapore: Global Health Press; 2020. DOI: 10.33442/26613980_12b35-3.

4. Рудакова С.А., Пенъевская 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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 2:52–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-52-61.

5. Егоров И.Я., Марамонович А.С., Ботвинкин А.Д., редакторы. Эпидемиологический надзор за особо опасными и природноочаговыми инфекциями в условиях Крайнего Севера. Якутск; 2000. 341 с.

6. Khasnatinov M.A., Liapunov A.V., Manzarova E.L., Kulakova N.V., Petrova I.V., Danchinova G.A. The diversity and prevalence of hard ticks attacking human hosts in Eastern Siberia (Russian Federation) with first description of invasion of non-endemic tick species. *Parasitol. Res.* 2016; 115(2):501–10. DOI: 10.1007/s00436-015-4766-7.

7. Vladimirov L.N., Machakhtyrov G.N., Machakhtyrova V.A., Louw A.S., Sahu N., Yunus A.P., Avtar R. Quantifying the northward spread of ticks (*Ixodida*) as climate warms in Northern Russia. *Atmosphere*. 2021; 12:233–48. DOI: 10.3390/atmos12020233.

8. Елисеева И.И., Юзбашев М.М. Общая теория статистики: учебник. М.: Финансы и статистика; 2006. 656 с.

9. Adelshin R.V., Sidorova E.A., Bondaryuk A.N., Trukhina A.G., Sherbakov D.Yu., White Iii R.A., Andaev E.I., Balakhonov S.V. “886-84-like” tick-borne encephalitis virus strains: Intraspecific status elucidated by comparative genomics. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019; 10(5):1168–72. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2019.06.006.

10. Jenks G.F. The data model concept in statistical mapping. *International Yearbook Cartography*. 1967; 7:186–90.

11. Янковская Я.Д., Шашина Н.И. Защита детей от нападения иксодовых клещей. *Пест-менеджмент*. 2019; 2:30–3. DOI: 10.25732/PM.2019.110.2.005.

12. Makenov M., Karan L., Shashina N., Akhmetshina M., Zhurenkova O., Kholodilov I., Karganova G., Smirnova N., Grigoreva Y., Yankovskaya Y., Fyodorova M. First detection of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* ticks and their rodent hosts in Moscow, Russia. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019; 10(6):101265. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2019.101265.

13. Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А. Туризм и проблема «клещевых» инфекций в Республике Бурятия. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015; 14(5):36–43. DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-5-36-43.

14. Туранов А.О., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Балахонов С.В., Шашина Н.И. Дифференциация территории Забайкальского края по заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:108–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-108-114.

15. Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper – Recommendations. *Vaccine*. 2011; 29(48):8769–70. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.07.024.

References

1. Andaev E.I., Nikitin A.Ya., Yatsmenko E.V., Verigina E.V., Tolmacheva M.I., Ayugin N.I., Matveeva V.A., Balakhonov S.V. [Trends in epidemic process development of tick-borne encephalitis in the Russian Federation, laboratory diagnosis, prophylaxis and forecast for 2021]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):6–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-6-16.

2. Randolph S.E., Rogers D.J. Tick-borne disease systems: mapping geographic and phylogenetic space. *Adv. Parasitol.* 2006; 62:263–91. DOI: 10.1016/S0065-308X(05)62008-8.

3. Holding M., Schmitt H.-J., Ellsbury G. TBE in United Kingdom. Chapter 12b. In: Dobler G., Erber W., Bröker M., Schmitt H.-J., eds. *The TBE Book*. 3rd ed. Singapore: Global Health Press; 2020. DOI: 10.33442/26613980_12b35-3.

4. 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]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (2):52–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-52-61.

5. Egorov I.Ya., Maramovich A.S., Botvinkin A.D., editors. [Epidemiological Surveillance Over Dangerous and Natural-Focal Infections under High North Conditions]. Yakutsk; 2000. 341 p.

6. Khasnatinov M.A., Liapunov A.V., Manzarova E.L., Kulakova N.V., Petrova I.V., Danchinova G.A. The diversity and prevalence of hard ticks attacking human hosts in Eastern Siberia (Russian Federation) with first description of invasion of non-endemic tick species. *Parasitol. Res.* 2016; 115(2):501–10. DOI: 10.1007/s00436-015-4766-7.

7. Vladimirov L.N., Machakhtyrov G.N., Machakhtyrova V.A., Louw A.S., Sahu N., Yunus A.P., Avtar R. Quantifying the northward spread of ticks (*Ixodida*) as climate warms in Northern Russia. *Atmosphere*. 2021; 12:233–48. DOI: 10.3390/atmos12020233.

8. Eliseeva I.I., Yuzbashev M.M. [General Theory of Statistics: textbook]. Moscow; 2006. 656 p.

9. Adelshin R.V., Sidorova E.A., Bondaryuk A.N., Trukhina A.G., Sherbakov D.Yu., White Iii R.A., Andaev E.I., Balakhonov S.V. “886-84-like” tick-borne encephalitis virus strains: Intraspecific status elucidated by comparative genomics. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019; 10(5):1168–72. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2019.06.006.

10. Jenks G.F. The data model concept in statistical mapping. *International Yearbook Cartography*. 1967; 7:186–90.

11. Yankovskaya Ya.D., Shashina N.I. [Protection of children against ixodic ticks infestation]. *Pest-Management*. 2019; (2):30–3. DOI: 10.25732/PM.2019.110.2.005.

12. Makenov M., Karan L., Shashina N., Akhmetshina M., Zhurenkova O., Kholodilov I., Karganova G., Smirnova N., Grigoreva Y., Yankovskaya Y., Fyodorova M. First detection of tick-borne encephalitis virus in *Ixodes ricinus* ticks and their rodent hosts in Moscow, Russia. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019; 10(6):101265. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2019.101265.

13. Danchinova G.A., Lyapunov A.V., Khasnatinov M.A. [Tourism and the problem of tick-borne infections in the Republic of Buryatia]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2015; 14(5):36–43. DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-5-36-43.

14. Turanov A.O., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Balakhonov S.V., Shashina N.I. [Differentiation of Trans-Baikal Territory by tick-borne viral encephalitis incidence]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):108–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-108-114.

15. Vaccines against tick-borne encephalitis: WHO position paper – Recommendations. *Vaccine*. 2011; 29(48):8769–70. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.07.024.

Authors:

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

Yatsmenko E.V. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

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

Turanov A.O. Center of Hygiene and Epidemiology in Trans-Baikal Territory. 70, Leningradskaya St., Chita, 672000, Russian Federation. E-mail: cge@megalink.ru.

Об авторах:

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

Яценко Е.В. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский пер., 18, стр. 5 и 7.

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

Туранов А.О. Центр гигиены и эпидемиологии в Забайкальском крае. Российская Федерация, 672000, Чита, ул. Ленинградская, 70. E-mail: cge@megalink.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-24-34

УДК 616.932:614.4

А.К. Носков¹, В.Д. Кругликов¹, Э.А. Москвитина¹, Е.В. Монахова¹, Л.В. Миронова², А.А. Крицкий³,
А.А. Лопатин⁴, О.С. Чемисова¹, Е.Г. Соболева¹, С.М. Иванова⁴, А.С. Водопьянов¹, С.И. Стенина¹,
Р.В. Писанов¹, Д.А. Левченко¹, О.А. Подойницына¹, Н.Б. Непомнящая¹, М.И. Ежова¹

ХОЛЕРА: ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА В 2021 г., ПРОГНОЗ НА 2022 г.

¹ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация;
²ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск,
Российская Федерация; ³ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов,
Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

Цель работы – обобщение результатов мониторинга холеры в 2021 г., оценка современных тенденций развития эпидемического процесса и прогнозирование эпидемиологической ситуации в Российской Федерации на 2022 г. В период 2012–2021 гг. в мире зарегистрировано 4117264 случая холеры с распространением инфекции в 83 странах всех континентов с тенденцией снижения заболеваемости в странах Азии и Африки. Динамика месячной заболеваемости в 2021 г. связана с чрезвычайными ситуациями как факторами эпидемиологического риска. Эпидемии и вспышки холеры регистрировались на фоне пандемии COVID-19 и представляли двойную нагрузку для систем здравоохранения. Вместе с тем обобщение результатов мониторинга холеры на территориях субъектов РФ показало, что прогноз об эпидемическом благополучии на 2021 г. полностью оправдался. Определено, что увеличение количества нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 (67), выделенных из водных объектов, по сравнению с 2020 г. (25) в основном связано с принадлежностью ряда изолятов к клональным комплексам. Изучение филогенетических связей продемонстрировало, что обнаружение штаммов, имеющих генотипы, которые уже выявлялись у выделенных в предыдущие годы, свидетельствовало об их персистентном потенциале. Выявление штаммов с новыми генотипами, которые ранее устанавливались у штаммов, циркулирующих на других территориях, указывало на возможность их периодических завозов. Прогноз эпидемиологической ситуации по холере в России на 2022 г. связан с продолжением существования рисков завоза. При отсутствии реализации данных эпидемиологических рисков прогнозируется стабильная эпидемиологическая обстановка по этой инфекции на территории страны. Предполагается продолжение обнаружения в водных объектах окружающей среды эпидемически незначимых штаммов холерных вибрионов O1 серогруппы, в том числе их клонов и/или клональных комплексов, включая штаммы, которые могут явиться этиологическим фактором спорадических случаев или вспышек заболеваний.

Ключевые слова: холера, эпидемический процесс, *Vibrio cholerae* O1, эпидемиологическая ситуация, нетоксигенные штаммы, генотипирование, филогенетические связи, прогноз.

Корреспондирующий автор: Кругликов Владимир Дмитриевич, e-mail: vdkru58@mail.ru.

Для цитирования: Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В., Миронова Л.В., Крицкий А.А., Лопатин А.А., Чемисова О.С., Соболева Е.Г., Иванова С.М., Водопьянов А.С., Стенина С.И., Писанов Р.В., Левченко Д.А., Подойницына О.А., Непомнящая Н.Б., Ежова М.И. Холера: тенденции развития эпидемического процесса в 2021 г., прогноз на 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:24–34. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-24-34
Поступила 19.01.2021. Принята к публ. 28.02.2022.

A.K. Noskov¹, V.D. Kruglikov¹, E.A. Moskvitina¹, E.V. Monakhova¹, L.V. Mironova², A.A. Kritsky³,
A.A. Lopatin⁴, O.S. Chemisova¹, E.G. Soboleva¹, S.M. Ivanova⁴, A.S. Vodop'yanov¹, S.I. Stenina¹,
R.V. Pisanov¹, D.A. Levchenko¹, O.A. Podoinitsyna¹, N.B. Nepomnyashchaya¹, M.I. Ezhova¹

Cholera: Trends in the Development of the Epidemic Process in 2021, Forecast for 2022

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;
²Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;
³Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;
⁴Plague Control Center, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to summarize the results of cholera monitoring in 2021, to assess current trends in the development of the epidemic process, and to predict the epidemiological situation in the Russian Federation for 2022. It was established that within the period of 2012–2021, 4117264 cases of cholera with the spread of infection across 83 countries on all continents were registered in the world and there was a downward trend in the incidence in Asia and Africa. The dynamics of monthly morbidity in 2021 was associated with emergencies as factors of epidemiological risk. Epidemics and outbreaks of cholera were documented against the background of COVID-19 pandemic and laid a double burden on healthcare systems. At the same time, based on the overview of the results of cholera monitoring in the constituent entities of the Russian Federation, it was shown that the forecast of epidemic well-being given for 2021 was fully justified. It has been determined that the increase in the number of non-toxicogenic strains of *Vibrio cholerae* O1 (67) isolated from water bodies compared to 2020 (25) is mainly due to the appurtenance of a number of isolates to clonal complexes. The study of phylogenetic relation has demonstrated that the detection of strains with genotypes which were previously identified in the isolates evidences the persistence potential. The identification of strains with new genotypes, which were earlier established in the strains circulating in other territories, pointed at the possibility of the occasional im-

portations. The forecast of the epidemiological situation on cholera in Russia for 2022 is associated with the continuous existence of risks of introduction. If these epidemiological risks are not realized, a favorable epidemiological situation is predicted regarding this infection in the country. It is expected that the detection of epidemiologically insignificant strains of *V. cholerae* O1 in environmental water bodies, along with their clones and/or clonal complexes, will remain, including strains that may be an etiological factor in sporadic cases or outbreaks of disease.

Key words: cholera, epidemic process, *Vibrio cholerae* O1, epidemiological situation, non-toxigenic strains, genotyping, phylogenetic relations, forecast.

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

Corresponding author: Vladimir D. Kruglikov, e-mail: vdkru58@mail.ru.

Citation: Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Monakhova E.V., Mironova L.V., Kritsky A.A., Lopatin A.A., Chemisova O.S., Soboleva E.G., Ivanova S.M., Vodop'yanov A.S., Stenina S.I., Pisanov R.V., Levchenko D.A., Podoinitsyna O.A., Nepomnyashchaya N.B., Ezhova M.I. Cholera: Trends in the Development of the Epidemic Process in 2021, Forecast for 2022. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:24–34. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-24-34

Received 19.01.2021. Accepted 28.02.2022.

Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-05502221>
 Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>
 Moskvitina E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5020-1466>
 Monakhova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9216-7777>
 Mironova L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8481-6442>
 Kritsky A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5506-4285>
 Lopatin A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5426-3311>
 Chemisova O.S., ORCID: <https://orcid.org/000-0002-4059-2878>
 Soboleva E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7571-7848>

Ivanova S.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-1875>
 Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>
 Stenina S.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4879-6717>
 Pisanov R.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>
 Levchenko D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5073-2918>
 Podoinitsyna O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9996-4189>
 Nepomnyashchaya N.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0868-6791>
 Ezhova M.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4254-3313>

Холера остается актуальной проблемой для здравоохранения ряда стран мира с учетом регистрации непрогнозируемых вспышек, крупномасштабных эпидемий на фоне чрезвычайных ситуаций (ЧС) различного происхождения в странах Азии (Йемен, Бангладеш, Индия, Непал), Африки (Нигерия, Нигер, Демократическая Республика Конго (ДРК), Мозамбик и др.), ранее в странах Карибского бассейна (Гаити). Природные чрезвычайные ситуации, приравненные к стихийным бедствиям (засухи и наводнения), и продолжающаяся пандемия COVID-19 усугубляют социальные проблемы [1–7]. Внутри-, межгосударственная и межконтинентальная миграция населения, играющая основную роль в генезе вспышек и эпидемий на различных континентах, продолжает определять эпидемиологические риски завоза холеры в Россию.

Цель работы состояла в оценке современных тенденций развития эпидемического процесса, обобщении результатов мониторинга холеры в 2021 г. и прогнозировании эпидемиологической ситуации в Российской Федерации на 2022 г.

Тенденции развития эпидемического процесса при холере в мире за период 2012–2021 гг. и эпиде-

миологические риски, связанные с возможностью завоза холеры на территорию России. При мониторинге холеры в мире установлено, что за рассматриваемый временной период ВОЗ информировала о 4117264 случаях холеры с распространением инфекции в 83 странах всех континентов: в Африке – в 36 странах, Азии – 24, Америке – 10, Европе – 11 и Австралии с Океанией – 2. В структуре заболеваемости холерой наибольший удельный вес приходился на Азию – 68,7 % (2829443), в Африке он составил 23,8 % (979923), в Америке – 7,5 % (307761), Европе – 0,003 % (118) и Австралии с Океанией – 0,0005 % (19) [8–15]. Летальность в 2021 г. в мире – 1,4 %, в Африке – 2,9 %, Азии – 0,03 %. В динамике заболеваемости холерой с 2012 по 2021 год выявлена тенденция снижения с прогнозом на один год (коэффициент аппроксимации $R^2=0,5123$) (рис. 1).

Тренды на снижение заболеваемости определены в Азии ($R^2=0,5587$) и Африке ($R^2=0,4084$). При среднем многолетнем показателе заболеваемости в мире 6,598 $\frac{0}{0000}$, в Азии он составил 7,572 $\frac{0}{0000}$, в Африке – 12,307 $\frac{0}{0000}$, что было обусловлено ЧС различного происхождения, способствующими активизации и функционированию эпидемического процес-

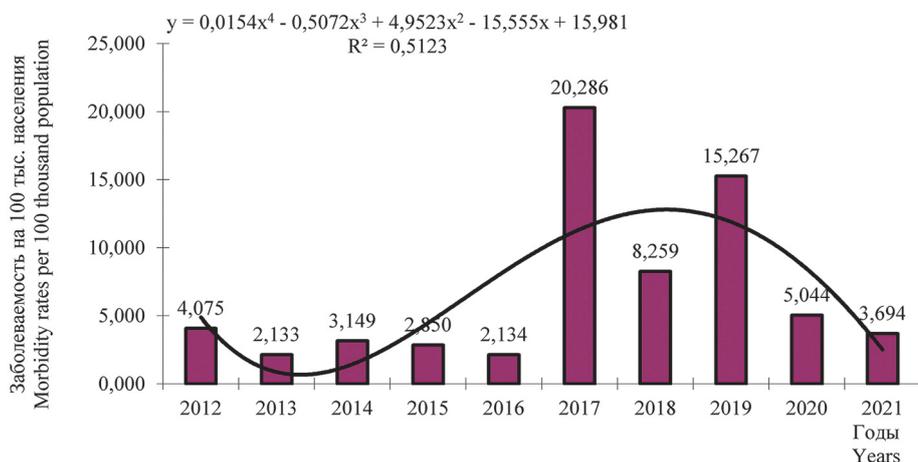


Рис. 1. Динамика заболеваемости холерой в мире, 2012–2021 гг.

Fig. 1. Dynamics of cholera incidence in the world, 2012–2021

са на указанных континентах. Установлена взаимосвязь между динамикой месячной заболеваемости в 2021 г. и имевшими место ЧС, природными и социальными условиями как факторами эпидемиологического риска. Так, рост заболеваемости относительно среднемесячного уровня ($0,236 \text{ }^0/_{0000}$) с июня ($0,348 \text{ }^0/_{0000}$) по октябрь ($0,386 \text{ }^0/_{0000}$) был обусловлен продолжающимися во времени и по территориям эпидемиями в Нигерии, Нигере, ДРК и Йемене на фоне ЧС социального (политическая и экономическая нестабильность, внутренняя миграция населения), природного (ливни, наводнения с частичным или полным разрушением социальной инфраструктуры городов, в части, касающейся водоснабжения и водоотведения) характера, других социальных и природных условий и, как следствие, гуманитарных кризисов.

Небезынтересно отметить, что после февраля 2019 г. холеру в Гаити, которая определяла интенсивность заболеваемости в Америке, регионе Карибского бассейна и мире (с 2011 г.), не регистрировали при продолжающемся гуманитарном кризисе, ЧС природного происхождения (землетрясение, 2021 г.) и других социальных рисках [16].

За анализируемый период зарегистрировано 1591 завоз холеры, в том числе в страны Азии – 1244 (78,2 %), Африки – 143 (9,0 %), Америки – 89 (5,6 %), Европы – 99 (6,2 %) и Австралию с Океанией – 16 (1,0 %). Характерно, что в Азии и Африке завозы были в основном межгосударственными, в том числе трансграничными, как правило, с распространением инфекции; в Европе – без распространения.

Эпидемиологическая обстановка в мире характеризовалась наличием в Азии стойких (Индия, Бангладеш) и формированием вторичных эндемичных очагов в 14 административных территориях Непала и Йемена. По данным T. Zohra *et al.* [17], холера являлась эндемичной в Пакистане на основании обнаружения токсигенных штаммов *Vibrio cholerae* в сточных водах ряда регионов. В Африке выявлена 41 эндемичная административная территория в 16 странах Восточной (Зимбабве, Кения, Замбия, Сомали, Танзания, Уганда, Мозамбик, Малави, Эфиопия), Западной (Нигерия, Гана, Либерия), Центральной (Ангола, ДРК, Камерун) и Северной (Южный Судан) Африки. Молекулярно-биологическая характеристика штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, обусловивших эпидемии и вспышки на различных континентах (Азия, Африка) в последнее десятилетие, приведена в работах M.P. Bugayong *et al.* [18], S.R. Nayak *et al.* [19], E. Ekeng *et al.* [20], B.V. Pal *et al.* [21], A.M. Smith *et al.* [22], K.L. Thong *et al.* [23] и др.

Отмечены случаи холеры, обусловленные *V. cholerae* O139, в течение последних десяти лет в Бангладеш [24] и Индии [25]. Заслуживает внимания метаанализ клинических штаммов *V. cholerae* O1 из различных стран мира, показавший общую, относительно высокую устойчивость к тетрацикламам [26].

Необходимо подчеркнуть, что эпидемии и вспышки холеры регистрировались на фоне пандемии COVID-19 и представляли двойное бремя для систем здравоохранения Африки. При этом ущерб, вызванный пандемией COVID-19 на континенте, превышал все предыдущие и современные вспышки заболеваний с точки зрения масштабов и стойкости последствий [27]. Из-за отсутствия эффективного надзора и ослабления системы здравоохранения, поскольку усилия были направлены на борьбу с COVID-19, данные о вспышках холеры в большинстве африканских стран были ограничены и неопределенны [28]. M. Alsabri *et al.* [29] констатируют, что Йемен в условиях гуманитарного кризиса борется не только с COVID-19, но и с другими инфекциями, в том числе холерой, не имея ресурсов для решения социальных проблем.

Вместе с тем нельзя не отметить реализацию резолюции Семьдесят первой Всемирной ассамблеи здравоохранения (WHA71.4), пункт 11.2, 26 мая 2018 г., раздел «Профилактика холеры и борьба с ней», Глобальной дорожной карты, включающей мероприятия по улучшению водоснабжения, гигиены и санитарии (WASH), а также вакцинации, направленных на снижение бремени холеры в странах Азии и Африки [30–35].

Обобщение результатов мониторинга холеры в РФ в 2021 г., прогноз эпидемиологической ситуации на 2022 г. При эпидемиологическом мониторинге холеры на территории России в 2021 г. больных (вибрионосителей) холерой не зарегистрировано, как и выделения из объектов окружающей среды (ООС) эпидемически значимых штаммов *V. cholerae*.

Удельный вес изолированных нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1 серогруппы из водных объектов по точкам отбора за период 2012–2021 гг. приведен на рис. 2.

Установлено, что наибольший процент штаммов *V. cholerae* O1 приходился ежегодно на точки отбора проб в местах неорганизованного рекреационного водопользования. Отмечено снижение доли холерных вибрионов в местах организованного рекреационного водопользования и сброса хозяйственно-бытовых сточных вод и др. Приведенные результаты мониторинга контаминации *V. cholerae* O1 водных объектов указывают на оправданность существующей тактики эпидемиологического надзора в части, касающейся выявления потенциальных факторов эпидемиологического риска в реализации водного пути распространения возбудителя в случае завоза холеры. По аналитическим данным Референс-центра по мониторингу холеры (Ростовский-на-Дону противочумный институт) и Противочумного центра Роспотребнадзора, в 2021 г. в 10 субъектах РФ из ООС выделено 67 нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, т.е. в 2,7 раза больше, чем в 2020 г. [7]. Установлено, что 83,5 % штаммов изолировано на территориях субъектов, входящих в Южный федеральный округ (Республика

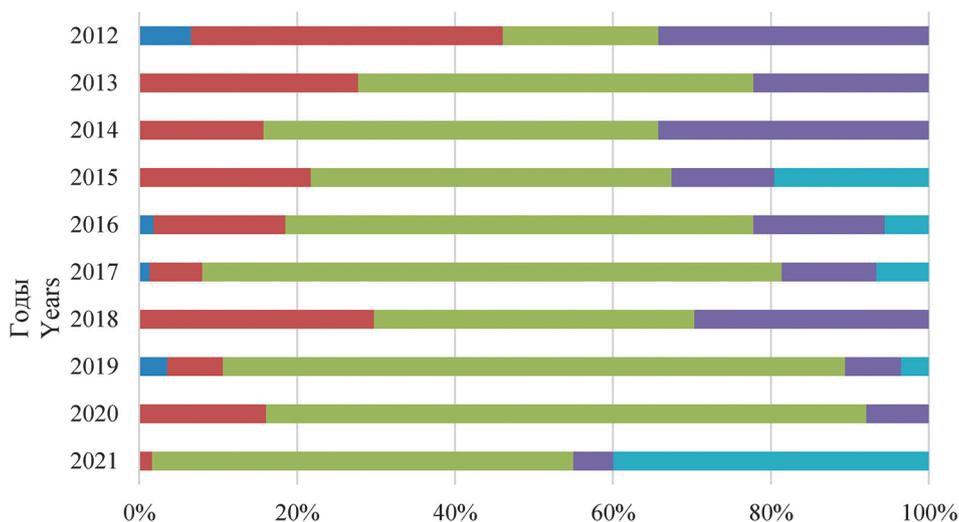


Рис. 2. Удельный вес штаммов *V. cholerae*, выделенных из водных объектов с учетом точек отбора проб. РФ, 2012–2021 гг.

Fig. 2. Specific gravity of *V. cholerae* strains isolated from water bodies taking into account sampling points. Russian Federation, 2012–2021

- зоны санитарной охраны поверхностных водоемов, используемых для централизованного питьевого водоснабжения
sanitary protection zones for surface water bodies used for centralized drinking water supply
- места организованного рекреационного водопользования
places of organized recreational water use
- места неорганизованного рекреационного водопользования
places of unorganized recreational water use
- места сброса хозяйственно-бытовых сточных вод
places of discharge of domestic wastewater
- точки по санитарно-гигиеническим и эпидемиологическим показаниям
points for sanitary-hygienic and epidemiological indications

Калмыкия – 15 штаммов; Ростовская область – 10; Республика Крым – 10) и Дальневосточный федеральный округ (Приморский край – 21 штамм). Выявлено, что обнаруженные штаммы были типичными по родовым и видовым свойствам, принадлежали к биовару Эль Тор. По сравнению с 2020 г., сохранилась тенденция количественного преобладания штаммов *V. cholerae* O1 El Tor, относящихся к серовару Инаба (64,2 %).

В результате скрининга по ПЦР-генотипам [36] показано, что выделенные штаммы разделились на две ветви: первая – с генетической характеристикой *ctxA-tcpA⁻*, а вторая – *ctxA-tcpA⁺*. Штаммы, отнесенные к первой ветви, представлены семью генотипами, объединенными в четыре кластера. Штаммы второй ветви принадлежали к одному ПЦР-генотипу.

При INDEL-типировании не выявлено новых генотипов среди штаммов 2021 г. по сравнению с установленными нами ранее [7]. При этом оказалось, что увеличение числа изолятов в 2021 г. связано с выявлением клональных комплексов. Так, штаммы (*ctxA-tcpA⁺*), выделенные в Ростовской области, распределились между двумя генотипами, которые встречались на данной территории ранее. Все штаммы, изолированные в Республике Крым, составляли один клон, прежде не установленный на данной территории. Однако штаммы с указанным генотипом циркулировали в предыдущие годы в водоемах

Ростовской и Свердловской областей, Приморского края и Республики Калмыкия. Все штаммы, выделенные в 2021 г. в Приморском крае, представляли собой один клон, так же как и три штамма, изолированных в Свердловской области. Штаммы, выделенные в Забайкальском крае, кроме одного, также имели один генотип. Среди штаммов, выделенных в водоемах Республики Калмыкия, были штаммы, которые имели генотипы, не встречавшиеся ранее на этой территории.

Итоги сравнительного анализа SNP-типирования [37] имеющихся на сегодняшний день полногеномных сиквенсов ДНК (WGSs) штаммов 2021 г. в сравнении с изолятами предшествующих лет представлены на дендрограмме (рис. 3).

Как видно из рис. 3, штаммы, выделенные в Ростовской области в 2020–2021 гг., сформировали общий кластер, дистанцированный от других штаммов, однако образовали две ветви, соответствующие клональным комплексам, выявленным при ПЦР- и INDEL-типировании. При этом в первую ветвь (2021 г.) попал также штамм, выделенный в этом регионе в 2018 г. Штаммы, выделенные в Республике Крым, распределились по четырем различным группам, что может быть следствием нескольких независимых заносов. Штаммы, изолированные в Свердловской области, были отнесены к одному клону и имели одинаковый генотип.

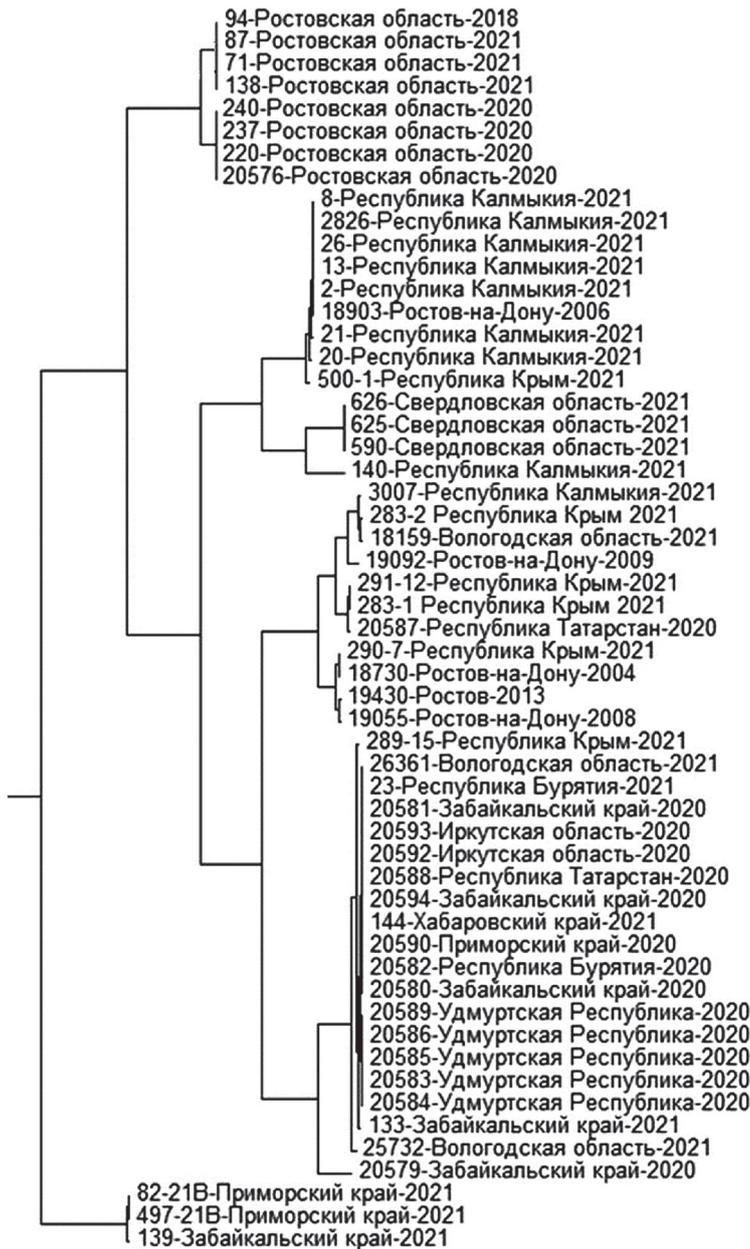


Рис. 3. Дендрограмма SNP-генотипов штаммов *V. cholerae* O1, выделенных в РФ

Fig. 3. Dendrogram of SNP-genotypes of *V. cholerae* O1 strains isolated in the Russian Federation

Штаммы из Республики Калмыкия распределились между двумя кластерами, они оказались близки штаммам из Ростовской и Свердловской областей, республик Татарстан и Крым. Генотипы штаммов из Вологодской области близки к таковым штаммов из Ростовской области и республик Крым и Калмыкия, а также штаммов из республик Бурятия, Татарстан, Иркутской области и Забайкальского края. Отдельный кластер образован штаммами 2020–2021 гг. из Бурятии, Татарстана, Иркутской области, Забайкальского и Приморского краев. Помимо этого, три штамма (два из Приморского и один из Забайкальского края) образовали отдельный кластер, существенно отличающийся от других изолятов.

С целью определения структуры детерминант факторов персистенции, обеспечивающих выживание вибрионов в ООС, и факторов патогенности,

определяющих их потенциальную опасность как возбудителей ОКИ, мы провели более подробный биоинформационный анализ на примере WGSs штаммов, выделенных в Ростове-на-Дону (4 изолята 2020 г., 3 – 2021 г. и 1 – 2018 г.). Как известно, многие из искомых факторов являются, по сути, факторами патогенности/персистенции, реализуя те или иные функции в разных экологических нишах.

По результатам Blast-поиска представители двух клональных комплексов содержали наборы интактных генов факторов патогенности/персистенции, перечисленных в таблице.

Все штаммы объединяло присутствие острова патогенности VPI с геном *tcpA* типа Эль Тор. Пили TCP являются не только ключевым фактором колонизации кишечника, но и способствуют биопленкообразованию на хитиновых поверхностях водных членистоногих [38], повышая таким образом персис-

Основные различия штаммов холерных вибрионов – представителей клональных комплексов по данным биоинформационного анализа полногеномных сиквенсов

Main differences between *Vibrio cholerae* strains – representatives of clonal complexes according to bioinformatics analysis of whole genome sequences

Детерминанты Determinants	Годы / Штаммы Years / Strains		
	2020 / 173, 220, 237, 240 (4 из 8) 2020 / 173, 220, 237, 240 (4 of 8)	2021 / 71, 87, 138 (3 из 10) 2021 / 71, 87, 138 (3 of 10)	2018 / 94 (единичный) 2018 / 94 (single)
Кластер T3SS Cluster T3SS	полный complete	–	–
Остров VPI-2 Island VPI-2	неполный incomplete	полный complete	полный complete
<i>nanH</i> *	66–67 SNP	pt	pt
<i>nagA</i> *	37 SNP	12 SNP	12 SNP
<i>vchC</i>	pt	Δ9пн без сдвига рамки Δ9bp without frame shift	Δ9пн без сдвига рамки Δ9bp without frame shift
<i>cytR</i> **	pt	11 SNP	11 SNP
<i>aphA</i> **	Δ8пн, усечен (342 пн) Δ8bp, truncated (342 bp)	pt (540 пн) pt (540 bp)	pt (540 пн) pt (540 bp)
Другие детерминанты, общие для всех штаммов и в большинстве идентичные Other determinants shared by all strains and mostly identical	остров VPI с геном <i>tcpA^{ET}</i> , основной и 3 дополнительных кластера T6SS, кластеры, ответственные за синтез цитотоксина MARTX и биопленкообразование <i>msh</i> , <i>vps1-rbm-vps2</i> , гены гемолизина <i>hlyA</i> , металлопротеаз <i>hapA</i> , <i>prtV</i> , сериновых протеаз <i>vesA</i> , <i>vesB</i> , <i>vesC</i> , <i>ivaP</i> , <i>rssP</i> цитотонического фактора/эстеразы <i>cef</i> , регуляторов <i>toxR</i> , <i>luxO</i> , <i>hapR</i> , <i>hns</i> , <i>cytR</i> , <i>vpsR</i> , <i>vpsT</i> VPI island with <i>tcpA^{ET}</i> gene, main and 3 auxilliary T6SS clusters, clusters responsible for synthesis of MARTX cytotoxin and biofilm formation <i>msh</i> , <i>vps1-rbm-vps2</i> , genes of hemolysin <i>hlyA</i> , metalloproteases <i>hapA</i> , <i>prtV</i> , serine proteases <i>vesA</i> , <i>vesB</i> , <i>vesC</i> , <i>ivaP</i> , <i>rssP</i> , cytotonic factor/esterase <i>cef</i> , regulators <i>toxR</i> , <i>luxO</i> , <i>hapR</i> , <i>hns</i> , <i>cytR</i> , <i>vpsR</i> , <i>vpsT</i>		
Отсутствующие у всех штаммов Absent in all strains	профаги CTX, preCTX, RS1, острова пандемичности VSP-1 и VSP-2, гены cholix-токсина <i>chxA</i> , термостабильного токсина <i>stn/sto</i> CTX, preCTX, RS1 prophages, pandemicity islands VSP-1 and VSP-2, genes of cholix toxin <i>chxA</i> , thermostable toxin <i>stn/sto</i>		

Примечания: pt – прототипные гены; Δ – делеция; * – гены *nan-nag*-области; ** – гены регуляторов транскрипции.

Notes: pt – prototype genes; Δ – deletion; * – genes from *nan-nag* region; ** – genes of transcription regulators.

тентный потенциал. Общим было и отсутствие ряда генетических маркеров (таблица). Вместе с тем имелись и различия по некоторым детерминантам, представленным разными аллелями.

Самым заметным отличием явилось наличие в WGSs штаммов 2020 г. кластера генов системы секреции третьего типа (T3SS), отсутствующего у штаммов 2021 и 2018 гг. Данный кластер содержал все гены регуляторов транскрипции, транслоконов и эффекторов, аллели которых отличались от таковых референс-штамма AM-19226 (AATY0200000000), но сохраняли интактность, что указывает на возможность их экспрессии. Известно, что эффекторы T3SS способствуют колонизации кишечника и вызывают тяжелую летальную диарею у лабораторных животных [39]. Высказывалось предположение о ее возможном вкладе в выживаемость вибрионов в водных ООС в ассоциации с их обитателями [40].

У представителей обоих клональных комплексов выявлены и кластеры другой контакт-зависимой системы секреции (T6SS): основные и три дополнительных [41] – Auh1, Auh2 и Auh3, тогда как Auh4 отсутствовал. Все перечисленные детерминанты T6SS с большой долей вероятности обеспечивают

экспрессию данной системы секреции, которая играет важную роль не только в персистенции, убивая конкурентные бактерии, способствуя колонизации хитина ракообразных и защищая от поедания одноклеточными хищниками [42], но и является мощным фактором патогенности, участвующим в колонизации кишечника и убивающим макрофаги [43].

Остров патогенности VPI-2 штаммов 2021 и 2018 гг. был полным, тогда как у клонов 2020 г. утратил протяженный дистальный участок, но сохранил *nan-nag*-область, ответственную за катаболизм и транспорт сиаловых кислот – источника углерода для питания как в ООС, так и в кишечнике [44]. Гены этой области различались по числу и локализации SNP у представителей двух комплексов.

У всех штаммов присутствовали интактные гены других факторов патогенности/персистенции, в большинстве своем идентичные либо близкие друг другу, кроме гена коллагеназы *vchC* штаммов 2021 и 2018 гг., содержащего делецию 9 п.н., не вызвавшую сдвига рамки считывания. С другой стороны, штаммы 2020 г. отличались усеченным геном глобального регулятора *aphA* в результате делеции 8 п.н., сдвига рамки и образования преждевременного стоп-кодона.

Таким образом, как показали данные анализа WGSs, представители обоих клональных комплексов, несмотря на некоторые различия, обладают наборами интактных детерминант факторов, обеспечивающих высокий персистентный потенциал. Очевидно, их экспрессия в совокупности с условиями ООС и явилась причиной довольно продолжительного присутствия в водоемах. Более того, не исключена и возможность переживания штамма 2018 г., который, не встретив в свое время благоприятных условий для размножения, каким-то образом сохранился и спустя три года дал начало клональному комплексу 2021 г. Все изученные штаммы представляют потенциальную опасность возникновения спорадических заболеваний либо локальных вспышек.

Проведенное специалистами Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока дополнительное молекулярно-генетическое исследование на основании MLVA-типирования по пяти локусам варибельных tandemных повторов [45] штаммов, выделенных из водоема в Приморском крае в 2021 г., подтвердило их принадлежность к одному клону: все штаммы входили в один кластер на дендрограмме (рис. 4). Характерной особенностью указанного кластера оказалось отсутствие амплификации локуса VcD. При этом, несмотря на относительно продолжительное (на протяжении двух недель) обнаружение холерного вибриона в пробах воды, изолированные штаммы характеризовались идентичным MLVA-генотипом (13_0_12_5_0) и лишь в одном случае идентифицирован однолокусный вариант с увеличенным числом повторов по VcA (14_0_12_5_0). Варианты холерно-

го вибриона с аллельным профилем, идентифицированным у приморских штаммов, ранее на территории Сибири и Дальнего Востока не обнаруживались. При реконструкции филогении с использованием глобальной выборки геномов *V. cholerae* группа штаммов из Приморского края также сформировала отдельный кластер в составе филогенетической линии L4, включающей выделенные на разных территориях в мире нетоксигенные варианты холерного вибриона. Кластер приморских штаммов дистанцирован от изолятов с других территорий Сибири и Дальнего Востока 2021 г. выделения. Уникальность молекулярно-генетических свойств клона *V. cholerae* O1 из р. Седанки Приморского края позволяет предполагать его заносное происхождение.

Изолированные в Забайкальском крае в 2021 г. два штамма *V. cholerae* O1 распределились на два самостоятельных генотипа как при MLVA-типировании, так и при полногеномном анализе. Следует отметить, что один из них по MLVA-профилю оказался идентичен изоляту из Республики Бурятия (2021 г.). Однако при полногеномном анализе, несмотря на принадлежность изолятов из Забайкальского края и Республики Бурятия к одному кластеру, штамм из Забайкальского края демонстрирует большее сходство с ранее выделенным (2019 г.) на указанной территории *V. cholerae* O1. Второй изолят из Забайкальского края входит в гетерогенную группу, включающую как ранее выделенные на данной территории штаммы, так и штаммы с других территорий, в том числе из Хабаровского края 2021 г.

Эпидемически незначимые штаммы *V. cholerae* O1 ежегодно выделяются из водных объектов в

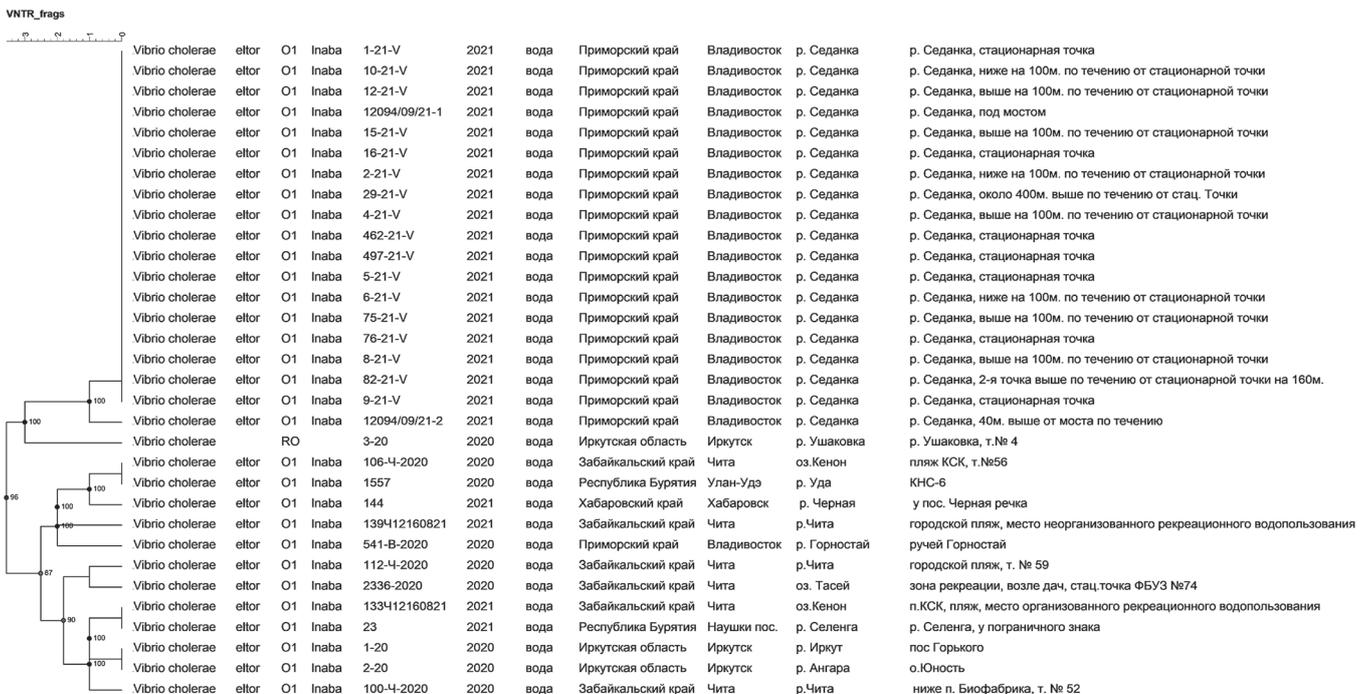


Рис. 4. Дендрограмма, построенная по алгоритму UPGMA на основании результатов MLVA-типирования штаммов *V. cholerae*, выделенных в 2020–2021 гг. на территории Сибири и Дальнего Востока

Fig. 4. Dendrogram built using the UPGMA algorithm based on the results of MLVA typing of *V. cholerae* strains isolated in Siberia and the Far East in 2020–2021

Республике Калмыкия. Результаты ретроспективного анализа свойств изолятов 2009–2018 гг., проведенного сотрудниками Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» с помощью SNP-типирования [46], показали их генетическое разнообразие и выявили циркулирующие на этой территории уникальные сиквенс-типы, что послужило основанием для предположения об их длительной персистенции. Наряду с этим установлена генетическая близость штаммов, отнесенных к генотипу *ctxA-tcpA*⁺*VPI-2Δ*⁺*VSP*⁻, (где *VPI-2Δ*⁺ означает наличие делеций в этом острове патогенности, а *VSP* – остров пандемичности), со штаммами, обнаруженными в эндемичных по холере регионах мира, что свидетельствует о вероятности их периодического завоза на территорию России. Проведенный нами сравнительный ПЦР-, INDEL- и SNP-анализ изолятов 2015–2021 гг. также позволил выявить как «персистирующие» генотипы, так и ранее не встречавшиеся в Калмыкии, но выделявшиеся в других регионах РФ, откуда и могли быть занесены [47].

Таким образом, результаты анализа тенденций развития эпидемического процесса по холере в мире дают основание отметить, что в 2022 г., несмотря на снижение заболеваемости в странах Африки и Азии, сохранятся эпидемиологические риски завоза инфекции на территорию России. Об этом свидетельствуют зарегистрированные в 2021 г. завозы холеры (1591 случай, в основном межгосударственный, в том числе трансграничный). Установлена взаимосвязь между динамикой месячной заболеваемости в 2021 г. и имевшими место факторами эпидемиологического риска – ЧС, связанными с природными и социальными условиями.

На основании обобщения и анализа результатов мониторинга холеры в РФ в 2021 г. следует отметить, что больных (вибрионосителей) холерой не зарегистрировано. Не зарегистрировано выделение из ООС эпидемически значимых штаммов *V. cholerae*. Увеличение количества выделенных из водных объектов эпидемически незначимых штаммов, по сравнению с предыдущим годом, связано с принадлежностью ряда изолятов к клональным комплексам, а не с расширением их пространственного распространения по субъектам. Обнаружение нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, имеющих генотипы, которые ранее уже выявлялись у штаммов, выделенных в предыдущие годы, а также повторные выделения из одного водного объекта штаммов, принадлежащих к одному клону (клональному комплексу), на наш взгляд, может свидетельствовать об их персистентном потенциале и о наличии в водоемах условий, способствующих сохранению холерных вибрионов. Обнаружение штаммов с новыми генотипами, т.е. не встречавшимися у штаммов, изолированных из ООС в конкретном субъекте РФ, но выявлявшимися у штаммов, циркулирующих на других территориях, указывает на возможность их периодических завозов. Следовательно, прогноз об эпидемическом

благополучии и стабильности эпидемиологической ситуации по холере на территориях субъектов РФ, данный на 2021 г., полностью оправдался.

Прогноз на 2022 г. состоит в том, что будут оставаться актуальными эпидемиологические риски, связанные с возможностью завоза инфекции на территорию страны. При отсутствии их реализации эпидемиологическая обстановка по холере в России будет характеризоваться стабильностью. С высокой долей вероятности предполагается продолжение обнаружения в водных объектах окружающей среды нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1-серогруппы, в том числе их клонов и/или клональных комплексов, включая штаммы, которые могут явиться этиологическим фактором спорадических случаев или вспышек.

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

Список литературы

1. Charnley G.E.C., Kelman I., Murray K.A. Drought-related cholera outbreaks in Africa and the implications for climate change: a narrative review. *Pathog. Glob. Health.* 2022; 116(1):3–12. DOI: 10.1080/20477724.2021.1981716.
2. Crise Humanitaire Complexe – République démocratique du Congo: Rapport hebdomadaire de Situation Semaine 33 (du 16 au 22 août 2021) 06 septembre 2021. [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/democratic-republic-congo/crise-humanitaire-complexe-r-publique-d-mocratique-du-congo-4> (дата обращения 09.09.2021).
3. Nigeria and Niger. Cholera outbreak. Crisis overview. [Электронный ресурс]. URL: https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/20211117_acaps_thematic_report_cholera_outbreak_in_niger_and_nigeria.pdf (дата обращения 23.11.2021).
4. Uganda: Floods, Landslides and Hailstorm. [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/MDRUG044dul1.pdf> (дата обращения 22.12.2021).
5. Uwishema O., Okereke M., Onyeaka H., Hasan M.M., Donatus D., Martin Z., Oluwatomisin L.A., Mhanna M., Olumide A.O., Sun J., Adanur I. Threats and outbreaks of cholera in Africa amidst COVID-19 pandemic: a double burden on Africa's health systems. *Trop. Med. Health.* 2021; 49(1):93. DOI: 10.1186/s41182-021-00376-2.
6. Owoicho O., Abechi P., Olwal C.O. Cholera in the era of COVID-19 pandemic: a worrying trend in Africa? *Int. J. Public Health.* 2021; 66:1604030. DOI: 10.3389/ijph.2021.1604030.
7. Носков А.К., Круликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В., Левченко Д.А., Янович Е.Г., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Непомнящая Н.Б., Ежова М.И., Подойнищина О.А. Характеристика эпидемиологической ситуации по холере в мире и в Российской Федерации в 2020 г. и прогноз на 2021 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 1:43–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-43-51.
8. Cholera, 2013. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2014; 89(31):345–356. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/wer/2014/wer8931.pdf?ua=1> (дата обращения 04.08.2014).
9. Cholera, 2014. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2015; 90(40):517–529. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/wer/2015/wer9040.pdf?ua=1> (дата обращения 05.10.2015).
10. Cholera, 2015. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2016; 91(38):433–440. [Электронный ресурс]. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250142/WER9138.pdf?sequence=1> (дата обращения 26.09.2016).
11. Cholera, 2016. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2017; 92(36):521–536. [Электронный ресурс]. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258910/WER9236.pdf?sequence=1> (дата обращения 11.09.2017).
12. Cholera, 2017. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2018; 93(38):489–497. [Электронный ресурс]. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274654/WER9338.pdf?ua=1> (дата обращения 24.09.2018).
13. Cholera, 2018. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2019; 94(48):561–580. [Электронный ресурс]. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274654/WER9448.pdf?ua=1> (дата обращения 01.12.2019).

14. Cholera, 2019. WklyEpidem. Rec. WHO. 2020; 95(37):441–448. [Электронный ресурс]. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/334241/WER9537-eng-fre.pdf?ua=1> (дата обращения 12.09.2020).
15. Cholera, 2020. WklyEpidem. Rec. WHO. 2021; 96(37):445–460. [Электронный ресурс]. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/334241/WER9537-eng-fre.pdf?ua=1> (дата обращения 29.09.2021).
16. Communicable disease threats report, 21–27 November 2021, week 47. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/communicable-disease-threats-report-21-27-november-2021-week-47> (дата обращения 29.11.2021).
17. Zohra T., Ikram A., Salman M., Amir A., Saeed A., Ashraf Z., Ahad A. Wastewater based environmental surveillance of toxigenic *Vibrio cholerae* in Pakistan. *PLoS One*. 2021; 16(9):e0257414. DOI: 10.1371/journal.pone.0257414.
18. Buggy M.P., Izumiya H., Bilar J.M., Morita M., Arakawa E., Saito-Obata M., Oshitani H., Ohnishi M. Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O1 isolates obtained from outbreaks in the Philippines, 2015–2016. *J. Med. Microbiol.* 2021; 70(11). DOI: 10.1099/jmm.0.001443.
19. Nayak S.R., Nayak A.K., Biswal B.L., Pati S., Pal B.B. Spread of Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 causing cholera outbreaks in Odisha, India. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2021; 74(2):137–43. DOI: 10.7883/yoken.JJID.2020.364.
20. Ekeng E., Tchatchouang S., Akenji B., Issaka B.B., Akintayo I., Chukwu C., Dano I.D., Melingui S., Ousmane S., Popoola M.O., Nzuouankeu A., Boum Y., Luquero F., Ahumbe A., Naidoo D., Azman A., Lessler J., Wohl S. Regional sequencing collaboration reveals persistence of the T12 *Vibrio cholerae* O1 lineage in West Africa. *Elife*. 2021; 10:e65159. DOI: 10.7554/eLife.65159.
21. Pal B.B., Mohanty A., Biswal B., Nayak S.R., Das B.K., Lenka P.P. Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 Ogawa caused cholera outbreaks in Odisha. *Indian J. Med. Microbiol.* 2021; 39(4):513–17. DOI: 10.1016/j.ijmmb.2021.03.019.
22. Smith A.M., Weill F.X., Njamkepo E., Ngomane H.M., Ramalwa N., Sekwadi P., Thomas J. Emergence of *Vibrio cholerae* O1 sequence type 75, South Africa, 2018–2020. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(11):2927–31. DOI: 10.3201/eid2711.211144.
23. Thong K.L., Tham K.B.L., Ngoi S.T., Tan S.C., Wan Yusoff W.N., Ahmad Hanapi R., Mohamad N., Teh C.S.J. Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains in Malaysia revealed genetically diverse variant lineages. *Transbound Emerg. Dis.* 2021; Nov 1. DOI: 10.1111/tbed.14368.
24. Parvin I., Shahid A.S.M.S.B., Das S., Shahrin L., Ackhter M.M., Alam T., Khan S.H., Chisti M.J., Clemens J.D., Ahmed T., Sack D.A., Faruque A.S.G. *Vibrio cholerae* O139 persists in Dhaka, Bangladesh since 1993. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2021; 15(9):e0009721. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009721.
25. Behera D.R., Nayak A.K., Nayak S.R., Nayak D., Swain S., Maharana P.K., Biswal B., Pany S., Pati S., Pal B.B. Genomic diversities of *ctxB*, *tcpA* and *rstR* alleles of *Vibrio cholerae* O139 strains isolated from Odisha, India. *Environ. Microbiol. Rep.* 2021; Oct 19. DOI: 10.1111/1758-2229.13016.
26. Ahmadi M.H. Global status of tetracycline resistance among clinical isolates of *Vibrio cholerae*: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2021; 10(1):115. DOI: 10.1186/s13756-021-00985-w.
27. Disease Surveillance, Emergency Preparedness and Response in Eastern and Southern Africa. [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/world/disease-surveillance-emergency-preparedness-and-response-eastern-and-southern-africa> (дата обращения 10.05.2021).
28. Hassan O.B., Nellums L.B. Cholera during COVID-19: The forgotten threat for forcibly displaced populations. *EClinicalMedicine*. 2021; 32:100753. DOI: 10.1016/j.eclim.2021.100753.
29. AlSabri M., Alhadheri A., Alsakkaf L.M., Cole J. Conflict and COVID-19 in Yemen: beyond the humanitarian crisis. *Global Health*. 2021; 17(1):83. DOI: 10.1186/s12992-021-00732-1.
30. Cholera prevention and control. Seventy-first world health assembly, Agenda item 11.2. 26 May 2018. [Электронный ресурс]. URL: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA71/A71_R4-en.pdf (дата обращения 23.09.2021).
31. Yemen Country Office Humanitarian Situation Report. [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/UNICEF%20Yemen%20Humanitarian%20Situation%20Report%20-%201-31%20May%202021.pdf> (дата обращения 19.07.2021).
32. Cholera, diarrhea & dysentery update (05): Africa. Archive Number: 20210326.8271347. [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8271347> (дата обращения 31.03.2021).
33. Borno state ministry of health – Cholera outbreak situation report No. 2 (6th September 2021). [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/nigeria/borno-state-ministry-health-cholera-outbreak-situation-report-no-2-6th-september-2021> (дата обращения 09.09.2021).
34. Ethiopia conducts an oral cholera vaccination campaign to protect populations in cholera affected districts. [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/ethiopia/ethiopia-conducts-oral-cholera-vaccination-campaign-protect-populations-cholera> (дата обращения 04.02.2021).
35. République Démocratique du Congo: Cluster Santé Sitrep S33 Aout 2021. [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/democratic-republic-congo/r-publique-d-mocratique-du-congo-cluster-sant-sitrep-s33-aout-2021> (дата обращения 01.09.2021).
36. Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Непомнящая Н.Б. Способ идентификации нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1 серогруппы с помощью ПШР для выделения генетических детерминант. Патент РФ № 2665542, опубл. 30.08.2018. Бюл. № 25.
37. Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Олейников И.П. Совершенствование методики SNP-типирования штаммов *Vibrio cholerae* на основе анализа первичных данных полногеномного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(6):587–93. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-9.
38. Reguera G., Kolter R. Virulence and the environment: a novel role for *Vibrio cholerae* toxin-coregulated pili in biofilm formation on chitin. *J. Bacteriol.* 2005; 187(10):3551–5. DOI: 10.1128/JB.187.10.3551-3555.2005.
39. Shin O.S., Tam V.C., Suzuki M., Ritchie J.M., Bronson R.T., Waldor M.K., Mekalanos J.J. Type III secretion is essential for the rapidly fatal diarrheal disease caused by non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae*. *mBio*. 2011; 2(3):e00106–11. DOI: 10.1128/mBio.00106-11.
40. Dziejman M., Serruto D., Tam V.C., Sturtevant D., Diraphat P., Faruque S.M., Rahman M.H., Heidelberg J.F., Decker J., Li L., Montgomery K.T., Grills G., Kucherlapati R., Mekalanos J.J. Genomic characterization of non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* reveals genes for a type III secretion system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005; 102(90):3465–70. DOI: 10.1073/pnas.0409918102.
41. Crisan C.V., Hammer B.K. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system: toxins, regulators and consequences. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(10): 4112–22. DOI: 10.1111/1462-2920.14976.
42. Pukatzki S., Provenzano D. *Vibrio cholerae* as a predator: lessons from evolutionary principles. *Front. Microbiol.* 2013; 4:384. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00384.
43. Blokesch M. Competence-induced type VI secretion might foster intestinal colonization by *Vibrio cholerae*: Intestinal interbacterial killing by competence-induced *V. cholerae*. *Bioessays*. 2015; 37(11):1163–68. DOI: 10.1002/bies.201500101.
44. Jermyn W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (*nanH*) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. *Microbiology (Reading)*. 2002; 148(Pt 11):3681–93. DOI: 10.1099/00221287-148-11-3681.
45. Миронова Л.В., Пономарева А.С., Хунхеева Ж.Ю., Гладких А.С., Балахонов С.В. Генетическое разнообразие *Vibrio cholerae* O1 El Tor при эпидемических осложнениях в Сибирском и Дальневосточном регионах. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2019; 37(4):165–72. DOI: 10.17116/molgen201937041165.
46. Крицкий А.А., Смирнова Н.И., Каляева Т.Б., Оброткина Н.Ф., Грачева И.В., Катышев А.Д., Кутырев В.В. Сравнительный анализ молекулярно-генетических свойств нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, изолированных в России и на эндемичных по холере территориях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 3:72–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-72-82.
47. Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Куриленко М.Л., Кругликов В.Д., Носков А.К. Эколого-эпидемиологические аспекты контаминации *V. cholerae* O1 водных объектов в Республике Калмыкия. *Здоровье населения и среда обитания – 3НУСО*. 2021; 29(12):79–86. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-12-79-86.

References

- Charnley G.E.C., Kelman I., Murray K.A. Drought-related cholera outbreaks in Africa and the implications for climate change: a narrative review. *Pathog. Glob. Health*. 2022; 116(1):3–12. DOI: 10.1080/20477724.2021.1981716.
- Crise Humanitaire Complexe – République démocratique du Congo: Rapport hebdomadaire de Situation Semaine 33 (du 16 au 22 août 2021) 06 septembre 2021. (Cited 9 Sept 2021) [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/democratic-republic-congo/crise-humanitaire-complexe-r-publique-d-mocratique-du-congo-4>.
- Nigeria and Niger. Cholera outbreak. Crisis overview. (Cited 11 Nov 2021) [Internet]. Available from: https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/20211117_acaps_thematic_report_cholera_outbreak_in_niger_and_nigeria.pdf.
- Uganda: Floods, Landslides and Hailstorm. (Cited 22 Dec 2021) [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/MDRUG044du1.pdf>.

5. Uwishema O., Okereke M., Onyeaka H., Hasan M.M., Donatus D., Martin Z., Oluwatomisin L.A., Mhanna M., Olumide A.O., Sun J., Adanur I. Threats and outbreaks of cholera in Africa amidst COVID-19 pandemic: a double burden on Africa's health systems. *Trop. Med. Health.* 2021; 49(1):93. DOI: 10.1186/s41182-021-00376-2.
6. Owoicho O., Abechi P., Olwal C.O. Cholera in the era of COVID-19 pandemic: a worrying trend in Africa? *Int. J. Public Health.* 2021; 66:1604030. DOI: 10.3389/ijph.2021.1604030.
7. Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Monakhova E.V., Levchenko D.A., Yanovich E.G., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Nepomnyashchaya N.B., Ezhova M.I., Podoinitsyna O.A. [Characteristics of the epidemiological situation on cholera in the world and in the Russian Federation in 2020 and forecast for 2021]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):43–51. (In Russ.) DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-43-51.
8. Cholera, 2013. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2014; 89(31):345–356. (Cited 9 Aug 2014) [Internet]. Available from: <https://www.who.int/wer/2014/wer8931.pdf?ua=1>.
9. Cholera, 2014. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2015; 90(40):517–529. (Cited 5 Oct 2015) [Internet]. Available from: <https://www.who.int/wer/2015/wer9040.pdf?ua=1>.
10. Cholera, 2015. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2016; 91(38):433–440. (Cited 26 Sept 2016) [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250142/WER9138.pdf?sequence=1>.
11. Cholera, 2016. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2017; 92(36):521–536. (Cited 11 Sept 2017) [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258910/WER9236.pdf?sequence=1>.
12. Cholera, 2017. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2018; 93(38):489–497. (Cited 24 Sept 2018) [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274654/WER9338.pdf?ua=1>.
13. Cholera, 2018. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2019; 94(48):561–580. (Cited 1 Dec 2019) [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274654/WER9448.pdf?ua=1>.
14. Cholera, 2019. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2020; 95(37):441–448. (Cited 12 Sept 2020) [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/334241/WER9537-engfre.pdf?ua=1>.
15. Cholera, 2020. *WklyEpidem. Rec. WHO.* 2021; 96(37):445–460. (Cited 29 Sept 2021) [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/334241/WER9537-engfre.pdf?ua=1>.
16. Communicable disease threats report, 21–27 November 2021, week 47. (Cited 29 Nov 2021) [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/communicable-disease-threats-report-21-27-november-2021-week-47>.
17. Zohra T., Ikram A., Salman M., Amir A., Saeed A., Ashraf Z., Ahad A. Wastewater based environmental surveillance of toxigenic *Vibrio cholerae* in Pakistan. *PLoS One.* 2021; 16(9):e0257414. DOI: 10.1371/journal.pone.0257414.
18. Bugayong M.P., Izumiya H., Bilal J.M., Morita M., Arakawa E., Saito-Obata M., Oshitani H., Ohnishi M. Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O1 isolates obtained from outbreaks in the Philippines, 2015–2016. *J. Med. Microbiol.* 2021; 70(11). DOI: 10.1099/jmm.0.001443.
19. Nayak S.R., Nayak A.K., Biswal B.L., Pati S., Pal B.B. Spread of Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 causing cholera outbreaks in Odisha, India. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2021; 74(2):137–43. DOI: 10.7883/yoken.JJID.2020.364.
20. Ekeng E., Tchatchouang S., Akenji B., Issaka B.B., Akintayo I., Chukwu C., Dano I.D., Melingui S., Ousmane S., Popoola M.O., Nzouankeu A., Boum Y., Luquero F., Ahumibe A., Naidoo D., Azman A., Lessler J., Wohl S. Regional sequencing collaboration reveals persistence of the T12 *Vibrio cholerae* O1 lineage in West Africa. *Elife.* 2021; 10:e65159. DOI: 10.7554/eLife.65159.
21. Pal B.B., Mohanty A., Biswal B., Nayak S.R., Das B.K., Lenka P.P. Haitian variant *Vibrio cholerae* O1 Ogawa caused cholera outbreaks in Odisha. *Indian J. Med. Microbiol.* 2021; 39(4):513–17. DOI: 10.1016/j.ijmm.2021.03.019.
22. Smith A.M., Weill F.X., Njamkepo E., Ngomane H.M., Ramalwa N., Sekwadi P., Thomas J. Emergence of *Vibrio cholerae* O1 sequence type 75, South Africa, 2018–2020. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(11):2927–31. DOI: 10.3201/eid2711.211144.
23. Thong K.L., Tham K.B.L., Ngoi S.T., Tan S.C., Wan Yusoff W.N., Ahmad Hanapi R., Mohamad N., Teh C.S.J. Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains in Malaysia revealed genetically diverse variant lineages. *Transbound Emerg. Dis.* 2021; Nov 1. DOI: 10.1111/tbed.14368.
24. Parvin I., Shahid A.S.M.S.B., Das S., Shahrin L., Ackhter M.M., Alam T., Khan S.H., Chisti M.J., Clemens J.D., Ahmed T., Sack D.A., Faruque A.S.G. *Vibrio cholerae* O139 persists in Dhaka, Bangladesh since 1993. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2021; 15(9):e0009721. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009721.
25. Behera D.R., Nayak A.K., Nayak S.R., Nayak D., Swain S., Maharana P.K., Biswal B., Pany S., Pati S., Pal B.B. Genomic diversities of *ctxB*, *tcpA* and *rstR* alleles of *Vibrio cholerae* O139 strains isolated from Odisha, India. *Environ. Microbiol. Rep.* 2021; Oct 19. DOI: 10.1111/1758-2229.13016.
26. Ahmadi M.H. Global status of tetracycline resistance among clinical isolates of *Vibrio cholerae*: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2021; 10(1):115. DOI: 10.1186/s13756-021-00985-w.
27. Disease Surveillance, Emergency Preparedness and Response in Eastern and Southern Africa (Cited 10 May 2021) [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/world/disease-surveillance-emergency-preparedness-and-response-eastern-and-southern-africa>.
28. Hassan O.B., Nellums L.B. Cholera during COVID-19: The forgotten threat for forcibly displaced populations. *EClinicalMedicine.* 2021; 32:100753. DOI: 10.1016/j.eclim.2021.100753.
29. Alsabri M., Alhadheri A., Alsakkaf L.M., Cole J. Conflict and COVID-19 in Yemen: beyond the humanitarian crisis. *Global Health.* 2021; 17(1):83. DOI: 10.1186/s12992-021-00732-1.
30. Cholera prevention and control. Seventy-first world health assembly, Agenda item 11.2. 26 May 2018. (Cited 23 Sept 2021) [Internet]. Available from: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA71/A71_R4-en.pdf.
31. Yemen Country Office Humanitarian Situation Report. (Cited 19 Jul 2021) [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/UNICEF%20Yemen%20Humanitarian%20Situation%20Report%20-%201-31%20May%202021.pdf>.
32. Cholera, diarrhea & dysentery update (05): Africa. Archive Number: 20210326.8271347. (Cited 31 Mar 2021) [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8271347>.
33. Borno state ministry of health – Cholera outbreak situation report No. 2 (6th September 2021). (Cited 9 Sept 2021) [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/nigeria/orno-state-ministry-health-cholera-outbreak-situation-report-no-2-6th-september-2021>.
34. Ethiopia conducts an oral cholera vaccination campaign to protect populations in cholera affected districts. (Cited 4 Feb 2021) [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/ethiopia/ethiopia-conducts-oral-cholera-vaccination-campaign-protect-populations-cholera>.
35. République Démocratique du Congo: Cluster Santé Sitrep S33 Aout 2021. (Cited 1 Sept 2021) [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/democratic-republic-congo/r-publique-d-mocratique-du-congo-cluster-sant-sitrep-s33-aout-2021>.
36. Levchenko D.A., Vodop'yanov V.D., Vodop'yanov A.S., Nepomnyashchaya N.B. [A method for identifying non-toxicogenic strains of *Vibrio cholerae* serogroup O1 using PCR to isolate genetic determinants]. RF patent No. 2665542, publ. 08/30/2018.
37. Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Vodop'yanov S.O., Oleinikov I.P. [Improvement of the method of SNP typing of *Vibrio cholerae* strains based on the analysis of primary data of whole-genome sequencing]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2020; 97(6):587–93. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-9.
38. Reguera G., Kolter R. Virulence and the environment: a novel role for *Vibrio cholerae* toxin-coregulated pili in biofilm formation on chitin. *J. Bacteriol.* 2005; 187(10):3551–5. DOI: 10.1128/JB.187.10.3551-3555.2005.
39. Shin O.S., Tam V.C., Suzuki M., Ritchie J.M., Bronson R.T., Waldor M.K., Mekalanos J.J. Type III secretion is essential for the rapidly fatal diarrheal disease caused by non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae*. *mBio.* 2011; 2(3):e00106–11. DOI: 10.1128/mBio.00106-11.
40. Dziejman M., Serruto D., Tam V.C., Sturtevant D., Diraphat P., Faruque S.M., Rahman M.H., Heidelberg J.F., Decker J., Li L., Montgomery K.T., Grills G., Kucheralapati R., Mekalanos J.J. Genomic characterization of non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* reveals genes for a type III secretion system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2005; 102(90):3465–70. DOI: 10.1073/pnas.0409918102.
41. Crisan C.V., Hammer B.K. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system: toxins, regulators and consequences. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(10):4112–22. DOI: 10.1111/1462-2920.14976.
42. Pukatzki S., Provenzano D. *Vibrio cholerae* as a predator: lessons from evolutionary principles. *Front. Microbiol.* 2013; 4:384. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00384.
43. Blokesch M. Competence-induced type VI secretion might foster intestinal colonization by *Vibrio cholerae*: Intestinal interbacterial killing by competence-induced *V. cholerae*. *Bioessays.* 2015; 37(11):1163–68. DOI: 10.1002/bies.201500101.
44. Jermyn W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (*nanH*) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. *Microbiology (Reading).* 2002; 148(Pt 11):3681–93. DOI: 10.1099/002221287-148-11-3681.
45. Mironova L.V., Ponomareva A.S., Khunkheeva Zh.Yu., Gladkikh A.S., Balakhonov S.V. [Genetic diversity of *Vibrio cholerae*

rae O1 El Tor during epidemic complications in the Siberian and Far Eastern regions]. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2019; 37(4):165–72. DOI: 10.17116/molgen201937041165.

46. Kritsky A.A., Smirnova N.I., Kalyaeva T.B., Obrotkina N.F., Gracheva I.V., Katyshev A.D., Kutyrev V.V. [Comparative analysis of molecular-genetic properties of non-toxicogenic strains of *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor isolated in Russia and in cholera-endemic territories]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (3):72–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-72-82.

47. Moskvitina E.A., Yanovich E.G., Kurylenko M.L., Kruglikov V.D., Noskov A.K. [Ecological and epidemiological aspects of *V. cholerae* O1 contamination of water bodies in the Republic of Kalmykia]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2021; 29(12):79–86. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-12-79-86.

Authors:

Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Monakhova E.V., Chemisova O.S., Soboleva E.G., Vodopyanov A.S., Stenina S.I., Pisanov R.V., Levchenko D.A., Podoinitsyna O.A., Nepomnyashchaya N.B., Ezhova M.I. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

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

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

Lopatin A.A., Ivanova S.M. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nlm.ru.

Об авторах:

Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Соболева Е.Г., Водопьянов А.С., Стенина С.И., Писанов Р.В., Левченко Д.А., Подойницына О.А., Непомнящая Н.Б., Ежова М.И. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Миронова Л.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилисера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

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

Лопатин А.А., Иванова С.М. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nlm.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-35-42

УДК 616.98:579.842.23(470)

Н.В. Попов¹, И.Г. Карнаухов¹, А.А. Кузнецов¹, А.Н. Матросов¹, В.А. Сафронов¹, А.М. Поршаков¹,
А.В. Иванова¹, К.С. Марцоха¹, В.М. Корзун², Д.Б. Вержуцкий², Е.В. Чипанин², А.А. Лопатин⁴,
В.М. Дубянский³, У.М. Ашибокров³, А.Ю. Газиева³, Е.С. Зенкевич⁵, С.В. Балахонов², А.Н. Куличенко³,
В.В. Кутырев¹

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО НАДЗОРА В ПРИРОДНЫХ ОЧАГАХ ЧУМЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И ПРОГНОЗ ИХ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НА 2022 г.

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;
²ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск,
Российская Федерация; ³ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь,
Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация; ⁵Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Целью работы являлась оценка эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации в 2021 г. и прогноз на 2022 г. Выявлена активизация эпизоотического процесса, после перерыва с 2007 г., в Центрально-Кавказском высокогорном очаге чумы. Отмечено продолжение развития локальных эпизоотий в Тувинском горном, Горно-Алтайском высокогорном природных очагах. Общая площадь эпизоотий в 2021 г. в Российской Федерации составила 1649,5 км². Изолировано 28 культур чумного микроба. Не обнаружены зараженные чумой животные в Терско-Сунженском низкогорном, Дагестанском равнинно-предгорном, Прикаспийском Северо-Западном степном, Волго-Уральском степном, Забайкальском степном, Волго-Уральском песчаном, Прикаспийском песчаном, Восточно-Кавказском высокогорном природных очагах. Обосновано, что эпидемиологическое благополучие по чуме в Российской Федерации в 2017–2021 гг. достигнуто в результате ежегодного эпизоотологического мониторинга энзоотичных по чуме территорий, оперативного выявления эпизоотий и проведения упреждающего комплекса профилактических (противоэпидемических) мероприятий, направленных на снижение рисков заражения. Обоснован прогноз на сохранение в 2022 г. напряженной эпидемиологической обстановки на территории Карачаево-Черкесской и Кабардино-Балкарской республик, Республики Алтай, Республики Тыва. Обоснована перспективность использования программы EpiTracker для оперативной оценки реально складывающейся эпидемиологической обстановки в природных очагах чумы.

Ключевые слова: природные очаги чумы, эпизоотическая активность, заболеваемость, эпизоотологический прогноз, профилактические мероприятия, программа EpiTracker.

Корреспондирующий автор: Попов Николай Владимирович, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Попов Н.В., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Сафронов В.А., Поршаков А.М., Иванова А.В., Марцоха К.С., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Чипанин Е.В., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Ашибокров У.М., Газиева А.Ю., Зенкевич Е.С., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Совершенствование эпидемиологического надзора в природных очагах чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:35–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-35-42

Поступила 15.03.2022. Принята к публ. 18.03.2022.

N.V. Popov¹, I.G. Karnaukhov¹, A.A. Kuznetsov¹, A.N. Matrosov¹, V.A. Safronov¹, A.M. Porshakov¹,
A.V. Ivanova¹, K.S. Martsokha¹, V.M. Korzun², D.B. Verzhutsky², E.V. Chipanin², A.A. Lopatin⁴,
V.M. Dubyansky³, U.M. Ashibokov³, A.Yu. Gazieva³, E.S. Zenkevich⁵, S.V. Balakhonov²,
A.N. Kulichenko³, V.V. Kutyrev¹

Enhancement of Epidemiological Surveillance in Natural Plague Foci of the Russian Federation and Forecast of Epizootic Activity for 2022

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

²Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation;

³Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation;

⁴Plague Control Center, Moscow, Russian Federation;

⁵Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the research was to assess epizootic activity of natural plague foci in the Russian Federation in 2021 and provide a prognosis for 2022. Activation of epizootic process has been detected in Central-Caucasian high-mountain natural plague focus after a recess since 2007. Local epizootics persist to develop in Tuva Mountain and Gorno-Altai high-mountain plague foci. Total area of epizooties in Russia in 2021 amounted to 1649.5 km². 28 plague microbe strains were isolated. Animals infected with plague were not found in Tersko-Sunzhensky low-mountain, Dagestan plain-piedmont, Precaspian north-western steppe, Volga-Ural steppe, Trans-Baikal steppe, Volga-Ural sandy, Caspian sandy and East-Caucasian high-mountain natural plague foci. It is demonstrated that epidemiological welfare as regards plague in Russia in 2017–2021 was achieved through annual epizootic monitoring of plague-enzootic territories, timely epizooty detection and preventive activities aimed at reducing the risk of infection. Substantiated has been the forecast for tense epidemiological situation on the territory of Karachay-Cherkessia, Kabardino-Balkaria, Altai Republic and Tuva Republic in 2022. A new EpiTracker application has been proven to be prospective for rapid assessment of actual epidemiological situation in natural plague foci.

Key words: natural plague foci, epizootic activity, morbidity, epizootiological forecast, preventive measures, EpiTracker application.

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

Corresponding author: Nikolay V. Popov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Safronov V.A., Porshakov A.M., Ivanova A.V., Martsokha K.S., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Lopatin A.A., Dubyansky V.M., Ashibokov U.M., Gazieva A.Yu., Zenkevich E.S., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. Enhancement of Epidemiological Surveillance in Natural Plague Foci of the Russian Federation and Forecast of Epizootic Activity for 2022. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:35–42. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-35-42

Received 15.03.2022. Accepted 18.03.2022.

Popov N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4099-9261>
 Karnaukhov I.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8181-6727>
 Kuznetsov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0677-484>
 Matrosov A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4893-7188>
 Safronov V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9563-2833>
 Porshakov A.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3363-765X>
 Ivanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4849-3866>
 Martsokha K.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2913-3766>
 Korzun V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1947-5252>
 Verzhutsky D.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5139-616X>

Chipanin E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6051-1409>
 Lopatin A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5426-3311>
 Dubyansky V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3817-2513>
 Ashibokov U.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9197-588X>
 Gazieva A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8775-97-0087>
 Zenkevich E.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2366-6182>
 Balakhonov S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>
 Kulichenko A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>
 Kutyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

В последнее десятилетие отмечено сохранение напряженной эпидемиологической обстановки по чуме во многих странах мира [1–5]. В 2021 г. заболевания зарегистрированы на территории Демократической Республики Конго (121 случай; 13 летальных), Республики Мадагаскар (118 случаев; 15 летальных), Соединенных Штатов Америки (3 случая; 1 летальный), Китайской Народной Республики (1 случай) и Монголии (1 случай). Всего зарегистрировано 244 случая заражения чумой. Сохранение высоких рисков заражения обусловлено наличием интенсивных контактов населения с биоценотическими комплексами очаговых территорий, промыслом носителей чумы, развитием эпизоотий среди синантропных и полусинантропных видов грызунов, заносом возбудителя домашними животными, в первую очередь кошками, собаками [6–9].

На территории Российской Федерации в 2017–2021 гг. обеспечено эпидемиологическое благополучие по чуме. Последнее достигнуто в результате ежегодного эпизоотологического мониторинга энзоотических по чуме территорий, оперативного выявления эпизоотий и проведения упреждающего комплекса профилактических (противоэпидемических) мероприятий, направленных на снижение рисков заражения. Такой активный эпидемиологический надзор за природными очагами чумы, кроме Российской Федерации, успешно используется для обеспечения эпидемиологического благополучия противочумными учреждениями Республики Казахстан, Киргизской Республики, Монголии, Китайской Народной Республики [10–14].

Подчеркнем, что в 2021 г. все профилактические (противоэпидемические) мероприятия в природных очагах чумы Российской Федерации проводились с учетом долгосрочных, среднесрочных и краткосрочных прогнозов эпизоотической обстановки, внедренных в практику учреждений Роспотребнадзора. Складывающаяся в 2021 г. эпизоотологическая ситуация в 11 природных очагах чумы Российской Федерации полностью соответствовала долгосрочному эпизоотологическому прогнозу на 2020–2025 гг. [15]. В частности, в 2021 г.

локальные эпизоотии чумы зарегистрированы в прогностические сроки в горных и высокогорных районах Центрального Кавказа, Горного Алтая и Южной Тувы. Общая площадь эпизоотий составила 1649,5 км². Всего в 2021 г. изолировано 28 культур чумного микроба, в том числе: 11 – средневекового биовара основного подвида *Yersinia pestis pestis*, 13 – античного биовара основного подвида *Y. pestis pestis* и 4 – алтайского биовара центральноазиатского подвида *Y. pestis*. Паразитарные системы равнинных, предгорных и низкогорных природных очагов чумы Российской Федерации продолжают оставаться в состоянии глубокой депрессии.

В Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге в 2021 г., после перерыва с 2007 г., эпизоотии выявлены в Карачаевском районе Карачаево-Черкесской Республики в трех небольших по площади поселениях горного суслика в трех смежных секторах (рис. 1). Методом ПЦР циркуляция возбудителя чумы подтверждена на 15 участках, в том числе на территории Карачаевского и Мало-Карачаевского районов Карачаево-Черкесской Республики (8) и Эльбрусском районе Кабардино-Балкарской Республики (7).

Культуры средневекового биовара основного подвида *Y. pestis* филогенетической ветви 2.MED0 (11) изолированы при исследовании проб полевого материала от горных сусликов и блох вида *Citellophilus tesquorum*, добытых в урочищах Джуакалыкол (4), Еникол (2), Бийтук-Тюбе (5). Общая площадь локальных эпизоотий составила 0,75 км². Штаммы 2.MED0 являются эндемичными для территории Центрально-Кавказского природного очага чумы и не встречаются в других энзоотических по чуме регионах мира. Ранее здесь также регистрировали циркуляцию другого геноварианта средневекового биовара основного подвида *Y. pestis* филогенетической ветви 2.MED1.

Эпизоотический процесс был оперативно купирован ФКУЗ «Кабардино-Балкарская противочумная станция» Роспотребнадзора. На всех эпизоотических участках в августе были проведены полевая дератизация и дезинсекция. Постановлением главного

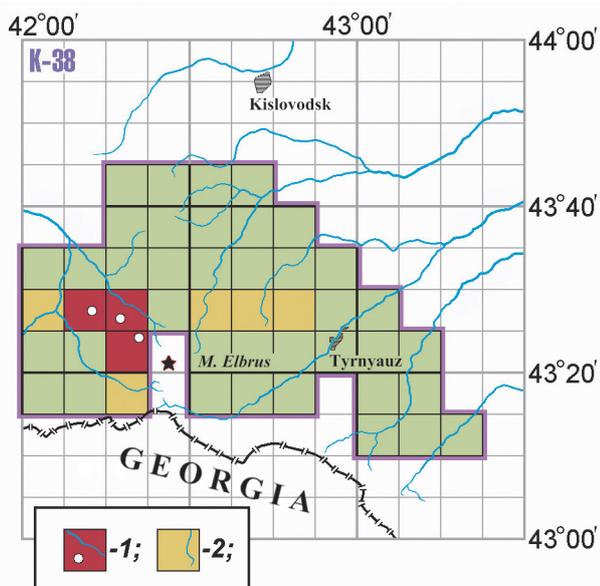


Рис. 1. Участки с подтвержденной циркуляцией возбудителя чумы на территории Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы в 2021 г.

1 – сектора с точками выделения штаммов чумного микроба; 2 – сектора с обнаружением ДНК чумного микроба

Fig. 1. Areas with confirmed circulation of plague agent on territory of Central-Caucasian high-mountain natural plague focus in 2021:

1 – sectors and sites of plague microbe strain isolation; 2 – sectors of plague microbe DNA detection

государственного санитарного врача по Карачаево-Черкесской Республике от 29.07.2021 № 948/1 «О проведении мероприятий по санитарной охране территории Карачаево-Черкесской Республики в 2021 году» внедрен в практику комплекс профилактических (противоэпидемических) мероприятий, направленный на снижение рисков заражения чумой на территории Карачаевского и Мало-Карачаевского районов Карачаево-Черкесской Республики. В последующем эти мероприятия усилены постановлением главного государственного санитарного врача по Карачаево-Черкесской Республике от 06.08.2021 № 973 «О противоэпидемических мероприятиях на территории природного очага чумы в Карачаевском районе 2021 году». В целях предупреждения эпидемических осложнений запрещена хозяйственная, исследовательская, поисковая и иная деятельность на срок, необходимый для ликвидации эпизоотических проявлений, а также запрещены промысловая охота и вывоз сена, зерна, фуража и других санитарно-опасных грузов за пределы зоны эпизоотии, запрещена туристическая, в том числе неорганизованная, деятельность на территории урочища Бийтюк-Тюбе. В связи с выявлением эпизоотии чумы 11.08.2021 в г. Черкесске проведено межведомственное рабочее совещание по вопросам организации противоэпидемических мероприятий в Карачаево-Черкесской Республике на территории Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы.

В 2022 г. сохраняется высокая вероятность выявления локальных эпизоотий в поселениях гор-

ного суслика на территории Карачаевского, Мало-Карачаевского районов Карачаево-Черкесской и Эльбрусского района Кабардино-Балкарской республик. Для снижения эпидемических рисков предусмотрено выполнение «Комплексного плана мероприятий учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы в 2022 г.». Поставлена задача усиления контроля за временными контингентами населения (туристы, рабочие и др.) на всей территории Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы.

В Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2021 г. локальные эпизоотии зарегистрированы в Кош-Агачском районе Республики Алтай на шести участках общей площадью 500,0 км². Циркуляция чумного микроба античного биовара основного подвида *Y. pestis* выявлена на площади 333,8 км², алтайского биовара центральноазиатского подвида – 166,2 км². Изолировано 9 штаммов чумного микроба, из них 5 – *Y. pestis* ssp. *pestis*, 4 – *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica*. Штаммы возбудителя чумы основного подвида выделены из блох *Citellophilus tesquorum* (3 штамма) и *Oropsylla alaskensis* (1 штамм), снятых с длиннохвостого суслика, и от серого сурка (остатки стола хищных птиц). Штаммы чумного микроба центральноазиатского подвида получены от блох монгольской пищухи: 1 – от *Amphalius runatus*, собранных с шерсти, а также от блох, собранных из входов ее нор, – 2 от *Ctenophyllus hirticrus* и 1 от *Paramonopsyllus scalonae*.

Эпизоотии, вызванные возбудителем основного подвида, зарегистрированы в Талдуайском (участок Вершина р. Бар-Бургазы), Уландрыкском (участок Середина р. Большие Шибеты) и Джазаторском (участки Окрестности озер Караколь-Нур и Зерликоль-Нур, Вершина р. Тархата) мезоочагах. Эпизоотии, обусловленные чумным микробом алтайского биовара центральноазиатского подвида, выявлены в Тархатинском (участок Междуречье Чаган-Бургазы – Тархата) и Курайском (участок Центральная часть Курайского хребта) мезоочагах. Получено 25 положительных результатов серологических исследований на специфичные антитела к чумному микробу в семи секторах на шести участках в Уландрыкском, Тархатинском и Талдуайском мезоочагах. Методом ПЦР специфичные фрагменты ДНК *Y. pestis* детектированы в 63 пробах, из них в 27 случаях они отнесены к основному подвиду и в 34 – к центральноазиатскому. Положительные результаты методом ПЦР получены на 19 участках в Уландрыкском, Тархатинском, Джазаторском, Талдуайском и Курайском мезоочагах. Впервые получены положительные результаты методом ПЦР в верхней части долины р. Бугузун на склонах хр. Чихачева, в местности, прилегающей к границе с Тувой (рис. 2).

В соответствии с «Комплексным планом мероприятий учреждений Роспотребнадзора по оздоров-

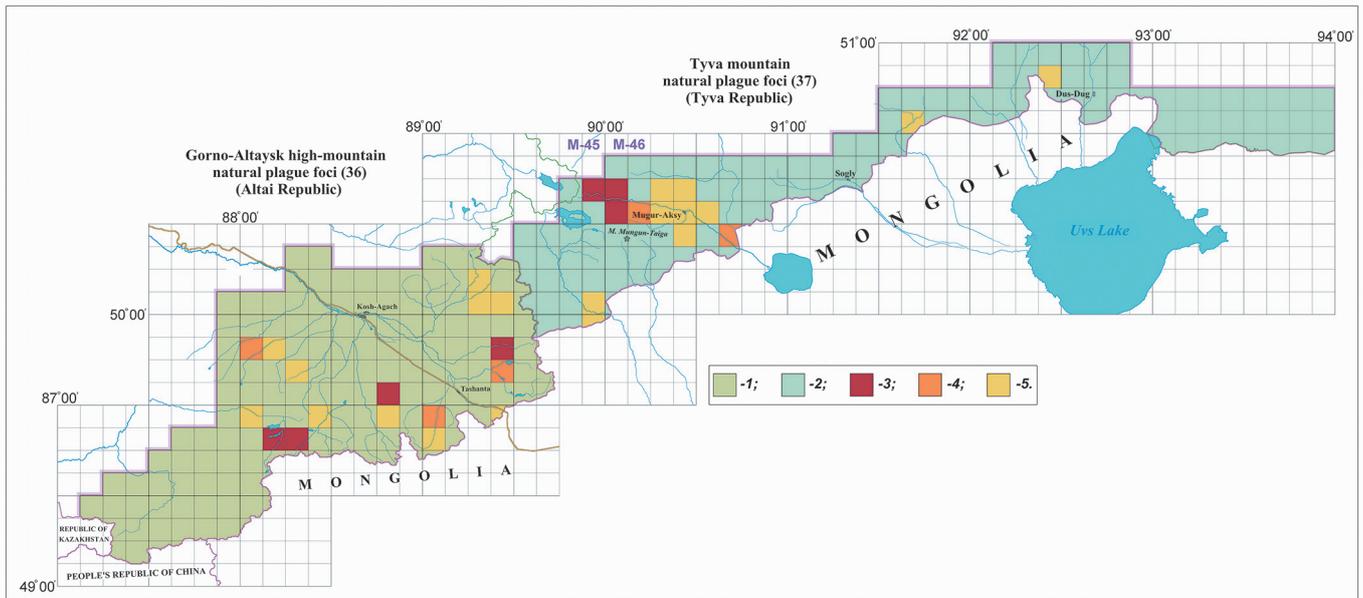


Рис. 2. Участки (сектора) на территории Горно-Алтайского высокогорного (1) и Тувинского горного (2) природных очагов чумы с обнаружением: 3 – штаммов *Y. pestis* античного биовара основного подвида; 4 – серопозитивных зверьков; 5 – ДНК микроба чумы

Fig. 2. Areas (sectors) on the territory of Gorno-Altai high-mountain (1) and Tuva mountain (2) natural plague foci where 3 – *Y. pestis* strains of antique biovar, main subspecies; 4 – sero-positive mammals; and 5 – plague microbe DNA are detected

лению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2021 г.», «Программой дезинсекционных и дератизационных обработок в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы в 2021 г.», «Планом мероприятий (“дорожная карта”) по снижению рисков возникновения эпидемических осложнений на территории Горно-Алтайского природного очага чумы на 2019–2023 годы» (утв. распоряжением Правительства Республики Алтай от 11.01.2019 № 2-р), постановлением главного санитарного врача Республики Алтай от 26.01.2021 № 2 «О проведении мероприятий по профилактике чумы в Республике Алтай в 2021 году», на очаговой по чуме территории Республики Алтай в 2021 г. был выполнен весь комплекс запланированных профилактических (противоэпидемических) мероприятий. Эпизоотологическое обследование проведено на площади 12425,6 км². При выполнении профилактических (истребительных) мероприятий основное внимание уделялось инсектицидным обработкам в смешанных поселениях носителей чумы в окрестностях стоянок животноводов, располагающихся на эпизоотических участках 2014–2021 гг. Прививочная кампания была развернута в марте – апреле 2021 г. В Республике Алтай всего было привито 18258 человек (план выполнен на 110 %), в том числе 1462 человека временного населения. В Кош-Агачском районе вакцинировано против чумы 16328 человек (в том числе 5569 детей). В 2021 г., до начала кочевки животноводов на высокогорные пастбища, силами ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора и прикомандированных специалистов ФКУЗ «РосНИПЧИ «Микроб», ФКУЗ «Иркутский НИПЧИ», ФКУЗ «Ставропольский

НИПЧИ» Роспотребнадзора на участках высокого риска заражения проведена полевая дезинсекция. Всего в 2021 г. обработаны поселения носителей чумного микроба в окрестностях 80 стоянок животноводов и объектов пограничной службы. Общая площадь полевой дезинсекции составила 27,4 км². Поселковая дератизация была проведена на площади 76,5 тыс. м², поселковая дезинсекция – 11,2 тыс. м². Эффективность инсектицидных обработок составила в целом по очагу 98,5 %, поселковой дератизации и дезинсекции – 100 %.

В 2022 г. развитие эпизоотий, обусловленных чумным микробом основного подвида, ожидается в поселениях серого сурка и длиннохвостого суслика в высокогорной местности на склонах хребтов Сайлюгем, Южно-Чуйский, Чихачева и на плоскогорье Укок. Развитие эпизоотий, вызванных возбудителем чумы центральноазиатского подвида, возможно в поселениях монгольской пищухи в отрогах хребтов Сайлюгем, Южно-Чуйский и Курайский. Для минимизации эпидемических рисков необходимо выполнение «Комплексного плана мероприятий учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2022 г.».

В Тувинском горном природном очаге в 2021 г. локальные эпизоотии чумы выявлены в Монгун-Тайгинском, Овюрском и Тэс-Хемском кожуунах Республики Тыва на 22 участках (урочищах) на общей площади 1148,7 км² (2020 г. – 2019,1 км²). Выделено 8 штаммов возбудителя чумы античного биовара основного подвида (2020 г. – 14), из них 5 – от блох из входов нор длиннохвостого суслика (*Citellophilus tesquorum* – 2, *Oropsylla alaskensis* – 2, *Neopsylla mana* – 1), 1 – от блохи *N. mana*, снятой с

даурской пищухи, 1 – от трупа длиннохвостого суслика и 1 – от вшей, счесанных с этого трупа. Одна культура чумного микроба получена из урочища Кызыл-Бом, 4 – из урочища Узун-Хем, 3 – из урочища Кужурлуг-Хову. Все урочища расположены в Каргинском мезоочаге чумы. Антитела к чумному микробу выявлены в 17 пробах (в 2020 г. – 90), из них 16 – от отловленных длиннохвостых сусликов и 1 – от трупа длиннохвостого суслика. Зверьки с антителами обнаружены в урочищах Бичи-Чалыяш, Чалыяш, Верхний Оюк-Хем и Суур-Тайга, расположенных в пределах одного сектора Каргинского мезоочага и урочища Кужурлуг-Хову, находящегося в другом секторе этого же мезоочага, а также в урочище Чолдак-Арт (Верхне-Барлыкский мезоочаг). Зарегистрировано 73 положительных на чуму пробы в ПЦР (рис. 2).

В соответствии с «Комплексным планом мероприятий учреждений Роспотребнадзора по снижению рисков в Тувинском природном очаге чумы в Монгун-Тайгинском, Овюрском и Тэс-Хемском районах (кожуунах) Республики Тыва в 2021 г.» силами ФКУЗ «Тувинская противочумная станция» Роспотребнадзора и прикомандированных специалистов ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», ФКУЗ Иркутский НИПЧИ, ФКУЗ «Читинская противочумная станция» Роспотребнадзора эпизоотологический мониторинг проведен на площади 9861,1 км². В населенных пунктах и на стоянках животноводов проведена поселковая дератизация на площади 65,1 тыс. м², полевая дезинсекция выполнена на площади 64,5 км², вакцинировано против чумы 9489 человек.

В 2022 г., в связи с высоким уровнем запаса блох, в первую очередь *Citellophilus tesquorum*, ожидается продолжение активных эпизоотий. Для обеспечения эпидемиологического благополучия необходимо выполнение «Комплексного плана мероприятий учреждений Роспотребнадзора по снижению рисков в Тувинском природном очаге чумы в Монгун-Тайгинском, Овюрском и Тэс-Хемском районах (кожуунах) Республики Тыва в 2022 г.».

В 2021 г. в восьми природных очагах: Терско-Сунженском низкогорном, Дагестанском равнинно-предгорном, Прикаспийском Северо-Западном степном, Волго-Уральском степном, Забайкальском степном, Волго-Уральском песчаном, Прикаспийском песчаном, Восточно-Кавказском высокогорном – не выявлено зараженных чумой животных.

Представленные выше материалы также обосновывают прогноз на сохранение в 2022 г. напряженной эпидемиологической обстановки в Центрально-Кавказском высокогорном (Карачаево-Черкесская и Кабардино-Балкарская республики), Горно-Алтайском высокогорном (Республика Алтай), Тувинском горном (Республика Тыва) природных очагах чумы (рис. 3). По оперативным сведениям о росте численности носителей можно ожидать возобновления эпизоотической активности в Прикаспийском песчаном и Дагестанско-равнинном предгорном очагах чумы. В остальных шести природных очагах на территории Российской Федерации эпизоотических проявлений не ожидается.

Для дальнейшего повышения эффективности противоэпидемической защищенности населения Российской Федерации и других стран СНГ,

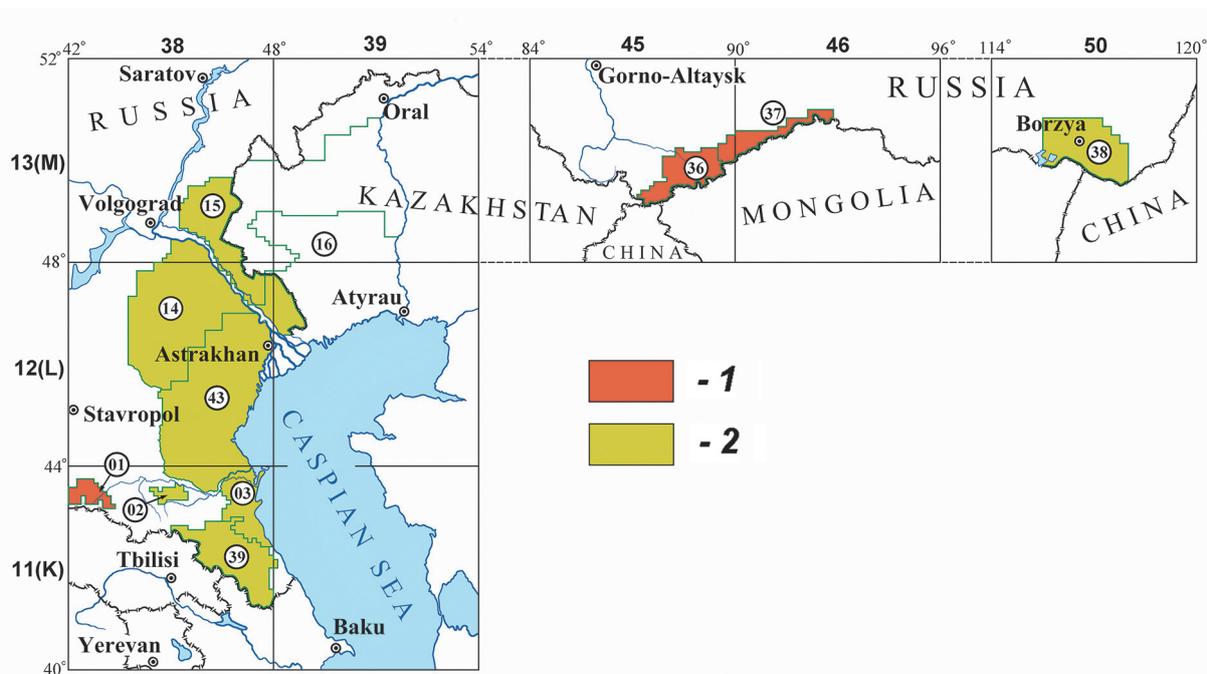


Рис. 3. Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2022 г.:

1 – сохранение эпизоотической активности; 2 – отсутствие находок зараженных животных

Fig. 3. Forecast of epizootic activity in the natural plague foci of Russia in 2022:

1 – continuing epizootic activity; 2 – no findings of infected animals

предупреждения и минимизации эпидемических рисков, прогнозирования не только времени, но и конкретных территорий с высоким уровнем потенциальной эпидемической опасности, необходима дальнейшая цифровизация эпизоотологического мониторинга природных очагов чумы и других особо опасных инфекционных болезней [16–19]. В рамках реализации стратегии «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья» на 2021–2024 гг. и государственной программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации» в настоящее время активно ведется разработка электронных баз эпизоотологических, эпидемиологических и молекулярно-генетических данных и паспортов природных очагов чумы России, на основе которых возможно качественное изменение алгоритма принятия оперативных решений при планировании и проведении профилактических (противоэпидемических) мероприятий, а также ликвидации эпидемических очагов. В этом плане особенно перспективно внедрение в практику работы противочумных учреждений специальных программных инструментов сбора информации в полевых условиях. Возможность автоматического геокодирования и маркировки собираемого полевого материала, наряду с удобным пользовательским интерфейсом, содержащим справочники типов материала и видового состава носителей и переносчиков, позволяет собирать данные в едином формате в режиме реального времени непосредственно при осуществлении эпизоотологического мониторинга.

Особенность данных решений состоит в обеспечении работы в поле без доступа к интернету, что исключает использование веб-сервисов, так как значительные территории природных очагов находятся вне зоны покрытия сотовой связью. Вторым условием является необходимость взаимосвязи с лабораторным звеном с возможностью проследить обработку собранного материала от конкретной географической точки через этапы доставки, разбора материала, формирования проб и проведения исследования до получения результата, который, в свою очередь, может наглядно отражаться на электронной карте. Третьей составляющей программного комплекса является возможность масштабирования и просмотра информации с учетом разделения прав доступа, что обеспечивает независимую работу отдельных зоо групп, лабораторий в режиме, который позволяет свободно оперировать данными, созданными в рамках каждого учреждения с индивидуальными настройками, но исключает просмотр или изменение данных других учреждений.

На основе представленных требований в 2021 г. РосНИПЧИ «Микроб» совместно с ООО «Интегро» разработана программа Eptracker, состоящая из одноименного мобильного приложения (общедоступно для устройств на платформе Android версии 7.1 и выше) для полевого сбора данных и специализированного интернет-сервиса (учетная запись предо-

ставляется по заявке) для наглядного отображения данных на интерактивной электронной карте и обеспечения информацией автоматизированных рабочих мест специалистов по лабораторной диагностике. Зоолог после добавления новой точки (место сбора материала фиксируется автоматически или по введенным координатам) вносит в мобильное приложение сведения, формируя электронную «этикетку» с номером (предусмотрена функция использования штрихкода, который привязывается к единице материала и служит меткой для лаборатории). Если известно, что соединение через интернет не будет обеспечено, то перед выездом зоо группы в зону работы есть возможность загрузить в приложение соответствующий участок карты. Данные по точкам и собранному материалу первоначально накапливаются на мобильном устройстве и синхронизируются с центральной базой данных по действию пользователя при наличии доступа к интернету. После синхронизации данные электронной «этикетки» отображаются на электронной карте и становятся доступными для лабораторного звена с указанием того, какой материал будет доставлен и на какие виды исследования он ориентирован. Специалисты по лабораторной диагностике при поступлении материала считают штрихкод (или выбирают в списке ожидаемых материалов необходимый пункт) и таким образом получают информацию для разбора материала и последующих этапов лабораторной диагностики.

К настоящему времени апробация системы Eptracker позволила собрать данные по сотням точек отбора материала в девяти странах. Полученные результаты подтверждают реальную возможность значительно повысить координацию работы полевых зоо групп при исследовании трансграничных природных очагов, в случае если одна группа обследует зарубежный участок очага, а вторая действует на территории Российской Федерации (рис. 4).

Развитие представленного подхода к полевому сбору данных позволяет сформировать единое информационное пространство эпизоотологического мониторинга, в том числе в трансграничных очагах, с оперативным представлением и обновлением данных с целью выработки эффективных управленческих решений для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Дальнейшая цифровизация и автоматизация процессов информационного взаимодействия эпидемиологов, зоологов и лабораторных специалистов противочумных учреждений Роспотребнадзора на территории Российской Федерации при выполнении эпизоотологического обследования является одним из главных перспективных инструментов совершенствования надзора в очагах чумы и сочетанных с ней инфекций.

В заключение отметим, что, вследствие постоянной эпизоотической активности горных и высокогорных природных очагов чумы Российской Федерации и зарубежных стран, сохраняется высокая потен-

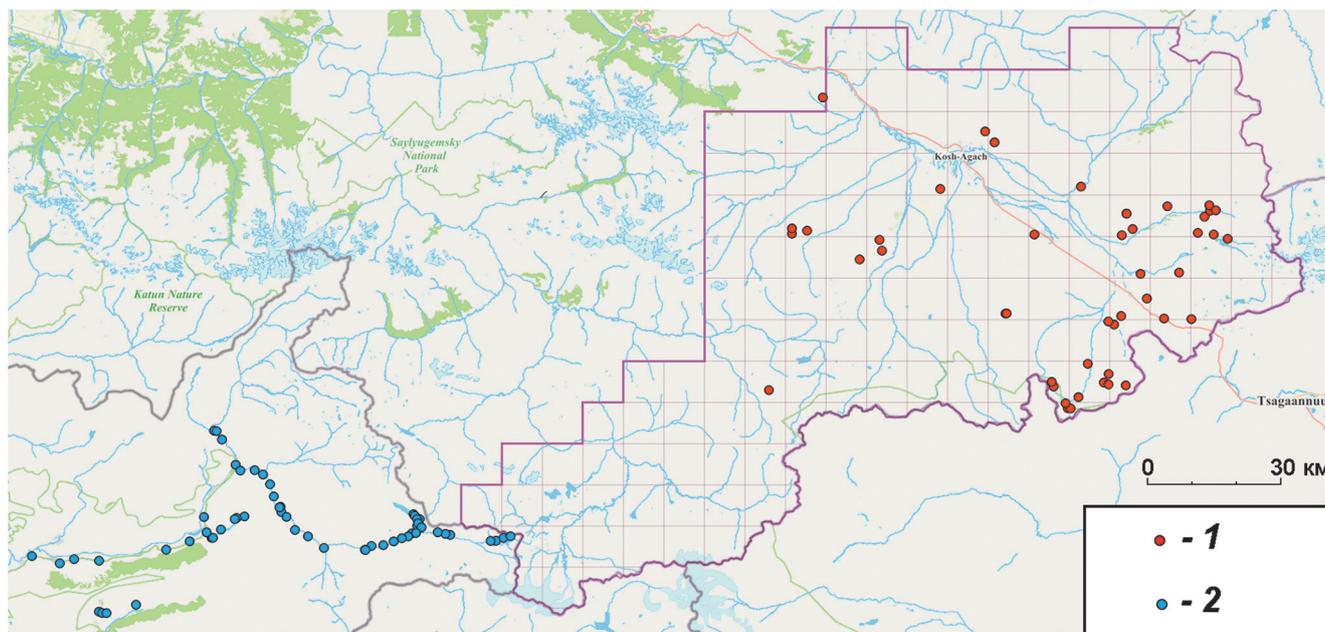


Рис. 4. Точки отбора проб полевого материала на территории Горного Алтая в июле – августе 2021 г.:

1 – в границах России в Горно-Алтайском высокогорном очаге; 2 – в границах Республики Казахстан

Fig. 4. Points of field sample collection on the territory of Altai Mountains in July – August 2021:

1 – within the borders of Russia, in Gorno-Altai high-mountain plague focus; 2 – within the borders of the Republic of Kazakhstan

циальная эпидемическая опасность заноса (завоза) возбудителя чумы на смежные, в том числе трансграничные, очаговые территории. Минимизация эпидемических рисков в условиях локальных проявлений чумы в труднодоступных районах горных систем Центрального Кавказа, Горного Алтая, Южной Тувы во многом зависит от своевременности их выявления, локализации и эффективности купирования эпизоотического процесса. Причем для оперативной оценки реально складывающейся эпидемиологической обстановки, выполнения пространственного эпидемиологического анализа и дифференциации территорий по риску заражения необходимо широкое внедрение в практику эпидемиологического надзора за чумой ГИС-технологий, равно как и завершение электронной паспортизации всех энзоотичных по чуме территорий Российской Федерации.

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

Список литературы

1. Abedi A.A., Shako J.-C., Gaudart J., Sudre B., Ilunga B.K., Shamamba S.K.B., Diatta G., Davoust B., Tamfum J.-J.M., Piarroux R., Piarroux M. Ecologic features of plague outbreak areas, Democratic Republic of the Congo, 2004–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(2):210–20. DOI: 10.3201/eid2402.160122.
2. Munyenyiwa A., Zimba M., Nhiwatiwa T., Barson M. Plague in Zimbabwe from 1974 to 2018: a review article. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(11):e0007761. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007761.
3. Andrianavoarimanana V., Piola P., Wagner D.M., Rakotomanana F., Maheriniaina V., Andrianalimanana S., Chanteau S., Rahalison L., Ratsitorahina M., Rajerison M. Trends of human plague, Madagascar, 1998–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(2):220–8. DOI: 10.3201/eid2502.171974.
4. Altantugs B., Byambasuren D., Maralmaa G., Naranbaatar R., Saltanat S., Uganjavkhaa B., Erdenechimeg L., Altantogtokh D.

Epidemiology of human plague in Mongolia. In: *Current Issues on Zoonotic Diseases*. UlaanBaatar; 2017. Vol. 22. P. 26–33.

5. Barbieri R., Signoli M., Chevè D., Costedoat C., Tzortzis S., Aboudharam G., Raoult D., Drancourt M. *Yersinia pestis*: the natural history of plague. *Clin. Microbiol. Rev.* 2020; 34(1):e00044-19. DOI: 10.1128/CMR.00044-19.

6. Schaffer P.A., Brault S.A., Hershkowitz C., Harris L., Dowers K., House J., Aboellail T.A., Morley P.S., Daniels J.B. Pneumonic plague in a dog and widespread potential human exposure in a veterinary hospital, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(4):800–3. DOI: 10.3201/eid2504.181195.

7. Dai R., Wei B., Xiong H., Yang X., Peng Y., He J., Jin J., Wang Y., Zha X., Zhang Z., Liang Y., Zhang Q., Xu J., Wang Z., Li W. Human plague associated with Tibetan sheep originates in marmots. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(8):e0006635. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006635.

8. Melman S.D., Ettestad P.E., VinHatton E.S., Ragsdale J.M., Takacs N., Onischuk L.M., Leonard P.M., Master S.S., Lucero V.S., Kingry L.C., Petersen J.M. Human case of bubonic plague resulting from the bite of a wild Gunnison’s prairie dog during translocation from a plague endemic area. *Zoonoses Public Health.* 2018; 65(1):e254–8. DOI: 10.1111/zph.12419.

9. Gage K.L., Dennis D.T., Orloski K.A., Ettestad P., Brown T.L., Reynolds P.J., Pape W.J., Fritz C.L., Carter L.G., Stein J.D. Cases of cat-associated human plague in the Western US, 1977–1998. *Clin. Infect. Dis.* 2000; 30(6):893–900. DOI: 10.1086/313804.

10. Кузнецов А.Н., Сыздыков М.С., Ерубаев Т.К. Оценка комплексной системы эпидемиологического надзора за чумой в Казахстане. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане.* 2019; 2:3–10.

11. Абдикаримов С.Т., Ибрагимов Э.Ш., Эгембергенов Ч.Э. Современное эпизоотическое состояние природных очагов чумы Кыргызской Республики и мероприятия, направленные на обеспечение эпидемиологического благополучия по чуме. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 2:45–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-45-48.

12. Щучинов Л.В. Проблема организации противоэпидемических мероприятий в природном очаге чумы. *Национальные приоритеты России.* 2016; 4:68–71.

13. Sariyeva G., Abdel Z., Shabunin A., Sagiyev Z., Abdikarimov S., Bazarkanova G., Kendirbaev D., Maimulov R., Dzhaparova A., Sofeikov V., Abdirassilova A., Mussagaliyeva R., Kurmanov B., Aitbaeva Z., Almazbek D. Current status of the Sari-Dzhas natural focus of plague, Kyrgyzstan: epizootic activity and marmot population. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2018; 18(10):524–32. DOI: 10.1089/vbz.2017.2200.

14. Du H.-W., Wang Y., Zhuang D.-F., Jiang X.-S. Temporal and spatial distribution characteristics in the natural plague foci

of Chinese Mongolian gerbils based on spatial autocorrelation. *Infect. Dis. Poverty*. 2017; 6(1):124. DOI: 10.1186/s40249-017-0338-7.

15. Попов Н.В., Ерошенко Г.А., Карнаухова И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Иванова А.В., Оглодин Е.Г., Никифоров К.А., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Чипанин Е.В., Аязбаев Т.З., Джапарова А.К., Бердиев С.К., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Щербаклова С.А., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпидемиологическая ситуация по чуме в 2020 г. Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации и других стран СНГ на 2021 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 1:52–62. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-52-62.

16. Кузнецов А.А., Поршаков А.М., Матросов А.Н., Куклев Е.В., Коротков В.Б., Мезенцев В.М., Попов Н.В., Топорков В.П., Топорков А.В., Кутырев В.В. Перспективы ГИС-паспортизации природных очагов чумы Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 1:48–53. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-1(111)-48-53.

17. Toms M. Remote sensing and GIS for ecologists: Using open source software. *Bird Study*. 2017; 64(1):116–9. DOI: 10.1080/00063657.2016.1253665.

18. Kanga S., Sudhanshu, Meraj G., Farooq M., Nathawat M.S., Singh S.K. Reporting the management of COVID-19 threat in India using remote sensing and GIS based approach. *Geocarto International*. 2020; 1–8. DOI: 10.1080/10106049.2020.1778106.

19. Рызанова А.Г., Герасименко Д.К., Буравцева Н.П., Мезенцев В.М., Логвин Ф.В., Головинская Т.М., Семенова О.В., Аксенова Л.Ю., Перехожева С.В., Чмеренко Д.К., Куличенко А.Н. Применение геоинформационных технологий для оценки эпизоотологической и эпидемиологической обстановки по сибирской язве в Волгоградской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 4:112–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-112-119.

References

1. Abedi A.A., Shako J.-C., Gaudart J., Sudre B., Ilunga B.K., Shamamba S.K.B., Diatta G., Davoust B., Tamfum J.-J.M., Piarroux R., Piarroux M. Ecologic features of plague outbreak areas, Democratic Republic of the Congo, 2004–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(2):210–20. DOI: 10.3201/eid2402.160122.

2. Muniyeniwa A., Zimba M., Nhwatiwa T., Barson M. Plague in Zimbabwe from 1974 to 2018: a review article. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(11):e0007761. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007761.

3. Andrianaivoarimanana V., Piola P., Wagner D.M., Rakotomanana F., Maheriniaina V., Andrianalimanana S., Chanteau S., Rahalison L., Ratsitorahina M., Rajerison M. Trends of human plague, Madagascar, 1998–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(2):220–8. DOI: 10.3201/eid2502.171974.

4. Altantugs B., Byambasuren D., Maralmaa G., Naranbaatar R., Saltanat S., Uganjavkhaa B., Erdenechimeg L., Altantogtokh D. Epidemiology of human plague in Mongolia. In: *Current Issues on Zoonotic Diseases. Ulaanbaatar*; 2017. Vol. 22. P. 26–33.

5. Barbieri R., Signoli M., Chev e D., Costedoat C., Tzortzis S., Aboudharam G., Raoult D., Drancourt M. *Yersinia pestis*: the natural history of plague. *Clin. Microbiol. Rev.* 2020; 34(1):e00044-19. DOI: 10.1128/CMR.00044-19.

6. Schaffer P.A., Brault S.A., Hershkovitz C., Harris L., Dowers K., House J., Aboellail T.A., Morley P.S., Daniels J.B. Pneumonic plague in a dog and widespread potential human exposure in a veterinary hospital, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(4):800–3. DOI: 10.3201/eid2504.181195.

7. Dai R., Wei B., Xiong H., Yang X., Peng Y., He J., Jin J., Wang Y., Zha X., Zhang Z., Liang Y., Zhang Q., Xu J., Wang Z., Li W. Human plague associated with Tibetan sheep originates in marmots. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(8):e0006635. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006635.

8. Melman S.D., Ettestad P.E., VinHatton E.S., Ragsdale J.M., Takacs N., Onischuk L.M., Leonard P.M., Master S.S., Lucero V.S., Kingry L.C., Petersen J.M. Human case of bubonic plague resulting from the bite of a wild Gunnison's prairie dog during translocation from a plague endemic area. *Zoonoses Public Health*. 2018; 65(1):e254–8. DOI: 10.1111/zph.12419.

9. Gage K.L., Dennis D.T., Orloski K.A., Ettestad P., Brown T.L., Reynolds P.J., Pape W.J., Fritz C.L., Carter L.G., Stein J.D. Cases of cat-associated human plague in the Western US, 1977–1998. *Clin. Infect. Dis.* 2000; 30(6):893–900. DOI: 10.1086/313804.

10. Kuznetsov A.N., Syzdykov M.S., Erubaev T.K. [Assessment of the complex system of plague surveillance in Kazakhstan]. *Karantinnnye i Zoonoznye Infektsii v Kazakhstane [Quarantine and zoonotic infections in Kazakhstan]*. 2019; 2(39):3–10.

11. Abdikarimov S.T., Ibragimov E.S., Egembergenov C.E. [Current epizootic condition of natural plague foci in Kyrgyz Republic and measures aimed at provision of epidemiological welfare as regards plague]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*

[Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; (2):40–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-45-48.

12. Shchuchinov L.V. [Problems of organizing anti-epidemic measures in a natural plague focus]. *Natsionalnye Prioritety Rossii [National Priorities of Russia]*. 2016; 4(22):68–71.

13. Sariyeva G., Abdel Z., Shabunin A., Sagiyev Z., Abdikarimov S., Bazarkanova G., Kendirbaev D., Maimulov R., Dzharparova A., Sofeikov V., Abdirassilova A., Mussagaliyeva R., Kurmanov B., Aitbaeva Z., Almazbek D. Current status of the Sari-Dzhas natural focus of plague, Kyrgyzstan: epizootic activity and marmot population. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2018; 18(10):524–32. DOI: 10.1089/vbz.2017.2200.

14. Du H.-W., Wang Y., Zhuang D.-F., Jiang X.-S. Temporal and spatial distribution characteristics in the natural plague foci of Chinese Mongolian gerbils based on spatial autocorrelation. *Infect. Dis. Poverty*. 2017; 6(1):124. DOI: 10.1186/s40249-017-0338-7.

15. Popov N.V., Eroshenko G.A., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Ivanova A.V., Oglodin E.G., Nikiforov K.A., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Ayazbaev T.Z., Dzharparova A.K., Berdiev S.K., Lopatin A.A., Dubyansky V.M., Shcherbakova S.A., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. [Epidemiological situation on plague in 2020. Forecast of epizootic activity of natural plague foci in the Russian Federation and other CIS countries for 2021]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):52–62. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-52-62.

16. Kuznetsov A.A., Porshakov A.M., Matrosov A.N., Kouklev E.V., Korotkov V.B., Mezentsev V.M., Popov N.V., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Kutyrev V.V. [Prospects of GIS-passportization of natural plague foci in the territory of the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; (1):48–53. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-1(111)-48-53.

17. Toms M. Remote sensing and GIS for ecologists: Using open source software. *Bird Study*. 2017; 64(1):116–9. DOI: 10.1080/00063657.2016.1253665.

18. Kanga S., Sudhanshu, Meraj G., Farooq M., Nathawat M.S., Singh S.K. Reporting the management of COVID-19 threat in India using remote sensing and GIS based approach. *Geocarto International*. 2020; 1–8. DOI: 10.1080/10106049.2020.1778106.

19. Ryazanova A.G., Gerasimenko D.K., Buravtseva N.P., Mezentsev V.M., Logvin F.V., Golovinskaya T.M., Semenova O.V., Akseanova L.Yu., Perekhovtseva S.V., Chmerenko D.K., Kulichenko A.N. [Application of geoinformation technologies for assessment of the epizootiological and epidemiological situation on anthrax in the Volgograd Region]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (4):112–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-112-119.

Authors:

Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Safronov V.A., Porshakov A.M., Ivanova A.V., Martsohka K.S., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Dubyansky V.M., Ashibokov U.M., Gazieva A.Yu., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Lopatin A.A. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nl.ru.

Zenkevich E.S. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

Об авторах:

Попов Н.В., Карнаухова И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Сафронов В.А., Поршаков А.М., Иванова А.В., Марцоха К.С., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Чипанин Е.В., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилисера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Дубянский В.М., Ашибокоев У.М., Газиева А.Ю., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Лопатин А.А. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nl.ru.

Зенкевич Е.С. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, 18, стр. 5 и 7.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-43-53

УДК 616.98:578.833.28(470)

Е.В. Путинцева, С.К. Удовиченко, Д.Н. Никитин, Н.В. Бородай, И.М. Шпак, В.К. Фомина, А.В. Несговорова, А.А. Батури, Е.В. Молчанова, Д.Р. Прилепская, Е.В. Пименова, Д.В. Викторов, А.В. Топорков

ЛИХОРАДКА ЗАПАДНОГО НИЛА: РЕЗУЛЬТАТЫ МОНИТОРИНГА ЗА ВОЗБУДИТЕЛЕМ В 2021 г. В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ, ПРОГНОЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ НА 2022 г.

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация

Эпидемиологическая ситуация по лихорадке Западного Нила (ЛЗН) в России в 2021 г. характеризовалась подъемом заболеваемости относительно 2020 г. (рост более чем в 6 раз). Определены особенности эпидемического процесса ЛЗН: территориальное распределение случаев (75 % – в субъектах Центрального федерального округа), расширение ареала возбудителя с вовлечением новых территорий (впервые официальная регистрация случаев в Москве и Тульской области), раннее окончание эпидемического сезона. В структуре заболеваемости отмечены увеличение доли нейротропных форм, рост удельного веса лиц мужского пола и возрастной группы 30–39 лет, сокращение доли населения, контактировавшей с возбудителем в природных местах массового отдыха. По результатам исследований Референс-центра по мониторингу за возбудителем ЛЗН, на территории субъектов Центрального, Южного и Северо-Кавказского федеральных округов установлена интенсивная циркуляция возбудителя ЛЗН. Низкий уровень зарегистрированной заболеваемости был обусловлен недостаточно эффективным выявлением больных ЛЗН. Результаты молекулярно-генетического исследования показали, что на территории европейской части России как в эпизоотическом, так и в эпидемическом циклах циркулировал вирус Западного Нила (ВЗН) второго генотипа, только в эпизоотическом цикле – ВЗН второго генотипа на юге Западной Сибири (Омская область) и четвертого генотипа в Волгоградской области. Посредством филогенетического анализа установлено, что изоляты, выделенные из Астраханской, Волгоградской, Ростовской, Воронежской областей и Республики Дагестан в 2021 г., относятся к ранее не отмечаемому на территории России геноварианту ВЗН второго генотипа. Топология филогенетического дерева указывает на возможное африканское происхождение изолятов, вероятно, занесенных в Россию перелетными птицами через побережье Каспийского моря. В Волгоградской области циркулировал ВЗН как укоренившейся кланды второго генотипа (с 2007 г.), так и нового геноварианта. Специалистами Референс-центра на основе методики нейросетевого моделирования разработан прогноз развития эпидемиологической ситуации по ЛЗН в 2022 г. в Волгоградской области, согласно которому ожидается рост заболеваемости, сопоставимый с таковым в 2010 и 2012 гг. На основании климатического прогноза возможен подъем заболеваемости во всех федеральных округах европейской части России, южных территориях Урала, Западной Сибири и Дальнего Востока.

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила, вирус Западного Нила, эпидемическая ситуация, мониторинг за возбудителем, прогноз.

Корреспондирующий автор: Путинцева Елена Викторовна, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Для цитирования: Путинцева Е.В., Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Шпак И.М., Фомина В.К., Несговорова А.В., Батури А.А., Молчанова Е.В., Прилепская Д.Р., Пименова Е.В., Викторов Д.В., Топорков А.В. Лихорадка Западного Нила: результаты мониторинга за возбудителем в 2021 г. в Российской Федерации, прогноз заболеваемости на 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 1:43–53. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-43-53

Поступила 01.02.2022. Принята к публ. 08.02.2022.

E.V. Putintseva, S.K. Udovichenko, D.N. Nikitin, N.V. Borodai, I.M. Shpak, V.K. Fomina, A.V. Nesgovorova, A.A. Baturin, E.V. Molchanova, D.R. Prilepskaya, E.V. Pimenova, D.V. Viktorov, A.V. Toporkov

West Nile Fever: Results of Monitoring over the Causative Agent in the Russian Federation in 2021, the Incidence Forecast for 2022

Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation

Abstract. The epidemiological situation on West Nile fever (WNF) in Russia in 2021 was characterized by an increase in the incidence relative to 2020 (more than 6-fold increase). The peculiarities of the WNF epidemic process have been determined: the territorial distribution of cases (75 % – in the constituent entities of the Central Federal District), the expansion of the causative agent's areal with the involvement of new territories (official registration of cases in Moscow and the Tula Region for the first time ever), the early end of the epidemic season. An increase in the proportion of neuroinvasive forms, an increase in the share of male patients and the age group of 30–39 years, a decrease in the proportion of the population in contact with the pathogen in natural places of mass recreation were observed in the incidence structure. According to the results of the monitoring studies carried out by the Reference Center, intensive circulation of the pathogen was established on the territory of the Central Federal District, Southern Federal District, and the North Caucasian Federal District. The low reported incidence was due to insufficient detection of WNF patients. The results of molecular-genetic study showed that in the European part of Russia, WNV lineage 2 circulated in both epizootic and epidemic cycles, lineage 2 in the south of Western Siberia (Omsk Region) and lineage 4 in the Volgograd Region – in the epizootic cycle only. Phylogenetic analysis revealed that strains isolated from the Astrakhan, Volgograd, Rostov, Voronezh Regions and the Republic of Dagestan in 2021 belong to the genovariant of WNV lineage 2 not registered in Russia previously.

The topology of the phylogenetic tree indicates the possible African origin of the isolates, probably imported into Russia by migratory birds across the coast of the Caspian Sea. In the Volgograd Region, WNV of both the entrenched clade of lineage 2 (since 2007) and new genovariant circulated. The specialists of the Reference Center developed a forecast of WNF epidemiological situation development in the Volgograd Region in 2022 on the basis of the neural network modeling technique, according to which an increase in the incidence is expected, comparable to that in 2010 and 2012. Based on the climate projections, an increase in the incidence is possible in all Federal Districts of the European part of Russia, the southern territories of the Urals, Western Siberia, and the Far East.

Key words: West Nile fever, West Nile virus, epidemic situation, monitoring over the causative agent, forecast.

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

Corresponding author: Elena V. Putintseva, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Citation: Putintseva E.V., Udovichenko S.K., Nikitin D.N., Borodai N.V., Shpak I.M., Fomina V.K., Nesgovorova A.V., Baturin A.A., Molchanova E.V., Prilepskaya D.R., Pimenova E.V., Viktorov D.V., Toporkov A.V. West Nile Fever: Results of Monitoring over the Causative Agent in the Russian Federation in 2021, the Incidence Forecast for 2022. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:43–53. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-43-53
Received 01.02.2022. Accepted 08.02.2022.

Putintseva E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9368-6165>
Udovichenko S.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8682-1536>
Nikitin D.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6940-0350>
Borodai N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2076-5276>
Shpak I.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6446-0274>
Fomina V.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6081-4052>
Nesgovorova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5810-8864>

Baturin A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9510-7246>
Molchanova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3722-8159>
Prilepskaya D.R., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9305-4299>
Pimenova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8632-203X>
Viktorov D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2722-7948>
Toporkov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3449-4657>

Эпидемиологическая обстановка по лихорадке Западного Нила в мире. Циркуляция вируса Западного Нила (ВЗН) в эпидемическом и эпизоотическом циклах в 2021 г. подтверждена на территории Европейского региона, Северной и Южной Америки.

В 2021 г., по данным Европейского центра профилактики и контроля заболеваний, зарегистрировано 139 случаев заболевания лихорадкой Западного Нила (ЛЗН) в семи странах Европейского союза (ЕС) и 18 случаев, включая 3 смерти, на территории граничащих государств (Сербия), что в 2,1 раза ниже показателя 2020 г. и 3,9 раза – среднемноголетнего значения. Во всех странах ЕС заболеваемость была на уровне или ниже среднемноголетних значений, наибольшее число заболевших установлено в Греции (57 случаев). В 2021 г. случаи ЛЗН вновь зарегистрированы в Германии (заболеваемость впервые выявлена в 2019 г.) с вовлечением ранее эндемичных северо-восточных районов. В странах ЕС общее число смертельных исходов составило 9 случаев (средняя летальность – 6,5 %, в предыдущем году – 12 %), из них 77,8 % пришлось на Грецию. Об эпизоотиях среди лошадей сообщили Германия (16 вспышек), Испания (11), Португалия (4), Венгрия (3), Франция (2) и Греция (1), среди птиц – Испания (7) и Словения (1) [1]. Из других стран Европейского региона, не представляющих отчетность в Европейский центр профилактики и контроля заболеваний, заболеваемость ЛЗН отмечена на Украине (6 случаев, включая 1 завозной) [2] и в Израиле (7 случаев, из них 4 классифицированы как подозрительные) [3]. Известно, что на Украине ЛЗН распространена на территориях Северо-Западного Причерноморья (Одесская, Николаевская, Херсонская области), а также на востоке и западе страны [4]. В 2020 г. здесь диагностировано 4 случая заболевания, в 2019 г. – 26 случаев [2].

В США в 2021 г. отмечен эпидемический подъем заболеваемости с регистрацией, по данным цен-

тров по контролю и профилактике заболеваний, 2695 случаев заболевания, что в 3,7 раза превысило показатель 2020 г. (731 случай) и в 1,1 раза – среднемноголетнее значение (2387,8 случая). Эпизоотические проявления болезни подтверждены во всех административных территориях США, случаи заболевания людей – в 47 из 50. Наиболее интенсивное течение эпидемического процесса наблюдалось в штате Аризона, на который пришлось 61 % всех случаев ЛЗН и 58,6 % летальных исходов [5]. Из общего числа заболевших у 69 % установлена нейроинвазивная форма инфекции (в 2020 г. – 76,5 %, в среднем за период 1999–2020 гг. – 49,2 %). Высокая доля клинических форм с поражением центральной нервной системы (ЦНС) связана с приоритетностью их выявления национальной системой эпидемиологического надзора как наиболее точного индикатора интенсивности циркуляции ВЗН. В 2021 г. в США зарегистрирован 191 летальный исход от заболевания. Уровень летальности (7,1 %) был ниже по сравнению с предыдущим годом (9 %), однако превысил среднемноголетнее значение (4,7 %).

На территории Канады (на 23.11.2021), согласно данным Агентства общественного здравоохранения, в сезон 2021 г. зарегистрировано 29 случаев ЛЗН в трех провинциях: Онтарио (18 случаев), Квебек (6) и Манитоба (5). По сравнению с предыдущим годом установлено снижение заболеваемости в 2,9 раза и многократное снижение относительно среднемноголетнего показателя (за 2002–2020 гг. – 342,6 случая). На долю нейроинвазивных форм пришлось 20,7 % (в 2020 г. – 17,4 %). Случаи летальных исходов не выявлены. По результатам эпизоотологического мониторинга маркеры возбудителя в объектах внешней среды обнаружены в тех же провинциях, что и случаи заболевания, а также в Альберте и Саскачеван [6].

Из других стран Американского региона об эпизоотических проявлениях болезни сообщила Бразилия (подтвержденный случай ЛЗН у мула в штате Парана) [7]. Известно, что на территории этой

страны спорадические случаи ЛЗН у людей диагностированы в 2014, 2017, 2019 и 2020 гг.

Особенности эпидемического процесса ЛЗН в России в 2021 г. По данным, предоставленным управлениями Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации в Референс-центр по мониторингу за возбудителем ЛЗН (далее – Референс-центр), в эпидемический сезон 2021 г. зарегистрировано 76 случаев заболевания. Заболеваемость ЛЗН в целом по России (0,05/100 тыс.) была существенно (более чем в 6 раз) выше значений прошлого эпидемического сезона (0,008/100 тыс.) [8], но не превысила среднееголетнее значения (0,08/100 тыс.) (рис. 1, А). Абсолютное число случаев в 2021 г. снизилось в 2,4 раза относительно среднееголетнего показателя (179,9 случая), однако в 7,5 раза превысило количество случаев в 2020 г. (10). У четырех больных ЛЗН лабораторно подтверждена сочетанная инфекция с COVID-19 (в Волгоградской области – 2, от которой 1 больной (85 лет) умер, в Республике Дагестан и Ростовской области – по 1 случаю).

Случаи заболевания ЛЗН отмечены в девяти субъектах трех федеральных округов: Центральном (ЦФО) – 57 случаев (Воронежская область – 28, Липецкая – 1, Тульская – 1, г. Москва – 27); Южном (ЮФО) – 17 (Волгоградская область – 13, Ростовская – 2, Краснодарский край – 1, Республика Крым – 1); Северо-Кавказском (СКФО) – 2 (Республика Дагестан). Особенностью эпидемического сезона 2021 г. является территориальное распределение случаев заболеваний (75 % – в ЦФО), а также вовлечение в эпидемический процесс новых регионов, свидетельствующее о продолжающемся расширении ареала ЛЗН.

Впервые в 2021 г. местные случаи заболевания выявлены в Москве (27 случаев, заболеваемость – 0,21/100 тыс.). Вспышка ЛЗН протекала на фоне чрезвычайно интенсивных эпизоотий среди птиц семейства врановых и хищных птиц, сопровождавшихся их массовой гибелью. Интенсивному течению эпизоотического и эпидемического процессов

способствовали благоприятно сложившиеся климатические условия (жаркое лето), приведшие к росту численности переносчиков ВЗН, быстрому накоплению в них возбудителя и эффективной его передаче. Вероятно, вирус мог циркулировать на территории Москвы и Московской области и ранее. Однако обследование на ЛЗН лихорадящих больных в эпидемический сезон на данных территориях в 2015–2020 гг. не проводилось, как и качественный эпизоотологический мониторинг (только в Московской области при низком объеме исследуемого полевого материала). В пользу нашего предположения могут свидетельствовать результаты серологического обследования выборочных групп здорового населения Московской области, у 2,3–5 % из которых в 2015–2017 гг. и 2019 г. обнаружены антитела к ВЗН.

В 2021 г. один случай заболевания отмечен в Тульской области, где ранее местные случаи ЛЗН официально не регистрировались. Вместе с тем специалистами НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Министерства здравоохранения Российской Федерации в результате серологического обследования лихорадящих больных, госпитализированных в 2012 г. в лечебные учреждения г. Тулы, диагностированы четыре случая заболевания ЛЗН у местных жителей, заразившихся по месту проживания в августе [9]. Позднее, в 2017 г., антитела к ВЗН выявлены у 1,5 % обследованных доноров крови в Тульской области [10].

В Воронежской области, где ЛЗН ежегодно регистрируется с 2010 г., заболеваемость (1,2/100 тыс.) в 1,8 раза превысила среднееголетнее значение (0,65/100 тыс.). По всей видимости, рост заболеваемости связан с высокой инфицированностью основных переносчиков ВЗН, составившей 25 % (в 3 раза выше по сравнению с Волгоградской областью).

На эндемичные территории ЮФО, вклад которых в общероссийскую заболеваемость за весь период регистрации болезни составляет 84 %, в 2021 г. пришлось только 22 % случаев. В субъектах ЮФО с подтвержденными случаями заболеваемость не пре-

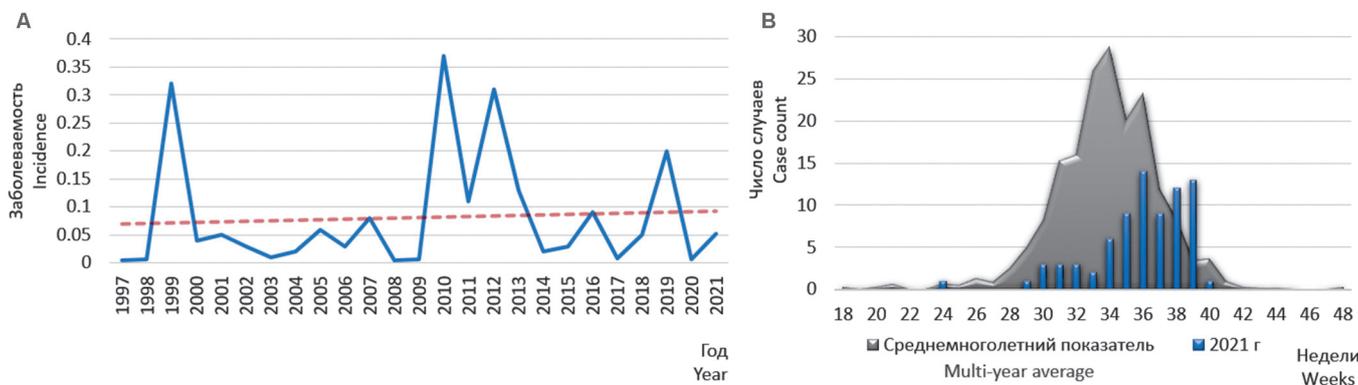


Рис. 1. Заболеваемость ЛЗН в России:

А – динамика заболеваемости ЛЗН в России в 1997–2021 гг.; В – понедельное распределение (по дате постановки окончательного диагноза) случаев ЛЗН в 2021 г. в сравнении со среднееголетним показателем

Fig. 1. West Nile fever (WNF) incidence in Russia:

А – dynamics of WNF incidence in Russia between 1997 and 2021; В – weekly distribution (by the final diagnosis date) of WNF cases in 2021 as compared to the long-term annual average

вышла среднемноголетних значений. Обращает на себя внимание отсутствие регистрации случаев ЛЗН в Астраханской области (впервые за период 1997–2020 гг.), а также сохраняющаяся на спорадическом уровне заболеваемость в Ростовской и Волгоградской областях при наличии благоприятных климатических условий и подтвержденной активной циркуляции возбудителя в энзоотическом цикле.

В Республике Дагестан, где за весь период наблюдения официально зарегистрирован один случай ЛЗН в 2018 г., специалистами Референс-центра при проведении планового мониторинга в 2021 г. подтверждено два случая (заболеваемость – 0,06/100 тыс.). Следует отметить, что об активной, но не диагностированной циркуляции возбудителя в Республике Дагестан свидетельствовал ежегодно выявляемый высокий уровень иммунной прослойки к ВЗН среди местного населения. Так, в 2016–2020 гг. наличие специфических к ВЗН антител установлено у жителей 17 из 18 обследованных районов и городов республиканского значения. Уровень иммунной прослойки в среднем составил 14,6 %, в отдельных районах достигая 40 % и более.

Завозные случаи ЛЗН, связанные с посещением зарубежных стран, не зарегистрированы. На территории России установлены случаи завоза ЛЗН из одних субъектов в другие: в Краснодарском крае выявлен больной с заражением в Ростовской области, в Волгоградской области – с заражением в Республике Дагестан, в Воронежской области – с заражением в Липецкой области, в Москве – с заражением в Московской (4 случая) и Белгородской (1) областях.

Сезонный подъем заболеваемости пришелся на июнь – сентябрь, в целом по России продолжительность эпидемического сезона составила 16 недель (в 2020 г. – 12 недель, за многолетний период наблюдения – 13,6 недели). Регистрация случаев заболевания ЛЗН (по дате постановки окончательного диагноза) отмечена в июне – 1,3 % от общего числа случаев, июле – 9,4 %, августе – 33,3 % и сентябре – 56 %. Таким образом, установлено смещение максимальной регистрации заболеваемости на конец лета – начало осени, что соответствовало среднемноголетнему тренду динамики, сложившемуся в России в последние годы. Пик заболеваемости ЛЗН пришелся на сентябрь с последующим резким окончанием сезона. Последние случаи ЛЗН в текущий эпидемический сезон отмечены на 40-й неделе (в субъектах ЦФО), а за период 2009–2020 гг. – на 42-й неделе, максимально – на 48-й (2018 г.) (рис. 1, В).

Как и в предыдущие сезоны, в 2021 г. преобладали клинические формы ЛЗН без поражения ЦНС. В среднем по России они составили 52 % от общего числа случаев. На нейроинвазивные формы в общей структуре заболеваний пришлось 48 % (в США – 69 %, Греции – 64 %) [5], что является самым высоким показателем за весь период наблюдения за ЛЗН в России. Данный показатель сформирован за счет высокого удельного веса заболеваний с симптомами

поражения ЦНС в Москве и Воронежской области (89 и 64 % соответственно). Ранее значительный рост числа нейроинвазивных форм наблюдался в 2011 г. – 30 % (за счет Краснодарского края и Воронежской области, где показатели составляли 86 и 50 % соответственно), в 2019 г. – 29 % (за счет показателей в Липецкой области – 75 %, Волгоградской области и Ставропольском крае – по 50 %, Краснодарском крае – 37 %) и в 2020 г. – 40 % (за счет Астраханской области, где доля нейроинвазивных форм составила 50 %) [8].

В структуре заболеваемости по тяжести клинического течения установлено преобладание средне-тяжелых форм (68 %), что соответствовало среднемноголетним значениям. Доля случаев легкого течения составила 19 % (в 2020 г. – 10 %, 2019 г. – 25 %, 2018 г. – 14 %), тяжелого – 13 % (в 2020 г. – 0, 2019 г. – 10 %, 2018 г. – 14 %). Обращает на себя внимание, что 77 % от общего числа легких форм заболевания выявлено на территории Воронежской области и свидетельствует о высоком уровне настороженности медицинского персонала в отношении ЛЗН. Тяжелые формы заболевания отмечены в Москве, Волгоградской и Воронежской областях. Летальность от ЛЗН в сезон 2021 г. в России не зарегистрирована (в 2020 г. – 0, 2019 г. – 1,1 %, 2018 г. – 3,9 %), в США и странах ЕС летальность составила 7,1 и 6,5 % соответственно [1, 5].

В 2021 г. на городских жителей пришлось 85,3 % от всех случаев, что значительно превысило аналогичный показатель за последние годы наблюдения (2020 г. – 60 %, 2019 г. – 67 %, 2018 г. – 72 %). В ЦФО жители городов составили 91 % от общего числа случаев (Москва – 100 %, Воронежская область – 85 %), в ЮФО – 65 % (Волгоградская область – 69 %, Республика Крым – 100 %), в СКФО – 100 % (Республика Дагестан). Низкая доля среди заболевших сельских жителей, активно посещающих природные биотопы и имеющих интенсивный контакт с переносчиками инфекции, может быть объяснена недостаточно эффективным выявлением случаев ЛЗН.

На детей и подростков до 14 лет в целом по России пришлось 7 % случаев ЛЗН (Москва, Краснодарский край, Республика Крым и Волгоградская область). Увеличение доли детей ранее наблюдалось в годы эпидемических подъемов заболеваемости: в 2012 г. – 10,5 %, 2014 г. – 19 %, 2018 г. – 10,5 %, в межэпидемические периоды она не превышала 4 %.

В сезон 2021 г. не изменилась тенденция преобладания в структуре заболеваемости ЛЗН лиц старшей возрастной группы. Отмечено абсолютное доминирование возрастной категории «60 и более лет» – 29 % (в т.ч. больных 70 лет и старше – 9 %), но, по сравнению с предыдущими эпидемическими сезонами, этот показатель был более низким (в 2019 г. – 35 %, 2018 г. – 36 %). Обращает на себя внимание высокий удельный вес больных возрастной категории «30–39 лет» (23 %), за счет чего в

совокупности больные в возрасте до 50 лет преобладали над старшими возрастными группами и составляли 53 %.

В социальной структуре заболевших превалировала группа «служащие», которая составила самое большое значение за весь период наблюдения – 30 % (в 2020 г. – 20 %, 2019 г. – 14 %, 2018 г. – 17 %).

Эпидемический процесс ЛЗН в 2021 г. характеризовался значительным преобладанием числа заболевших мужчин над числом женщин (67 и 33 % соответственно). В среднем за весь период регистрации ЛЗН на территории России доля мужчин в структуре заболеваемости составила 58 %. Вероятно, данное наблюдение может быть связано с более тяжелым клиническим течением заболевания у мужчин, что является причиной обращения за медицинской помощью и выявления ЛЗН. По результатам проведенного анализа установлено, что среди заболевших с нейроинвазивными формами доля мужчин составила 61 %. В США среди пациентов с симптомами поражения ЦНС на лиц мужского пола пришлось 62 %, в то время как их удельный вес в общей структуре заболеваемости составил 56 % [11].

По материалам эпидемиологических исследований, представленных субъектами в Референс-центр, половина выявленных больных заразилась по месту постоянного проживания, из них в городах – 38 %, сельской местности – 12 %. Это самый низкий показатель заражения по месту жительства за последние годы: в 2020 г. он составлял 70 %, 2019 г. – 74 %, 2018 г. – 56 % [8]. Инфицирование ВЗН значительной части больных (35 %) связано с пребыванием на дачных участках, что превысило аналогичные показатели за период 2017–2020 гг. Так, заражение на дачных (садово-огородных) участках отмечено в 2020 г. у 20 % заболевших [8], 2019 г. – 12 %, 2018 г. – 23 %, 2017 г. – 1 %. Существенно сократилась доля населения, заразившегося в природных местах массового отдыха (15 %). В 2017 г. этот показатель составил 42 %, а в последующие годы наблюдалось его снижение: 2018 г. – 20 %, 2019 г. – 14 %, 2020 г. – 10 %. Таким образом, в последние годы наметилась тенденция изменения структуры мест заражения ВЗН как результат изменения образа жизни населения и организации отдыха, в основном на дачных участках (введение ограничительных мероприятий в условиях эпидемического распространения COVID-19).

У 80 % больных ЛЗН в 2021 г. клинический диагноз подтвержден обнаружением специфических антител класса IgM методом иммуноферментного анализа (ИФА) и у 20 % – выявлением РНК ВЗН методом полимеразной цепной реакции обратной транскрипции (ОТ-ПЦР). РНК ВЗН обнаружена в пробах клинического материала от больных на территории шести субъектов (Волгоградская, Воронежская, Тульская, Ростовская области, Республика Дагестан и г. Москва). Исследование клинического материала методом ОТ-ПЦР в сезон 2021 г. проводилось

Центром гигиены и эпидемиологии в Ростовской области, Центральным НИИ эпидемиологии и Референс-центром. Таким образом, основным методом диагностики ЛЗН в медицинских организациях по-прежнему является ИФА.

Диагноз «ЛЗН» поставлен в первые три дня от момента госпитализации (или обращения) только 29 % больных (в Ростовской области – в 100 % выявленных на данной территории случаях, Воронежской – 50 %, Волгоградской – 31 %, Республике Дагестан – 50 %, Москве – 7 %). Максимально длительный период от момента обращения за медицинской помощью (госпитализации) до этиологической расшифровки случая установлен в Тульской области (на 18-й день), Москве (на 16-й день) и Волгоградской области (на 15-й день).

Поздняя постановка диагноза отмечена как на территориях с интенсивными проявлениями эпидемического процесса, так и в субъектах, где ЛЗН регистрируется спорадически. Клинический диагноз в целом по России в 2021 г. поставлен на 6,1 день от момента обращения за медицинской помощью (или госпитализации), при этом данный показатель существенно не отличался для нейроинвазивной (5,8) и гриппоподобной (6,6) форм. Аналогичная ситуация отмечена и в предшествующие годы: в 2018 г. клинический диагноз в среднем по России ставился через 6,7 дня; 2019 г. – 6,2; 2020 г. – 11,1. Причинами несвоевременной постановки диагноза являются как полиморфизм клинических проявлений ЛЗН, так и недостаточная профессиональная подготовка медицинских работников, а также, возможно, отсутствие утвержденной тактики обследования лихорадящих больных, разработанной Управлением Роспотребнадзора на каждой территории.

Активное выявление больных ЛЗН среди лихорадящих и больных, имеющих сходные клинические симптомы, проводилось медицинскими организациями в 2021 г. в 30 субъектах (в 2020 г. – 26, 2019 г. – 42, 2018 г. – 46): в 11 субъектах ЦФО, 6 – Приволжского (ПФО), 1 – Уральского (УФО), 4 – Сибирского (СФО) федеральных округов, 2 – СКФО и 6 – ЮФО. На административных территориях, входящих в Дальневосточный (ДФО) и Северо-Западный (СЗФО) федеральные округа, лихорадящие больные на наличие маркеров ВЗН не обследовались. Таким образом, на большей части территории России, где возможна передача ВЗН человеку (64 субъекта), активное выявление больных в сезон 2021 г. не проводилось.

Количество обследованных в 13 из 30 (43,3 %) субъектов составило от 1 до 10 человек за сезон. На территории ЮФО с установленной циркуляцией ВЗН в эпизоотическом и эпидемическом циклах обследование на ЛЗН лихорадящих больных не проводилось в Республике Калмыкия, оставалось на крайне низком уровне – в Республике Крым и г. Севастополе (4). В субъектах с интенсивными проявлениями эпидемического процесса объемы диагностических ис-

следований по выявлению больных ЛЗН среди лихорадящих были недостаточными. В Ростовской области количество обследованных составило 23 человека, Астраханской – 43, Волгоградской – 44. В Краснодарском крае при выявлении у 4 лихорадящих больных антител к ВЗН класса IgM (исследования проведены на базе Причерноморской противочумной станции) медицинскими организациями не был выставлен диагноз «ЛЗН». О результатах проведенных лабораторных исследований своевременно не проинформированы территориальный орган Роспотребнадзора и Референс-центр, что требует повышения эффективности внутриведомственного взаимодействия.

Основные результаты энтомологического мониторинга. Данные 42 субъектов Российской Федерации не подлежали обработке (не представлены отчеты, не проводился учет численности основных переносчиков либо проводился кратковременно в отдельные периоды сезона). На большей части территории России в апреле – сентябре сложились благоприятные климатические условия для размножения переносчиков ВЗН. Так, в природных биотопах Воронежской области среднесезонный показатель численности переносчика значительно превышал среднегодовалый показатель (в 7 раз). В субъектах ЮФО, ЦФО, СКФО, СФО в этот временной период температура воздуха превысила среднегодовые значения, в остальных субъектах – находилась на уровне климатической нормы. Лето было жарким на всей территории ЦФО. В июне среднемесячная температура имела отклонение от среднегодового уровня на +1,6...+3,3 °С. В Москве 23 июня зарегистрирован температурный рекорд (+34,8 °С) за период наблюдений с 1779 г., в Воронеже 24 июня температура поднялась до +35,5 °С. С конца сентября резко наступили заморозки, приведшие к гибели переносчиков и окончанию эпидемиологического сезона.

Мониторинг за возбудителем ЛЗН. Мониторинг циркуляции ВЗН в объектах внешней среды проводился в сезон 2021 г. в 67 субъектах Российской Федерации (в 2020 г. – 61; 2019 г. – 72; 2018 г. – 56). Маркеры ВЗН в носителях и переносчиках, по данным, представленным управлениями Роспотребнадзора, выявлены на территории семи субъектов (2020 г. – 3; 2019 г. – 7; 2018 г. – 3). РНК ВЗН обнаружена в пробе комаров *Aedes vexans* в Астраханской области (Астраханская противочумная станция), в граве *Corvus frugilegus* в Саратовской области (РосНИПЧИ «Микроб»); антигены ВЗН – в клещах *Ixodes persulcatus* в Архангельской области (Центр гигиены и эпидемиологии в Архангельской области), в полевке обыкновенной *Microtus arvalis* в Ленинградской области (Центр гигиены и эпидемиологии в Ленинградской области), в граве *S. frugilegus*, зайце-русаке *Lepus europaeus*, комарах *A. caspius*, *Ae. vexans*, кровососке *Lipoptena forsisetosa* в Ростовской области (Ростовский НИПЧИ), комарах

Culex pipiens в Краснодарском крае (Причерноморская противочумная станция); антитела к ВЗН – у 1,6 % обследуемых лошадей в Курской области (Курская областная ветеринарная лаборатория).

На территории Москвы и Московской области, где наблюдалась напряженная эпизоотическая и эпидемическая ситуация, по предварительным данным Центрального НИИ эпидемиологии, представленным в Референс-центр, в 82 пробах птиц, а также пробах комаров р. *Culex* выявлена РНК ВЗН второго генотипа.

Маркеры ВЗН обнаружены в 6 пробах клещей *I. persulcatus* из Приморского края, 1 пробе клещей *Dermacentor reticulatus* из Ставропольского края, 10 пробах комаров *Ae. vexans*, 7 – *Anopheles hyrcanus*, 3 – *Coquillettidia richardii* из Астраханской области. Исследования проведены специалистами ГНЦ ВБ «Вектор» в рамках пилотного проекта Роспотребнадзора по мониторингу трансмиссивных и зооантропонозных инфекций, выявлению новых и вновь появляющихся на территории Российской Федерации.

Серологическое обследование отдельных здоровых групп населения выполнено в 48 субъектах (в 2020 г. – 36; 2019 г. – 61; 2018 г. – 45). Антитела класса IgG к ВЗН обнаружены у населения 21 субъекта (в 2020 г. – 14; 2019 г. – 34; 2018 г. – 22) [7]. Положительные серологические находки в группах «доноры» и «животноводы» выявлены: у 7 % обследуемых в ЦФО (в Ивановской области); 12 % – СФО (в Красноярском крае без дифференциации с клещевым вирусным энцефалитом, КВЭ); 1,5–2 % – ДФО (в Камчатском крае и Магаданской области без дифференциации с КВЭ); 1,5–23 % – ЮФО (в Астраханской, Ростовской, Волгоградской областях); 1,5 % – ПФО (в Республике Мордовия и Ульяновской области без дифференциации с КВЭ).

Уровень иммунной прослойки к ВЗН у жителей отдельных населенных пунктов ЦФО составил 0,6–5,5 % (в Воронежской и Курской областях); СЗФО – 0,7–14 % (в Архангельской, Новгородской областях без дифференциации с КВЭ); СФО – 5–15 % (в Алтайском крае, Кемеровской области без дифференциации с КВЭ); ЮФО – 0,5–7 % (только в Краснодарском крае, Республике Крым, Волгоградской области); ПФО – 3–10 % (в Республике Башкортостан, Самарской области без дифференциации с КВЭ, Саратовской области); УФО – 1,6–10 % (в Тюменской и Курганской областях без дифференциации с КВЭ); СКФО – 21,4 % (в Республике Дагестан). Данные о серопревалентности населения, проживающего на эндемичной по КВЭ территории, без проведения дифференциальных диагностических исследований не позволяют получить объективные сведения о частоте контакта населения с возбудителем ЛЗН.

Результаты мониторинговых исследований, выполненных специалистами Референс-центра. В 2021 г. специалистами Референс-центра

проведен рекогносцировочный активный мониторинг за возбудителем ЛЗН на территории восьми субъектов Российской Федерации (Краснодарский край, Астраханская, Волгоградская, Ростовская, Воронежская области, республики Калмыкия, Адыгея и Дагестан), относящихся к территориям высокого эпидемиологического риска. Ключевой задачей являлась оценка интенсивности циркуляции возбудителя на территории данных субъектов в условиях снижения эффективности мониторинговых исследований за возбудителем ЛЗН и приоритетности мероприятий по надзору и контролю за COVID-19.

С этой целью специалистами Референс-центра выполнено исследование 1391 пробы биологического материала (птицы, клещи, комары, грызуны) из девяти субъектов Российской Федерации (вышеуказанные субъекты и Омская область). Исследование полевого материала из Омской области проводилось в рамках совместной научно-исследовательской работы с Омским научно-исследовательским институтом природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора. РНК ВЗН выявлена в 3,7 % проб, полученных из клещей *Hyalomma marginatum*, комаров *Cx. pipiens*, *Cx. modestus*, *An. maculipennis*, *Uranotaenia unguiculata*, *Coq. richiardii* из Волгоградской области, комаров *Cx. pipiens* из Республики Дагестан, комаров *Cx. pipiens*, *An. maculipennis*, *An. claviger*, *Ae. geniculatus* из Воронежской области, комаров *Cx. pipiens* и *Cx. modestus* из Астраханской области, комаров *Coq. richiardii* и клещей *I. persulcatus* из Омской области. По результатам типирования установлена принадлежность выделенных фрагментов РНК ВЗН ко второму генотипу в пробах от клещей и комаров, отловленных на территории Волгоградской и Омской областей, комаров из Республики Дагестан (впервые), Воронежской и Астраханской областей. Выделенная РНК из комаров *Ur. unguiculata* в Волгоградской области типирована как четвертый генотип. В комарах *Cx. pipiens*, отловленных на территории Волгоградской области, установлено отмечаемое ранее одновременное присутствие ВЗН и вируса Синдбис (в 3 из 161 пула). Полученные данные позволяют предположить возможность коинфицирования людей ВЗН и другими арбовирусами, что требует дальнейшего изучения.

Кроме этого, в Волгоградской области проведено серологическое обследование сельскохозяйственных животных и птиц (лошади и куры) как «маркеров» интенсивности эпизоотического процесса. В результате исследований в 206 из 349 (59 %) образцов крови обнаружены специфические к ВЗН антитела.

В девяти субъектах (перечисленные выше и Республика Крым) выполнены скрининговые обследования лихорадящих больных, находящихся на стационарном и/или амбулаторном лечении (1165 проб клинического материала). В целом специфические к ВЗН иммуноглобулины класса IgM обнаружены в 0,4 % проб от населения пяти субъектов (Волгоградская, Воронежская, Ростовская об-

ласти, республики Дагестан и Крым); класса IgG – 10,9 % проб от населения восьми субъектов (кроме Республики Дагестан); РНК ВЗН – 0,3 % проб (Волгоградская, Воронежская области и Республика Дагестан). По результатам исследований установлена серопревалентность населения, которая может характеризовать степень и частоту его контакта с возбудителем ЛЗН на территории.

В 2021 г. в рамках выполнения регламентированных функций (подтверждение диагноза на территории с впервые выявленной заболеваемостью ЛЗН, проведение углубленных молекулярно-генетических исследований), а также оказания практической помощи медицинским организациям Волгоградской области в диагностике больных ЛЗН специалистами Референс-центра проведено исследование 292 проб клинического материала. Выделенные фрагменты РНК из клинического материала от 5 больных из Волгоградской области и 1 больного из Республики Дагестан типированы как второй генотип ВЗН.

Таким образом, полученные данные позволяют говорить об интенсивной циркуляции ВЗН на юге европейской части России, а также в центральной части страны (Воронежская область) в сезон 2021 г., а количество зарегистрированных больных не отразило реальную эпидемическую ситуацию.

Молекулярно-генетическая характеристика вирусных изолятов 2021 г. По результатам вирусологического исследования выделено 34 изолята ВЗН из объектов внешней среды. Специалистами Референс-центра получены последовательности геномов 16 изолятов, из которых 12 изолятов выделено на территории Волгоградской области (Светлоярский, Среднеахтубинский районы, города Урюпинск и Волгоград) и по 1 – в Ростовской, Астраханской, Воронежской областях и Республике Дагестан. Филогенетический анализ на основании выравненных последовательностей геномов ВЗН из базы данных NCBI и последовательностей, полученных Референс-центром, показал, что все изоляты 2021 г. принадлежат ко второму генотипу возбудителя.

Три изолята относились к так называемой волгоградской кладе, к которой, помимо изолятов, выделенных на территории Волгоградской области в 2007, 2018–2021 гг., относятся изоляты, выделенные на территории Астраханской и Ростовской областей в 2020 г. Тринадцать изолятов формируют обособленную кладу, в которую вошли изоляты ВЗН из Астраханской, Волгоградской, Ростовской, Воронежской областей и Республики Дагестан (рис. 2).

Новый геновариант ВЗН второго генотипа не имеет гомологов в GenBank NCBI. Топология филогенетического древа указывает на его возможное африканское происхождение. Исходя из этого, можно предположить, что на территорию России вирус был занесен перелетными птицами (дальними мигрантами) через побережье Каспийского моря и далее распространился на северо-запад. Известно,

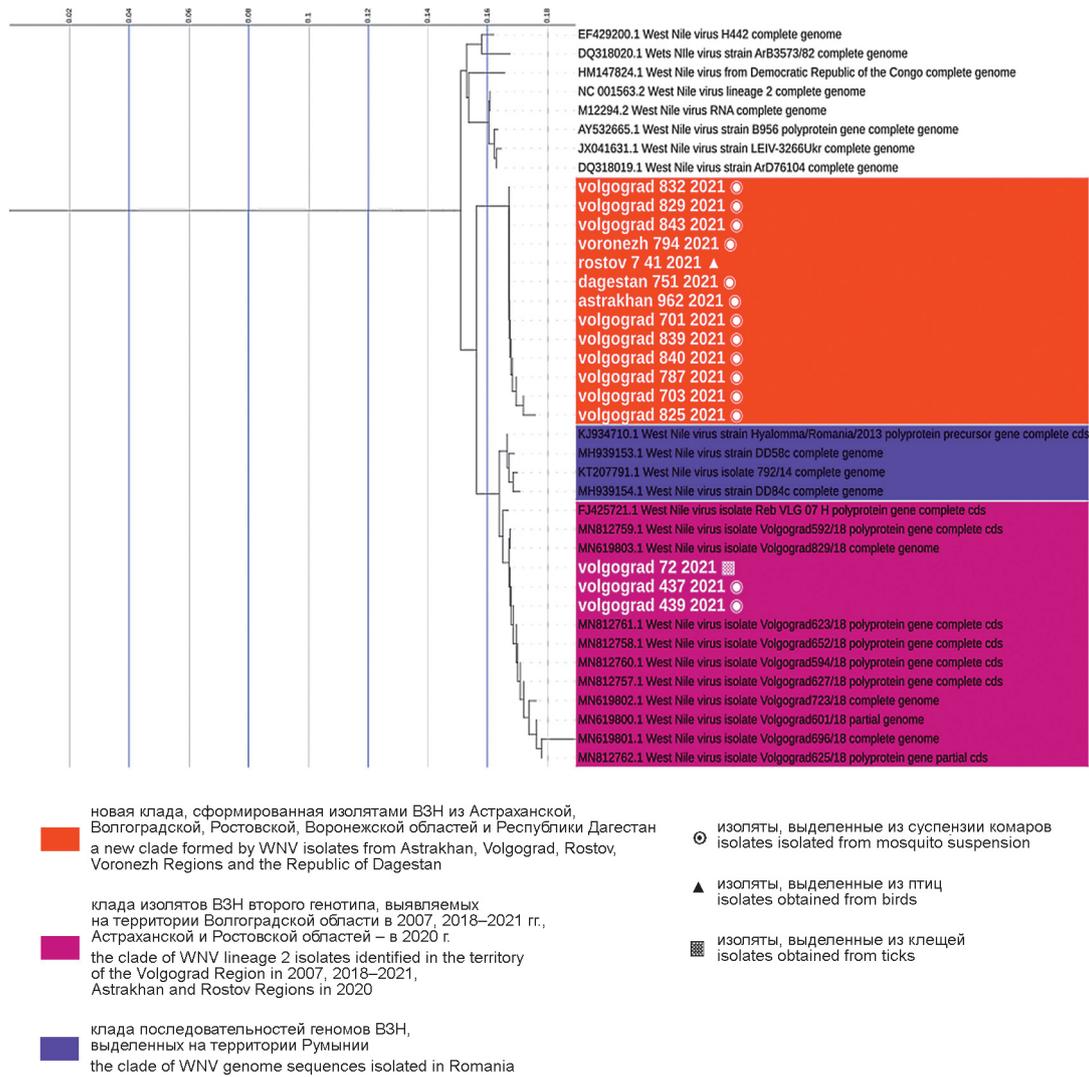


Рис. 2. Дендрограмма, построенная на основе выравненных последовательностей геномов изолятов ВЗН второго генотипа методом присоединения соседей

Fig. 2. Dendrogram constructed on the basis of aligned genome sequences of WNV lineage 2 isolates using the neighbor joining method

что с Африканского континента на территорию России осуществляют сезонную миграцию 145 видов птиц, среди них преобладают насекомоядные птицы семейств ласточковые (Hirundinidae), славковые (Sylviidae), дроздовые (Turdidae), трясогузковые (Motacillidae), сорокопутовые (Laniidae), жаворонковые (Alaudidae), овсянковые (Emberizidae), мухоловковые (Muscicapidae), иволговые (Oriolidae) и скворцовые (Sturnidae).

Возможным первоначальным местом заноса возбудителя из Африки на территорию России является Средний Прикаспий. Здесь расположен комплекс приморских лагун, через который проходит крупнейший в России магистральный путь транспалеарктических мигрантов, входящих в состав западносибирско-восточноафриканского миграционного ареала. Меридиональная ориентация лагун вдоль западного побережья Каспия изначально предопределила наличие в этом районе весьма оживленной миграционно-кочевой динамики, прослеживаемой на протяжении 10–10,5 месяцев в году.

Миграционные процессы имеют ярко выраженную специфику, связанную с тем, что один из районов (Туралинский) расположен в устье сравнительно узкого (4–5 км шириной) миграционного коридора, устроенного по типу «бутылочное горлышко», который ведет к концентрации и смешению птиц из различных орнитокомплексов, в связи с чем через лагуны летят единым потоком не только гидрофильные птицы, но и сухопутные мигранты (рис. 3). Суммарный объем миграционного потока через Туралинскую лагуну ежегодно составляет свыше 12 млн птиц 202 видов [12]. После заноса патогена дальнейшему распространению вируса на территории России могли способствовать ближние мигранты и кочующие птицы. Среди ближних мигрантов значимую роль в этом процессе могут играть большие бакланы, а также грачи и другие врановые, которые совершают кочевые миграции на соседние территории.

Необходимо отметить, что с момента первого обнаружения ВЗН второго генотипа в Европе (Венгрия) в 2004 г. область распространения дан-



Рис. 3. Схема расположения кавказского миграционного коридора – «бутылочного горлышка» и трасс предполагаемого пролета европейских и азиатских мигрантов [12]

Fig. 3. Scheme of the Caucasian migration corridor – the “bottle-neck” and the routes of the alleged flyways of European and Asian migrant birds [12]

ной генетической линии значительно расширилась и включает в себя страны Южной, Центральной, Западной и Восточной Европы [13], Казахстан и Россию. Самой восточной точкой обнаружения ВЗН второго генотипа является Еврейская автономная область. Филогенетический анализ геномов штаммов ВЗН, принадлежащих ко второй генетической линии, демонстрирует ее существенную неоднородность, обусловленную, по всей видимости, микроэволюционными изменениями возбудителя при попадании в новые экологические условия.

Так, в Волгоградской, Астраханской и Ростовской областях выявлены изоляты ВЗН второго генотипа, образующие единую монофилетичную группу. Ее первый представитель обнаружен в 2007 г., и по настоящее время изоляты, относящиеся к этой группе, выделяют из полевого и клинического материала. По всей видимости, данный геновариант сформировался и распространился на территории юга России после единичной интродукции, переживая неблагоприятные температурные условия в зимующих популяциях комаров.

Кроме обозначенных территорий, единичные случаи обнаружения представителей этого геноварианта ВЗН отмечены в Румынии в 2013 г. и Италии в 2014 г. Несмотря на данный факт, доминирующим геновариантом ВЗН второго генотипа на территории стран Европы считается венгерская клада, или Центральный/Южный европейский генотип 2 (Central/Southern European lineage 2), и до недавнего времени ее представителей на территории России не выявляли.

Однако в 2021 г. при расследовании вспышки ЛЗН в Москве специалистами Центрального НИИ

эпидемиологии, обнаружен геновариант ВЗН второго генотипа, относящийся к венгерской кладе в материале от больных (жителей Москвы), птиц и комаров (из Москвы и Московской области), тем самым подтвердив первые случаи местной передачи вируса на этой территории. Установлена высокая степень гомологии указанных изолятов ВЗН второго генотипа с изолятом, полученным в 2019 г. из тканей мозга ястреба-тетеревятника из Липецкой области. Таким образом, исследования 2021 г. показали, что подъем заболеваемости населения на территории ЦФО (Воронежская область и г. Москва) обусловлен различными геновариантами ВЗН второй генетической линии.

В целом климатические факторы сезона 2021 г. на большей части территории России (особенно в субъектах ЦФО, ЮФО и СКФО) были благоприятными для накопления и передачи возбудителя. Низкий уровень зарегистрированной заболеваемости был обусловлен недостаточно эффективным выявлением больных ЛЗН практически во всех субъектах России. В 2021 г. показатель заболеваемости ЛЗН в целом по России был существенно выше показателя прошлого эпидемического сезона, но не превысил среднееголетнего значения. Эпидемический процесс характеризовался подъемом заболеваемости в субъектах ЦФО (за счет Москвы, где местные случаи заболевания зарегистрированы впервые, и Воронежской области). Впервые за период наблюдения в Астраханской области не выявлены больные ЛЗН. Динамика заболеваемости имела сезонность с июня по сентябрь, с максимальным проявлением в сентябре, и характеризовалась ранним окончанием сезона передачи ВЗН.

Как и прогнозировали специалисты Референс-центра, в 2021 г. произошло увеличение числа нейроинвазивных форм ЛЗН, достигших максимального значения за весь период наблюдения (48 %). Среди особенностей структуры заболеваемости следует отметить значительное преобладание числа заболевших мужчин над числом женщин, увеличение удельного веса лиц возрастной группы «30–39 лет» и категории «служащие».

Результаты молекулярно-генетического исследования ВЗН показали, что на территории европейской части России циркулирует возбудитель, относящийся ко второй генетической линии, как в эпизоотическом, так и в эпидемическом циклах, а также в носителях и переносчиках ВЗН на юге Западной Сибири (Омская область). Кроме этого, в эпизоотическом цикле циркулирует генотип 4 ВЗН (Волгоградская область).

Секвенирование выделенных изолятов установило, что на территории Астраханской, Ростовской, Воронежской областей и Республики Дагестан циркулировал новый геновариант ВЗН второго генотипа, Волгоградской области – как старый (волгоградский), так и новый геновариант.

Прогноз развития эпидемической ситуации по ЛЗН в Российской Федерации на 2022 г. Климатический прогноз на предстоящий год носит

вероятностный характер, поскольку максимальный срок, на который может быть составлен наиболее точный прогноз изменения погодных условий, ограничивается одним месяцем. Говоря об общих тенденциях в масштабах года, в целом в 2022 г. следует ожидать умеренно морозную зиму (в пределах среднесезонных значений, но при этом с достаточно большим количеством осадков) и жаркое лето. По прогнозам специалистов, погода в текущем году в России ожидается достаточно изменчивая, постоянные смены циклонов приведут к резким температурным перепадам в зимний и летний периоды.

Лето предполагается аномально жарким, но не продолжительным. В 2022 г. на территориях ЮФО можно ожидать превышение температуры воздуха в летний период относительно среднесезонных показателей, близкое к таковому в 2010 и 2012 гг. и приведшее к эпидемическому подъему заболеваемости. В других регионах также предполагается превышение летних среднесезонных температур воздуха климатической нормы. В результате оптимальные климатические условия могут привести к подъему заболеваемости ЛЗН во всех федеральных округах европейской части России, южных территориях Урала, Западной Сибири и Дальнего Востока.

В конце августа – начале сентября в центральных областях России, а также на севере страны наиболее вероятно станет прохладно: будут идти частые дожди и усилится холодный ветер, что может способствовать раннему окончанию эпидемиологического сезона.

С целью разработки прогноза развития эпидемиологической ситуации по ЛЗН в 2022 г. специалистами Референс-центра использована методика нейросетевого моделирования, заключающаяся в установлении связей между входным фактором (набор эмпирически обработанных данных) и выходным интегральным (результатирующим) показателем, на основе алгоритма Бройдена – Флетчера – Гольдфарба – Шанно (L-BFGS). В качестве модельного региона выбрана Волгоградская область – на ее территорию приходится абсолютное большинство выявленных больных ЛЗН в России (44 %). Исходными параметрами послужили показатели температуры воздуха в сезон передачи ВЗН (апрель – октябрь) и количество подтвержденных случаев заболевания ЛЗН в Волгоградской области. Выбор этих параметров обусловлен влиянием температуры воздуха на комплекс биотических и абиотических факторов (численность популяций переносчиков, их активность, скорость репликации в них возбудителя, прогреваемость постоянных и искусственных водоемов и пр.) и, как следствие, на уровень заболеваемости.

Пространственный анализ случаев заболевания ЛЗН в Волгоградской области показал, что более 71 % заболевших выявлено в пределах г. Волгограда, в связи с чем «обучение» нейросети проводилось по данным о заболеваемости ЛЗН в Волгограде и температуре воздуха, зарегистрированной на метеорологической станции «Волгоград (Гумрак)»

(48°47'34" с.ш., 44°20'13" в.д.) в период 1999–2020 гг. Собственно моделирование и разработка прогноза осуществлялись на базе аналитической платформы Deductor Studio Academic 5.3 (ООО «Аналитические технологии», Россия). При помощи встроенных инструментов платформы сформирована трехслойная нейросеть, входным фактором которой являлась температура воздуха в период с апреля по октябрь в 1999–2020 гг., а выходным интегральным показателем – число больных ЛЗН за аналогичный период. Полученные результаты позволили выделить четыре качественных категории интенсивности течения эпидемического процесса: низкая (менее 10 случаев), умеренная (10–100 случаев), высокая (101–300 случаев), очень высокая (более 300 случаев).

В построенную нейросетевую модель включены значения среднесезонных температур воздуха в сезон передачи ВЗН, рассчитанные согласно климатическому прогнозу на 2022 г. При этом выходные данные нейросети свидетельствуют о возможной высокой интенсивности течения эпидемического процесса, сопоставимой с таковой в 2010 и 2012 гг. (предполагаемое значение температуры воздуха составляет +20,2 °С, в 2010 и 2012 гг. – плюс 19,6 °С).

Связь между температурой воздуха и количеством случаев ЛЗН установлена и в исследованиях для других регионов (Европы, Израиля). Отмечена корреляция между вспышками заболевания среди населения и средними температурами воздуха выше +21 °С в мае – июле [14].

В долгосрочном прогнозе на территории России при сохранении существующих тенденций климатических изменений (потепления) будут формироваться благоприятные климатоэкологические условия для циркуляции вируса в более северных территориях с периодическим осложнением ситуации по ЛЗН в отдельных субъектах, где будут складываться оптимальные условия.

Учитывая вышеизложенное, в 2022 г. на территории России, где установлена циркуляция ВЗН в эпизоотическом цикле, необходимо обеспечить высокий уровень готовности органов и учреждений здравоохранения к выявлению, диагностике и лечению больных ЛЗН, в особенности ее нейроинвазивных форм. Рост заболеваемости может осложняться высокими показателями летальности в связи с вовлечением в эпидемический процесс населения старшего возраста и/или несвоевременным оказанием медицинской помощи, наличием сочетанных форм с другими инфекциями и появлением нового варианта возбудителя. Следует учитывать и особенности организации эпидемиологического надзора в условиях повышенного приоритета мероприятий, направленных на профилактику и ликвидацию COVID-19.

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

Выражаем благодарность руководителям и сотрудникам управлений Роспотребнадзора, центров

гигиены и эпидемиологии субъектов Российской Федерации, а также противочумных институтов и противочумных станций Роспотребнадзора, представившим данные для проведения эпидемиологического анализа.

Список литературы

1. Weekly updates: 2021 West Nile virus transmission season. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc> (дата обращения 15.12.2021).
2. Инфекционная заболеваемость населения Украины. [Электронный ресурс]. URL: <https://phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/inshi-infekciyni-zakhvoryuvannya/infekciyna-zakhvoryuvanist-naseleennya-ukraini> (дата обращения 25.12.2021).
3. West Nile Virus Surveillance Report. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.gov.il/he/Departments/publications/reports/wnv-2021> (дата обращения 18.11.2021).
4. Ukraine reports 5 West Nile virus cases this summer. [Электронный ресурс]. URL: <http://outbreaknewstoday.com/ukraine-reports-5-west-nile-virus-cases-this-summer-16936/> (дата обращения 20.11.2021).
5. Preliminary Maps & Data for 2021. West Nile Virus Disease Cases by State 2021. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/preliminarymapsdata2021/disease-cases-state-2021.html> (дата обращения 13.01.2022).
6. West Nile virus surveillance and monitoring. Government of Canada. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/west-nile-virus/surveillance-west-nile-virus/west-nile-virus-weekly-surveillance-monitoring.html> (дата обращения 27.12.2021).
7. Paraná confirma caso de Febre do Nilo Ocidental em animal. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.bemparana.com.br/noticia/saude-identifica-caso-de-febre-do-nilo-ocidental-em-animal-no-parana#.Year4v5ByUm> (дата обращения 10.12.2021).
8. Путинцева Е.В., Удовиченко С.К., Бородай Н.В., Никитин Д.Н., Батурич А.А., Молчанова Е.В., Шпак И.М., Фомина В.К., Несговорова А.В., Антонов А.С., Прилепская Д.Р., Виктор Д.В., Топорков А.В. Особенности эпидемиологической ситуации по лихорадке Западного Нила в Российской Федерации в 2020 г. и прогноз ее развития в 2021 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 1:63–72. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-63-72.
9. Бутенко А.М., Козлова А.А., Ларичев В.Ф., Дзагурова Т.К., Пантюхова Р.А., Важненко Н.С., Карлова В.М., Василькова О.И. Лихорадка Западного Нила в Тульской области. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2014; 19(2):20–5.
10. Козлова А.А., Бутенко А.М., Ларичев В.Ф., Вашкова В.В., Дзагурова Т.К., Елисева С.М., Зорина Д.М., Корабельникова М.И., Кудрявцева Е.Н., Лебедева С.Д., Лесникова М.В., Неделя Н.В., Соколова М.В. Изучение ареала вируса Западного Нила на территории европейской части России; результаты сероэпидемиологических исследований. Сообщение 2: Центральный, Приволжский и Северо-Западный федеральные округа. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017; 22(2):52–7. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-2-52-57.
11. McDonald E., Mathis S., Martin S.W., Staples J.E., Fischer M., Lindsey N.P. Surveillance for West Nile virus disease – United States, 2009–2018. *MMWR Surveill. Summ.* 2021; 70(1):1–15. DOI: 10.15585/mmwr.ss7001a1.
12. Вилков Е.В. Видовой состав и особенности территориального распределения птиц в Предгорном Дагестане. *Юг России: экология, развитие*. 2019; 14(2):9–34. DOI: 10.18470/1992-1098-2019-2-9-34.
13. Zehender G., Veo C., Ebranati E., Carta V., Rovida F., Percivalle E., Moreno A., Lelli D., Calzolari M., Lavazza A., Chiapponi C., Baioni L., Capelli G., Ravagnan S., Da Rold G., Lavezzo E., Palù G., Baldanti F., Barzon L., Galli M. Reconstructing the recent West Nile virus lineage 2 epidemic in Europe and Italy using discrete and continuous phylogeography. *PLoS One*. 2017; 12(7):0179679. DOI: 10.1371/journal.pone.0179679.
14. Lourenço J., Thompson R.N., Thézé J., Obolski U. Characterising West Nile virus epidemiology in Israel using a transmission suitability index. *Euro Surveill.* 2020; 25(46):1900629. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.46.1900629.

References

1. Weekly updates: 2021 West Nile virus transmission season. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (Cited

15 Dec 2021). [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc>.

2. [Infectious morbidity of the population of Ukraine]. (Cited 25 Dec 2021). [Internet]. Available from: <https://phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/inshi-infekciyni-zakhvoryuvannya/infekciyna-zakhvoryuvanist-naseleennya-ukraini>.

3. West Nile Virus Surveillance Report. (Cited 18 Nov 2021). [Internet]. Available from: <https://www.gov.il/he/Departments/publications/reports/wnv-2021>.

4. Ukraine reports 5 West Nile virus cases this summer. (Cited 20 Nov 2021). [Internet]. Available from: <http://outbreaknewstoday.com/ukraine-reports-5-west-nile-virus-cases-this-summer-16936/>.

5. Preliminary Maps & Data for 2021. West Nile Virus Disease Cases by State 2021. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA. (Cited 13 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/preliminarymapsdata2021/disease-cases-state-2021.html>.

6. West Nile virus surveillance and monitoring. Government of Canada. (Cited 27 Dec 2021). [Internet]. Available from: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/west-nile-virus/surveillance-west-nile-virus/west-nile-virus-weekly-surveillance-monitoring.html>.

7. Paraná confirma caso de Febre do Nilo Ocidental em animal. (Cited 10 Dec 2021). [Internet]. Available from: <https://www.bemparana.com.br/noticia/saude-identifica-caso-de-febre-do-nilo-ocidental-em-animal-no-parana#.Year4v5ByUm>.

8. Putintseva E.V., Udovichenko S.K., Borodai N.V., Nikitin D.N., Baturin A.A., Molchanova E.V., Shpak I.M., Fomina V.K., Nesgovorova A.V., Antonov A.S., Prilepskaya D.R., Viktorov D.V., Toporkov A.V. [Peculiarities of epidemiological situation on the West Nile fever in the Russian Federation in 2020 and forecast for its development in 2021]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):63–72. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-63-72.

9. Butenko A.M., Kozlova A.A., Larichev V.F., Dzagurova T.K., Pantyukhova R.A., Vazhnenkova N.S., Karlova V.M., Vasil'kova O.I. [West Nile fever in the Tula Region, Russian Federation]. *Epidemiologia i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2014; 19(2):20–5.

10. Kozlova A.A., Butenko A.M., Larichev V.F., Vashkova V.V., Dzagurova T.K., Eliseeva S.M., Zorina D.M., Korabel'nikova M.I., Kudryavtseva E.N., Lebedeva S.D., Lesnikova M.V., Nedilya N.V., Sokolova M.V. [The study of the area of distribution of West Nile virus in the territory of the European part of Russia; the results of seroepidemiological research. Communication 2: Central, Privolzhsky and Northwestern Federal Districts]. *Epidemiologia i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2017; 22(2):52–7. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-2-52-57.

11. McDonald E., Mathis S., Martin S.W., Staples J.E., Fischer M., Lindsey N.P. Surveillance for West Nile virus disease – United States, 2009–2018. *MMWR Surveill. Summ.* 2021; 70(1):1–15. DOI: 10.15585/mmwr.ss7001a1.

12. Vilkov E.V. [Species composition and territorial distribution of birds in Piedmont Dagestan]. *Yug Rossii: Ekologiya, Razvitie [South of Russia: Ecology, Development]*. 2019; 14(2):9–34. DOI: 10.18470/1992-1098-2019-2-9-34.

13. Zehender G., Veo C., Ebranati E., Carta V., Rovida F., Percivalle E., Moreno A., Lelli D., Calzolari M., Lavazza A., Chiapponi C., Baioni L., Capelli G., Ravagnan S., Da Rold G., Lavezzo E., Palù G., Baldanti F., Barzon L., Galli M. Reconstructing the recent West Nile virus lineage 2 epidemic in Europe and Italy using discrete and continuous phylogeography. *PLoS One*. 2017; 12(7):0179679. DOI: 10.1371/journal.pone.0179679.

14. Lourenço J., Thompson R.N., Thézé J., Obolski U. Characterising West Nile virus epidemiology in Israel using a transmission suitability index. *Euro Surveill.* 2020; 25(46):1900629. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.46.1900629.

Authors:

Putintseva E.V., Udovichenko S.K., Nikitin D.N., Borodai N.V., Shpak I.M., Fomina V.K., Nesgovorova A.V., Baturin A.A., Molchanova E.V., Prilepskaya D.R., Pimenova E.V., Viktorov D.V., Toporkov A.V. Volgograd Research Anti-Plague Institute. 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Об авторах:

Путинцева Е.В., Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Шпак И.М., Фомина В.К., Несговорова А.В., Батурич А.А., Молчанова Е.В., Прилепская Д.Р., Пименова Е.В., Виктор Д.В., Топорков А.В. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-54-63

УДК 616.98:579.88(470)

Н.В. Рудаков^{1,2}, Н.А. Пеньевская^{1,2}, Л.В. Кумпан^{1,2}, А.И. Блох^{1,2}, С.Н. Шпынов^{1,2},
Д.В. Транквилевский³, С.В. Штрек^{1,2}

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО РИККЕТСИОЗАМ ГРУППЫ КЛЕЩЕВОЙ ПЯТНИСТОЙ ЛИХОРАДКИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2012–2021 гг. И ПРОГНОЗ НА 2022–2026 гг.

¹ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», Омск, Российская Федерация;
²ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Омск, Российская Федерация; ³ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация

Цель обзора – охарактеризовать эпидемиологическую ситуацию по риккетсиозам группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ) в субъектах Российской Федерации в 2012–2021 гг. и дать долгосрочный прогноз на 2022–2026 гг. В 2020–2021 гг. показатели регистрируемой заболеваемости клещевыми риккетсиозами в целом по России снизились относительно среднесреднеголетнего допандемического уровня 2012–2019 гг. в среднем в два раза по всем нозоформам группы КПЛ (сибирскому клещевому тифу – СКТ, астраханской пятнистой лихорадке и средиземноморской лихорадке). При сравнительном анализе территорий выявлена корреляционная связь заболеваемости СКТ и обращаемости по поводу укусов клещей ($r=0,67$, $p=0,015$), что на фоне роста частоты контактов населения с переносчиками в 2020–2021 гг. в большинстве регионов и снижения заболеваемости в тех же регионах свидетельствует о регистрационном характере изменений. Ранжирование территорий по среднесреднеголетним показателям заболеваемости позволило отнести к группе регионов очень высокой эпидемической опасности по СКТ Республику Алтай и Алтайский край; высокой опасности – Республику Тыва; выше средней – Республику Хакасия, Хабаровский край и Еврейскую автономную область. Установившийся тренд на снижение показателей заболеваемости населения клещевыми риккетсиозами на ближайшие пять лет сохранится в большинстве субъектов РФ, исключая Республику Алтай, Алтайский край, Республику Крым и г. Севастополь, где следует ожидать сохранения заболеваемости или ее рост. Результаты проведенного анализа свидетельствуют о необходимости усиления внимания к природно-очаговым инфекциям в период пандемии COVID-19.

Ключевые слова: сибирский клещевой тиф, астраханская пятнистая лихорадка, средиземноморская лихорадка, клещевые риккетсиозы, заболеваемость, прогноз.

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

Для цитирования: Рудаков Н.В., Пеньевская Н.А., Кумпан Л.В., Блох А.И., Шпынов С.Н., Транквилевский Д.В., Штрек С.В. Эпидемиологическая ситуация по риккетсиозам группы клещевой пятнистой лихорадки в Российской Федерации в 2012–2021 гг. и прогноз на 2022–2026 гг. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:54–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-54-63

Поступила 17.02.2022. Принята к публ. 22.02.2022.

N.V. Rudakov^{1,2}, N.A. Pen'evskaya^{1,2}, L.V. Kumpan^{1,2}, A.I. Blokh^{1,2}, S.N. Shpynov^{1,2},
D.V. Trankvilevsky³, S.V. Shtrek^{1,2}

Epidemiological Situation on Tick-Borne Spotted Fever Group Rickettsioses in the Russian Federation in 2012–2021, Prognosis for 2022–2026

¹Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections, Omsk, Russian Federation;

²Omsk State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Omsk, Russian Federation;

³Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the review was to characterize the epidemiological situation on rickettsiosis of the tick-borne spotted fever (TSF) group in the constituent entities of the Russian Federation in 2012–2021 and provide a long-term forecast for 2022–2026. In 2020–2021, indicators of registered incidence of tick-borne rickettsiosis in Russia on the whole decreased relative to the average long-term pre-pandemic level in 2012–2019 by 2 fold for all forms of the TSF group on average (Siberian tick-borne typhus – STT, Astrakhan spotted fever and Mediterranean fever). A comparative analysis of the territories revealed a correlation between the incidence of STT and the number of medical facility visits due to “tick bites” ($r=0.67$, $p=0.015$), which, against the background of an increase in the frequency of contacts of the population with vectors in 2020–2021 in most regions and a decrease in the incidence in the same regions indicates the credible nature of the changes. The ranking of territories according to average long-term incidence rates made it possible to classify the Republic of Altai and the Altai Territory as regions of extremely high epidemic hazard as regards STT; high hazard – the Republic of Tuva; above average – the Republic of Khakassia, Khabarovsk Territory and the Jewish Autonomous Region. The established downward trend in the incidence of tick-borne rickettsiosis among the population will be sustained in most entities of the Russian Federation within the next 5 years, excluding the Republic of Altai, the Altai Territory, the Republic of Crimea and the city of Sevastopol, where current incidence or an increase should be expected. The results of the analysis indicate the need to put more emphasis on natural-focal infections at the time of COVID-19 pandemic.

Key words: Siberian tick-borne typhus, Astrakhan spotted fever, Mediterranean fever, tick-borne rickettsioses, morbidity, forecast.

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

Corresponding author: Natalia A. Pen'evskaya, e-mail: mail@oniipi.org.

Citation: Rudakov N.V., Pen'evskaya N.A., Kumpan L.V., Blokh A.I., Shpynov S.N., Trankvilevsky D.V., Shtrek S.V. Epidemiological Situation on Tick-Borne Spotted Fever Group Rickettsioses in the Russian Federation in 2012–2021, Prognosis for 2022–2026. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:54–63. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-54-63

Received 17.02.2022. Accepted 22.02.2022.

Rudakov N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9566-9214>
Pen'evskaya N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7220-4366>
Kumpan L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5230-1388>
Blokh A.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0756-2271>

Shpynov S.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4550-3459>
Trankvilevsky D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4896-9369>
Shtrek S.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4509-1212>

Риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки (клещевые риккетсиозы – КР) – группа облигатно-трансмиссивных природно-очаговых инфекций, возбудители которых передаются иксодовыми клещами [1].

В Российской Федерации регистрируют три нозологические формы заболеваний, вызываемых риккетсиями группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ): на территории юга Сибири и Дальнего Востока – сибирский клещевой тиф (СКТ), в Астраханской области и Республике Калмыкии – астраханскую пятнистую лихорадку (АПЛ) и в Республике Крым – средиземноморскую (марсельскую) лихорадку (СЛ). Возбудитель СКТ – *Rickettsia sibirica* subsp. *sibirica*, которая передается человеку клещами, преимущественно из родов *Dermacentor* (*D. nuttalli*, *D. silvarum*, *D. marginatus* и *D. reticulatus*) и *Haemaphysalis* (*H. concinna*). Этиологический агент СЛ – *R. conorii* subsp. *conorii*, передаваемая человеку иксодовыми клещами *Rhipicephalus sanguineus*. Астраханская пятнистая лихорадка развивается при заражении *R. conorii* subsp. *caspia* после присасывания клещей *Rh. pumilio* [2].

Сибирский клещевой тиф – наиболее распространенный клещевой риккетсиоз на территории России – регистрируется на территории 17 субъектов трех федеральных округов: в Уральском федеральном округе – в Курганской и Тюменской областях; в Сибирском федеральном округе – в республиках Алтай, Тыва и Хакасия, в Алтайском и Красноярском краях, в Иркутской, Кемеровской, Новосибирской и Омской областях; в Дальневосточном федеральном округе – в Республике Бурятия, Забайкальском, Приморском и Хабаровском краях, Амурской области и Еврейской автономной области (АО) [2].

Астраханская пятнистая лихорадка регистрируется в двух субъектах Южного федерального округа: в Астраханской области и Республике Калмыкия. Заболевание средиземноморской лихорадкой фиксируются только в Республике Крым и г. Севастополе.

Несмотря на то, что количество субъектов РФ, эндемичных по КР, в три раза меньше числа субъектов, эндемичных по клещевому энцефалиту (КЭ) и иксодовым клещевым боррелиозам (ИКБ), по ежегодному числу случаев в структуре заболеваемости клещевыми трансмиссивными инфекциями (КТИ) риккетсиозы группы КПЛ стабильно уступают только ИКБ, опередив КЭ в 2018–2020 гг. При этом следует отметить, что реальная эпидемиологическая значимость клещевых риккетсиозов группы КПЛ в России недооценена, поскольку, в отличие от КЭ и ИКБ, лабораторная верификация КР крайне затруд-

нительна в связи с отсутствием сертифицированных эффективных диагностических тест-наборов [3, 4].

В ходе ранее проведенного нами с помощью простой линейной регрессии анализа динамики относительной инцидентности КР на протяжении 2010–2020 гг. не удалось выявить статистически значимые тренды к изменению уровней заболеваемости риккетсиозами группы КПЛ как в целом по РФ, так и в 10 из 17 эндемичных по СКТ субъектах [2]. Вместе с тем для всех КТИ, включая КР, характерна не только территориальная неравномерность, но и цикличность проявлений эпидемического процесса в связи с влиянием многих биотических и абиотических факторов, что снижает точность линейных трендовых прогнозов и делает невозможным их применение на долгосрочную перспективу, в отличие от более сложных методов математического моделирования.

Цель обзора – охарактеризовать эпидемиологическую ситуацию по риккетсиозам группы КПЛ в субъектах Российской Федерации в 2012–2021 гг. и дать долгосрочный прогноз на 2022–2026 гг.

Ретроспективный анализ заболеваемости риккетсиозами группы КПЛ в РФ за 2012–2021 гг. проведен по данным формы № 2 государственной статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» стандартными статистическими методами [5] с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2016 и STATISTICA 6.0. Доверительные интервалы (95 % ДИ) среднескользящих показателей заболеваемости рассчитывали по методу Вальда [5]. Дифференциацию субъектов РФ по степени потенциальной эпидемической опасности осуществляли с помощью оценочной шкалы, включающей среднескользящие показатели (СМП) для 17 эндемичных по СКТ территорий за десятилетний период. Градацию шкалы проводили по [6] с использованием интервала значений между доверительными границами медианы, определяемыми по ГОСТ Р ИСО 16269-7-2004 «Статистическое представление данных. Медиана. Определение точечной оценки и доверительных интервалов».

Для углубленного изучения динамики заболеваемости населения с целью долгосрочного прогнозирования использовали алгоритм, специально разработанный на языке статистического программирования R, вычисляющий множественную регрессию, в которой зависимая переменная (показатель заболеваемости) логарифмировалась для стабилизации дисперсии, а в качестве дополнительных регрессоров использовали синусоидальные компоненты с периодом, при котором обеспечивалась наименьшая

величина среднеквадратического отклонения от наблюдаемых значений [7]. Такой подход позволил не только учесть общие тенденции изменения заболеваемости, но и включить в оценку характерные для клещевых инфекций многолетние циклы, а автоматический подбор периода позволил учесть весь спектр потенциально возможных периодов колебания заболеваемости КР, которые обсуждаются в литературе. В некоторые годы на отдельных эндемичных территориях по невыясненным причинам отсутствовала регистрация случаев анализируемой патологии, поэтому в таких случаях до логарифмирования вводили поправку: в соответствующем году считали, что выявлено 0,5 случая болезни. Выбор наиболее точной модели проводили по величине средней квадратической ошибки (RMSE) [8]. Итоговое уравнение для каждого региона имело вид:

$$I = ax + n \cdot \sin\left(\frac{2\pi t}{p}\right) + m \cdot \cos\left(\frac{2\pi t}{p}\right) + c,$$

где I – заболеваемость в регионе на 100 тыс. населения; a – наклон линии тренда; $n \cdot \sin\left(\frac{2\pi t}{p}\right) + m \cdot \cos\left(\frac{2\pi t}{p}\right)$ – два периодических компонента; c – свободный коэффициент.

Для каждого региона на основе наиболее точной из моделей, полученных вышеописанным способом, вычислены прогностические показатели (с 95 % ДИ) заболеваемости населения СКТ, АПЛ и СЛ на эндемичных территориях на период 2022–2026 гг.

Для изучения связи между заболеваемостью СКТ и обращаемостью населения по поводу укусов клещей использовали коэффициент корреляции Пирсона, рассчитанный по двум направлениям: территориальному (в ходе сравнительного анализа территорий) и временному (в динамике десятилетнего временного ряда) [9].

Анализ данных выполнен с помощью R 4.0.3 и MS Excel 2016. Картографическая иллюстрация распределения заболеваемости СКТ на территории России выполнена с помощью QGIS 3.14.16-Pi.

Характеристика регионов России по уровню заболеваемости риккетсиозами группы КПЛ в 2012–2021 гг. Согласно данным официальной статистики, всего с 2012 по 2021 год в России зарегистрировано 14462 случая **СКТ**. За указанный период заболевания СКТ зарегистрированы в 17 субъектах РФ. В Омской области случаи СКТ начали регистрировать только с 2014 г. (14 случаев за 8 лет). В Курганской области последнее выявление случаев СКТ датировано 2012 г. (29 случаев), но с 2013 г. прекращена официальная регистрация СКТ, что требует выяснения причин данного обстоятельства.

Среднегодулетний показатель заболеваемости СКТ в России за период 2012–2021 гг. составил 0,99 (95 % ДИ 0,94–1,04) на 100 тыс. населения. Максимальное значение показателя отмечено в 2012 г. – 1,23 $\frac{0}{0000}$ (1760 случаев), минимальное – в 2021 г. (0,53 $\frac{0}{0000}$; 779 случаев).

Нозоареал СКТ со значительными эпидемиологическими проявлениями обширен и охватывает южные районы Сибири, Приморье с его островной частью и Приамурье. По данным официальной регистрации, за период 2012–2021 гг. 94,74 % заболевавший СКТ пришлось на девять субъектов: Алтайский край (36,48 %), Республику Алтай (14,15 %), Новосибирскую область (12,22 %), Хабаровский край (10,45 %), Приморский край (7,17 %), Красноярский край (4,05 %), Республику Тыва (3,70 %), Иркутскую область (3,64 %), Республику Хакасия (2,88 %). Остальные восемь субъектов внесли незначительный вклад в общую структуру регистрируемой заболеваемости СКТ: 1,27 % – Республика Бурятия, 1,20 % – Забайкальский край, 0,91 % – Еврейская АО, 0,75 % – Амурская, 0,49 % – Кемеровская, 0,25 % – Тюменская, 0,22 % – Курганская, 0,1 % – Омская области.

Относительная инцидентность СКТ на территории России варьирует в широких пределах, достигая в отдельные годы в некоторых регионах 131,0 на 100 тыс. населения (например, Республика Алтай, 2017 г.). Ранжирование регионов по среднемугодулетним показателям заболеваемости СКТ позволило дифференцировать субъекты РФ по степени эпидемиологической опасности (рис. 1).

Субъекты очень высокой степени эпидемиологической опасности по СКТ (СМП_{2012–2021} более 21,81 $\frac{0}{0000}$): Республика Алтай (91,23) и Алтайский край (21,23); высокой степени эпидемиологической опасности (СМП_{2012–2021} от 15,01 до 21,80 $\frac{0}{0000}$): Республика Тыва (16,67); выше средней эпидемиологической опасности (СМП_{2012–2021} от 8,11 до 15,00 $\frac{0}{0000}$): Республика Хакасия (7,44), Хабаровский край (12,39) и Еврейская АО (8,11); средней эпидемиологической опасности (СМП_{2012–2021} от 1,21 до 8,10 $\frac{0}{0000}$): Красноярский край (1,97), Забайкальский край (1,47) и Приморский край (5,75); Иркутская (2,20), Новосибирская (6,49) и Амурская (1,25) области, Республика Бурятия (1,89); низкой эпидемиологической опасности (СМП_{2012–2021} менее 1,20 $\frac{0}{0000}$): Курганская (0,32), Тюменская (0,26), Кемеровская (0,26) и Омская (0,07) области.

Следует отметить, что при наличии данных о заболеваемости в отдельных муниципальных образованиях можно проводить более точную дифференциацию территорий по степени эпидемиологической опасности (ЭО) внутри субъектов РФ, как было показано нами ранее [2]. В связи с мозаичностью распределения природных очагов, показатели заболеваемости в отдельных административных районах могут быть значительно выше, чем в среднем по субъекту.

Различия между эндемичными по СКТ регионами по степени ЭО, наряду с социальными факторами (частота и интенсивность контактов населения с природными очагами), во многом обусловлены особенностями численности и видового состава основных переносчиков и прокормителей, что, в свою очередь, зависит от ландшафтно-географических и климатических условий. Так, в зональных ландшафтах

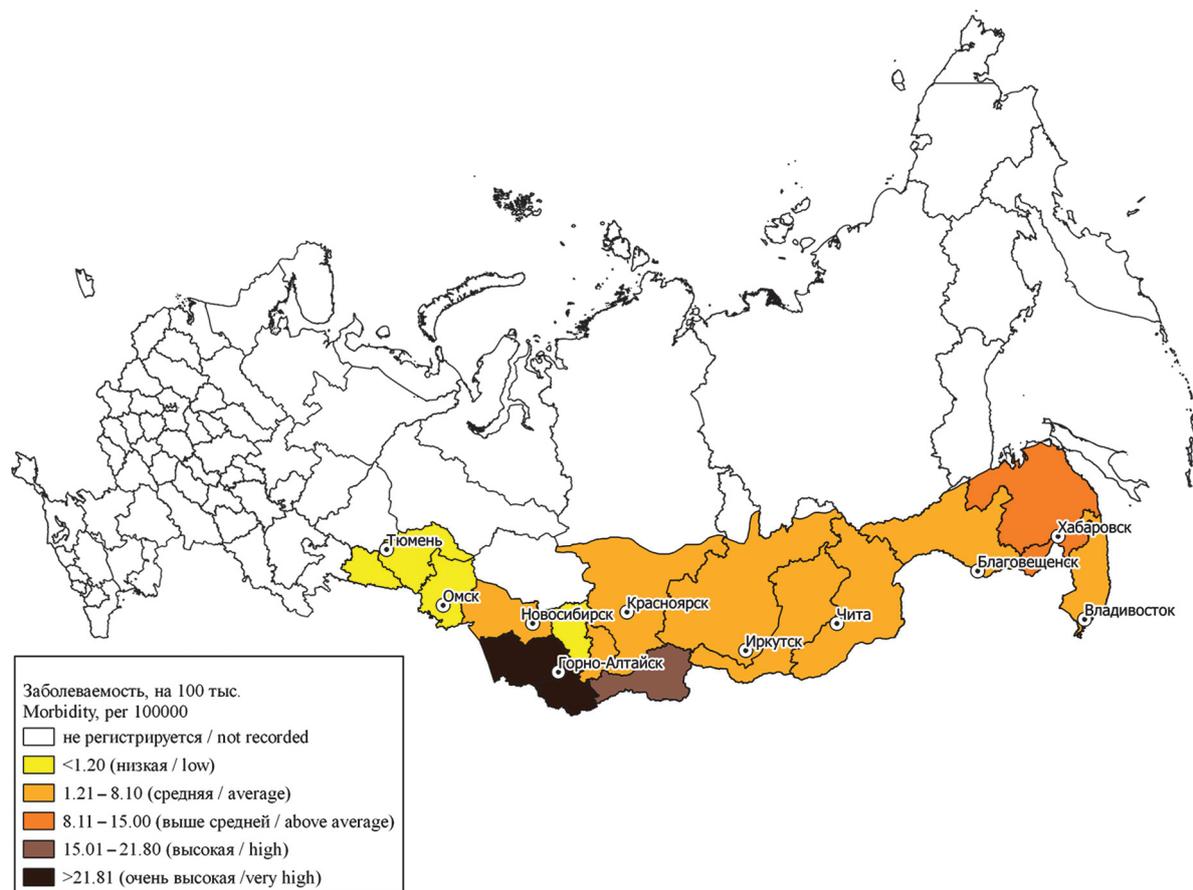


Рис. 1. Ранжирование субъектов РФ по среднегодовым показателям заболеваемости сибирским клещевым тифом в 2012–2021 гг.

Fig. 1. Ranking of constituent entities of Russia by average multi-year incidence rates of Siberian tick-borne typhus in 2012–2021

степей и лесостепей административных территорий Сибирского и Дальневосточного федеральных округов, вытянутых в широтном направлении, распространены клещи рода *Dermacentor*, которые являются основными переносчиками риккетсий группы КПЛ. Тогда как в районах, располагающихся в таежной зоне, обитают клещи рода *Ixodes* – основные переносчики вируса КЭ и возбудителей ИКБ.

Официальная регистрация случаев АПЛ в РФ начата в 2013 г. За период 2013–2021 гг. в двух субъектах России зарегистрировано 2089 случаев АПЛ, из них подавляющее большинство – в Астраханской области (2051 случай, СМП_{2013–2021} составил 22,82 на 100 тыс. населения, 95 % ДИ 19,88–25,76). В Республике Калмыкия за этот период зарегистрировано только 38 случаев АПЛ, причем в 2020–2021 гг. – ни одного случая.

На протяжении изучаемого периода в Астраханской области отмечался выраженный значимый тренд к снижению (Тсн=15,3 %, p=0,004) показателя заболеваемости населения АПЛ (R²=72,3 %). В Республике Калмыкия СМП заболеваемости населения за указанный период составил 1,50 на 100 тыс. населения с выраженным значимым трендом к снижению (Тсн=23,7 %, p=0,009) показателя заболеваемости населения АПЛ (R²=64,5 %).

Начиная с момента официальной регистрации СЛ в Республике Крым в 2014 г. зафиксировано 230 случаев средиземноморской лихорадки (СМП_{2014–2021} составил 1,49 на 100 тыс. населения, 95 % ДИ 0,94–2,04). В Севастополе начиная с 2015 г. зарегистрировано 45 случаев СЛ (СМП_{2015–2021} – 1,53 на 100 тыс. населения, 95 % ДИ 0,37–2,68). В течение прошедшего периода до 2021 г. в Республике Крым отмечен выраженный, но статистически незначимый тренд к росту заболеваемости СЛ (Тпр.=6,40 %, p=0,544), а в Севастополе – выраженный, но статистически незначимый тренд к снижению заболеваемости СЛ (Тсн.=5,90 %, p=0,598).

Эпидемиологическая ситуация по клещевым риккетсиозам группы КПЛ в 2021 г. Суммарное число зарегистрированных заболеваний клещевыми трансмиссивными инфекциями (КЭ, ИКБ, СКТ, АПЛ, СЛ) на территории РФ в 2021 г. составило 5,7 тыс. случаев, что на 0,6 тыс. случаев меньше, чем в 2020 г., и в 1,9 раза меньше среднегодового числа случаев КТИ за восемь допандемических лет (2012–2019 гг.), когда регистрировали в среднем 10,8 тыс. случаев КТИ в год. Регистрируемая заболеваемость СКТ в период пандемии COVID-19 в целом по РФ снизилась в 2020 г. в 1,4 раза (1,10 тыс. против 1,57 тыс. случаев), а в 2021 г. – в 2 раза относительно

но среднемноголетнего допандемического уровня (0,78 тыс. против 1,57 тыс. случаев).

Снижение показателей регистрируемой заболеваемости СКТ в период пандемии COVID-19 (2020–2021 гг.) по сравнению с допандемическими показателями отмечено на всех эндемичных территориях, хотя и в разной степени (табл. 1).

В 2020–2021 гг. максимальное снижение показателей регистрируемой заболеваемости СКТ (в 38 раз) отмечено в Республике Хакасия (в 2020 г. не зарегистрировано ни одного случая), что позволяет говорить о практически полном прекращении регистрации данного заболевания на природно-очаговой тер-

ритории с уровнем потенциальной эпидемической опасности выше среднего, подобно тому как в 2013 г. прекратилась регистрация в Курганской области. Причины произошедшего требуют выяснения.

Значительное (более выраженное, чем в целом по стране) снижение регистрируемой заболеваемости СКТ в 2020–2021 гг. относительно СМП допандемического периода 2013–2019 гг. отмечено в Амурской области (в 6 раз), Забайкальском крае (в 5 раз), Республике Тыва (в 4 раза), Еврейской АО (в 3,7 раза), Хабаровском крае (почти в 3 раза).

Показатели регистрируемой заболеваемости АПЛ, как и других КТИ, в период пандемии снизи-

Таблица 1 / Table 1

Заболеваемость СКТ и обращаемость населения по поводу укусов клещей на территории Российской Федерации в 2020–2021 гг. в сравнении со среднемноголетними показателями 2013–2019 гг.

The incidence of Siberian tick-borne typhus (STT) and the demand for treatment of tick bites in the Russian Federation in 2020–2021 as compared to the average multi-year indicators of 2013–2019

Территории Territory	Заболеваемость СКТ, на 100 тыс. населения The incidence of STT, per 100 000 of the population			Укусы клещей, на 100 тыс. населения The frequency of tick bites, per 100 000 of the population			Оценка направления изменений показателей Trends in indicator changes	
	СМП _{2013–2019} Mean _{2013–2019}	СМП _{2020–2021} Mean _{2020–2021}	Кратность снижения Reduction (times)	СМП _{2013–2019} Mean _{2013–2019}	СМП _{2020–2021} Mean _{2020–2021}	Кратность роста Increase (times)	Заболеваемость СКТ Incidence of STT	Укусы клещей Tick bites
Республика Алтай Republic of Altai	96,71	77,21	1,25	1583,78	2040,22	1,29	снижение decrease	рост increase
Алтайский край Altai Territory	22,40	18,00	1,24	470,71	523,53	1,11	снижение decrease	рост increase
Республика Тыва Republic of Tuva	19,55	4,91	3,98	585,27	351,13	0,60	снижение decrease	снижение decrease
Хабаровский край Khabarovsk Territory	14,65	5,08	2,88	471,12	443,15	0,94	снижение decrease	снижение decrease
Еврейская АО Jewish Autonomous Region	9,40	2,51	3,74	307,12	221,35	0,72	снижение decrease	снижение decrease
Республика Хакасия Republic of Khakassia	7,27	0,19	38,26	639,08	488,34	0,76	снижение decrease	снижение decrease
Новосибирская область Novosibirsk Region	7,14	4,30	1,66	699,60	772,22	1,10	снижение decrease	рост increase
Приморский край Primorsky Krai	6,28	3,55	1,77	363,14	411,24	1,13	снижение decrease	рост increase
Иркутская область Irkutsk Region	2,34	1,40	1,67	612,46	523,65	0,85	снижение decrease	снижение decrease
Республика Бурятия Buryat Republic	2,07	1,47	1,41	398,29	338,34	0,85	снижение decrease	снижение decrease
Красноярский край Krasnoyarsk Territory	1,99	1,11	1,79	572,11	490,38	0,86	снижение decrease	снижение decrease
Амурская область Amur Region	1,59	0,25	6,36	276,50	219,73	0,79	снижение decrease	снижение decrease
Забайкальский край Trans-Baikal Territory	1,39	0,28	4,96	374,29	216,24	0,58	снижение decrease	снижение decrease
Кемеровская область Kemerovo Region	0,27	0,21	1,29	1078,66	1130,75	1,05	снижение decrease	рост increase
Тюменская область Tyumen Region	0,22	0,16	1,37	1025,60	1169,67	1,14	снижение decrease	рост increase
Омская область Omsk Region	0,10	0,00	>10,0	258,61	344,34	1,33	снижение decrease	рост increase
Курганская область Kurgan Region	0,00	0,00	0,00	447,44	500,04	1,12	–	рост increase

лись и составили в Астраханской области $3,35 \text{ ‰}_{0000}$ в 2020 г. и $8,29 \text{ ‰}_{0000}$ в 2021 г., что ниже допандемического уровня в 8,0 и 3,5 раза соответственно. В Республике Калмыкия в 2020 и 2021 гг. не зарегистрировано ни одного случая АПЛ.

Регистрируемая заболеваемость СЛ в Республике Крым в 2020 г. составила $0,99 \text{ ‰}_{0000}$, а в 2021 г. – $0,79 \text{ ‰}_{0000}$, что ниже СМП_{2014–2019} в 1,7 и 2,2 раза соответственно; в Севастополе в 2020 г. – $0,23 \text{ ‰}_{0000}$, что в 7 раз меньше СМП_{2015–2019}. В 2021 г. уровень заболеваемости СЛ в Севастополе составил $1,46 \text{ ‰}_{0000}$ и, в отличие от других КТИ, практически не отличался от допандемического уровня.

Учитывая ограничительные мероприятия, действующие в той или иной степени в период эпидемии COVID-19 на территории всех регионов РФ, логично предположить, что снижение заболеваемости КТИ связано со снижением частоты и интенсивности контактов населения с природными очагами, что находит отражение в величине обращаемости населения за медицинской помощью в связи с укусами клещей. С целью проверки этого предположения проведено сопоставление характера изменений относительной инцидентности СКТ и показателя «укусы клещей» на 100 тыс. населения в 2020–2021 гг. относительно СМП предшествующего периода 2013–2019 гг. (табл. 1).

При анализе коэффициента «кратность роста/снижения» установлено, что в период пандемии COVID-19 на 8 из 17 эндемичных территорий (Курганская, Тюменская области, Республика Алтай, Алтайский край, Кемеровская, Новосибирская, Омская области и Приморский край) на фоне снижения заболеваемости СКТ показатель «укусы клещами» на 100 тыс. населения вырос по отношению к аналогичному СМП_{2013–2019}.

В ходе анализа связи между заболеваемостью СКТ и обращаемостью по поводу укусов клещей установлено, что на территориях, население которых чаще контактирует с переносчиками, уровень заболеваемости выше (значимая прямая корреляционная связь средней силы: $r=0,67$, $p=0,015$). Однако попытка установления корреляции между этими показателями в динамике временных рядов не увенчалась успехом, что свидетельствует либо о нелинейном характере такой связи, либо о наличии факторов, вмешательство которых приводит к тому, что истинное количество случаев СКТ превышает величины, отраженные в официальных статистических формах. Таким фактором, в частности, может быть значительное снижение внимания к природно-очаговым инфекциям на фоне пандемии COVID-19.

Полученные результаты подтверждают высказанное нами ранее [2, 10] предположение, что снижение регистрируемой заболеваемости КТИ на фоне пандемии COVID-19 обусловлено не столько снижением контактов населения с переносчиками, сколько значительным перераспределением объемов оказания стационарной и амбулаторной помощи в пользу

больных новой коронавирусной инфекцией, что не могло не сказаться на уровне выявления других заболеваний, в том числе инфекционных.

Прогноз заболеваемости риккетсиозами группы КПЛ в России. Резкое снижение регистрируемой заболеваемости клещевыми риккетсиозами в 2020–2021 гг. на фоне пандемии COVID-19 определило формирование линейного тренда на снижение показателей относительной инцидентности в последующие годы на всех эндемичных территориях, за исключением Республики Алтай, где отмечен умеренный, но статистически незначимый рост показателей заболеваемости СКТ (Тпр.=1,23 %, $p=0,67$), и Республики Крым с умеренным незначимым ростом заболеваемости СЛ (Тпр.=3,49 %, $p=0,77$).

Очевидно, что перегрузка систем здравоохранения и санитарно-эпидемиологической службы под влиянием эпидемии COVID-19 в течение 2020–2021 гг. привела к значительному искажению истинной картины эпидемического проявления активности природных очагов КР и предопределила неточность прогнозирования на основе простой линейной регрессии. О недостаточной точности линейной модели для прогнозирования заболеваемости свидетельствует тот факт, что коэффициент детерминации (R^2), характеризующий степень соответствия линейной трендовой модели фактическим показателям, для большинства территорий не превышал 40 %, варьируя от 0,0 до 38,5 %.

Учитывая характерную для КТИ цикличность проявлений эпидемического процесса, с целью долгосрочного прогнозирования использовали периодическую модель для расчетов показателей заболеваемости риккетсиозами группы КПЛ населения эндемичных территорий России на 2022–2026 гг. (табл. 2).

На рис. 2 на примере РФ и территории с самым высоким СМП_{2012–2021} (Республика Алтай) представлена графическая иллюстрация использования периодической модели для долгосрочного прогнозирования на 2022–2026 гг.

Сравнение средних квадратических ошибок расчетных показателей линейной и периодической моделей от фактических показателей демонстрирует значительно более высокую точность последней (табл. 3).

Не вызывает сомнения тот факт, что значительное снижение показателей заболеваемости, произошедшее в 2020–2021 гг., оказало влияние на формирование нисходящего тренда в ближайшие пять лет на фоне некоторых колебаний значений показателей заболеваемости, что, в отсутствие стабилизации эпидемической ситуации по COVID-19, проявится дальнейшим выраженным снижением регистрируемой заболеваемости на подавляющем большинстве эндемичных по КР территорий. Исключение составляют территории очень высокой степени эпидемической опасности по СКТ (Республика Алтай и Алтайский край), где в ближайшие четыре года показатели за-

Таблица 2 / Table 2

Долгосрочный прогноз заболеваемости риккетсиозами группы КПЛ на территории Российской Федерации в 2022–2031 гг., в показателях на 100 тыс. населения

Long-term forecast of STF group rickettsiosis incidence in the territory of the Russian Federation in 2022–2031, per 100 thousand of the population

Территории Territory	СМП _{2012–2021} , ^{0/0000} (95 % ДИ) Mean _{2012–2021} , ^{0/0000} (95 % CI)	Заболеваемость в 2021 г., ^{0/0000} (95 % ДИ) Incidence in 2021, ^{0/0000} (95 % CI)	Прогнозные значения показателей заболеваемости КР с 95 % ДИ, ^{0/0000} Forecast of tick-borne rickettsiosis incidence with 95 % CI, ^{0/0000}				
			2022	2023	2024	2025	2026
СКТ (STT)							
РФ Russian Federation	0,99 (0,94–1,04)	0,53 (0,49–0,57)	0,45 (0,34–0,61)	0,38 (0,26–0,57)	0,36 (0,23–0,57)	0,36 (0,22–0,58)	0,38 (0,24–0,59)
Республика Алтай Republic of Altai	91,23 (78,46–104,01)	53,30 (43,64–62,95)	46,72 (31,39–69,53)	41,32 (24,25–70,41)	42,64 (22,96–79,18)	49,68 (26,21–94,15)	60,34 (32,91–110,6)
Алтайский край Altai Territory	21,93 (20,05–23,82)	15,61 (14,01–17,22)	17,18 (14,24–20,72)	18,17 (15,07–21,92)	13,98 (11,37–17,18)	15,01 (11,74–19,19)	15,88 (12,42–20,30)
Республика Тыва Republic of Tuva	16,67 (12,16–21,19)	7,06 (4,17–9,94)	4,66 (1,16–18,74)	4,78 (0,74–30,86)	5,07 (0,58–44,21)	5,13 (0,55–48,02)	4,64 (0,56–38,72)
Хабаровский край Khabarovsk Territory	12,39 (10,50–14,28)	4,93 (3,73–6,13)	2,77 (1,03–7,43)	2,10 (0,56–7,88)	2,05 (0,44–9,55)	2,47 (0,51–12,09)	3,21 (0,71–14,46)
Еврейская АО Jewish Autonomous Region	8,11 (3,80–12,42)	1,26 (0,0–3,00)	4,29 (1,77–10,43)	5,26 (1,95–14,19)	2,12 (0,75–6,00)	1,31 (0,43–4,02)	2,46 (0,70–8,70)
Республика Хакасия Republic of Khakassia	7,44 (5,12–9,75)	0,37 (0,0–0,89)	0,31 (0,08–1,25)	0,17 (0,03–0,79)	0,04 (0,01–0,20)	0,03 (0,00–0,15)	0,04 (0,01–0,27)
Новосибирская область Novosibirsk Region	6,49 (5,53–7,44)	3,00 (2,36–3,65)	3,77 (2,61–5,45)	4,35 (2,83–6,69)	4,18 (2,79–6,28)	3,19 (2,18–4,67)	2,53 (1,62–3,95)
Приморский край Primorsky Territory	5,75 (4,68–6,82)	3,05 (2,27–3,84)	2,08 (1,10–3,93)	1,70 (0,72–3,98)	1,69 (0,63–4,54)	1,97 (0,71–5,48)	2,46 (0,93–6,47)
Иркутская область Irkutsk Region	2,20 (1,60–2,79)	0,92 (0,53–1,30)	1,25 (0,81–1,91)	1,51 (0,91–2,50)	1,42 (0,89–2,28)	1,01 (0,65–1,58)	0,79 (0,47–1,32)
Красноярский край Krasnoyarsk Territory	1,97 (1,46–2,49)	0,80 (0,47–1,13)	0,63 (0,37–1,07)	0,46 (0,22–0,94)	0,37 (0,16–0,85)	0,33 (0,14–0,79)	0,32 (0,14–0,74)
Республика Бурятия Buryat Republic	1,89 (1,03–2,75)	0,91 (0,32–1,50)	1,13 (0,54–2,35)	1,47 (0,62–3,46)	1,70 (0,76–3,83)	1,36 (0,64–2,91)	0,96 (0,39–2,34)
Забайкальский край Trans-Baikal Territory	1,47 (0,75–2,19)	0,09 (0,0–0,28)	0,03 (0,01–0,13)	0,03 (0,01–0,13)	0,05 (0,01–0,19)	0,04 (0,01–0,16)	0,01 (0,00–0,06)
Амурская область Amur Region	1,25 (0,48–2,02)	0,25 (0,0–0,60)	0,44 (0,05–3,54)	0,19 (0,02–1,55)	0,07 (0,01–0,73)	0,22 (0,01–3,35)	0,09 (0,01–1,46)
Курганская область Kurgan Region	0,32 (0,00–0,69)	0,00 (0,00–0,00)	0,01 (0,00–0,15)	0,00 (0,00–0,10)	0,00 (0,00–0,06)	0,00 (0,00–0,03)	0,00 (0,00–0,02)
Тюменская область Tyumen Region	0,26 (0,00–0,52)	0,13 (0,0–0,31)	0,03 (0,00–0,36)	0,01 (0,00–0,23)	0,01 (0,00–0,20)	0,01 (0,00–0,26)	0,03 (0,00–0,49)
Кемеровская область Kemerovo Region	0,26 (0,07–0,45)	0,23 (0,04–0,41)	0,25 (0,12–0,50)	0,16 (0,07–0,37)	0,08 (0,03–0,22)	0,07 (0,02–0,17)	0,09 (0,03–0,22)
Омская область Omsk Region	0,07 (0,05–0,19)	0,00 (0,00–0,00)	0,06 (0,02–0,22)	0,12 (0,03–0,53)	0,16 (0,04–0,69)	0,11 (0,02–0,45)	0,05 (0,01–0,21)
АПЛ (ASF)							
Астраханская область Astrakhan Region	22,82 (19,88–25,76)	8,22 (6,45–9,99)	7,99 (2,39–26,64)	3,16 (0,95–10,52)	5,15 (1,54–17,16)	4,15 (0,81–21,20)	1,64 (0,32–8,38)
Республика Калмыкия Republic of Kalmykia	1,50 (0,07–2,94)	0,00 (0,00–0,00)	0,25 (0,14–0,43)	0,36 (0,19–0,69)	0,26 (0,12–0,53)	0,09 (0,04–0,20)	0,03 (0,02–0,08)
СЛ (MF)							
Республика Крым Republic of Crimea	1,49 (0,94–2,04)	0,78 (0,48–1,21)	0,84 (0,28–2,52)	1,56 (0,42–5,84)	3,10 (0,84–11,37)	4,05 (1,24–13,25)	2,95 (0,92–9,48)
г. Севастополь Sevastopol	1,53 (0,37–2,68)	1,46 (0,39–2,55)	2,17 (0,31–14,99)	0,57 (0,05–6,03)	0,22 (0,02–2,38)	0,64 (0,06–6,86)	1,23 (0,06–27,33)

Примечания: СКТ – сибирский клещевой тиф; АПЛ – астраханская пятнистая лихорадка; СЛ – средиземноморская лихорадка.

Notes: STT – Siberian tick-borne typhus; ASF – Astrakhan spotted fever; MF – Mediterranean fever.

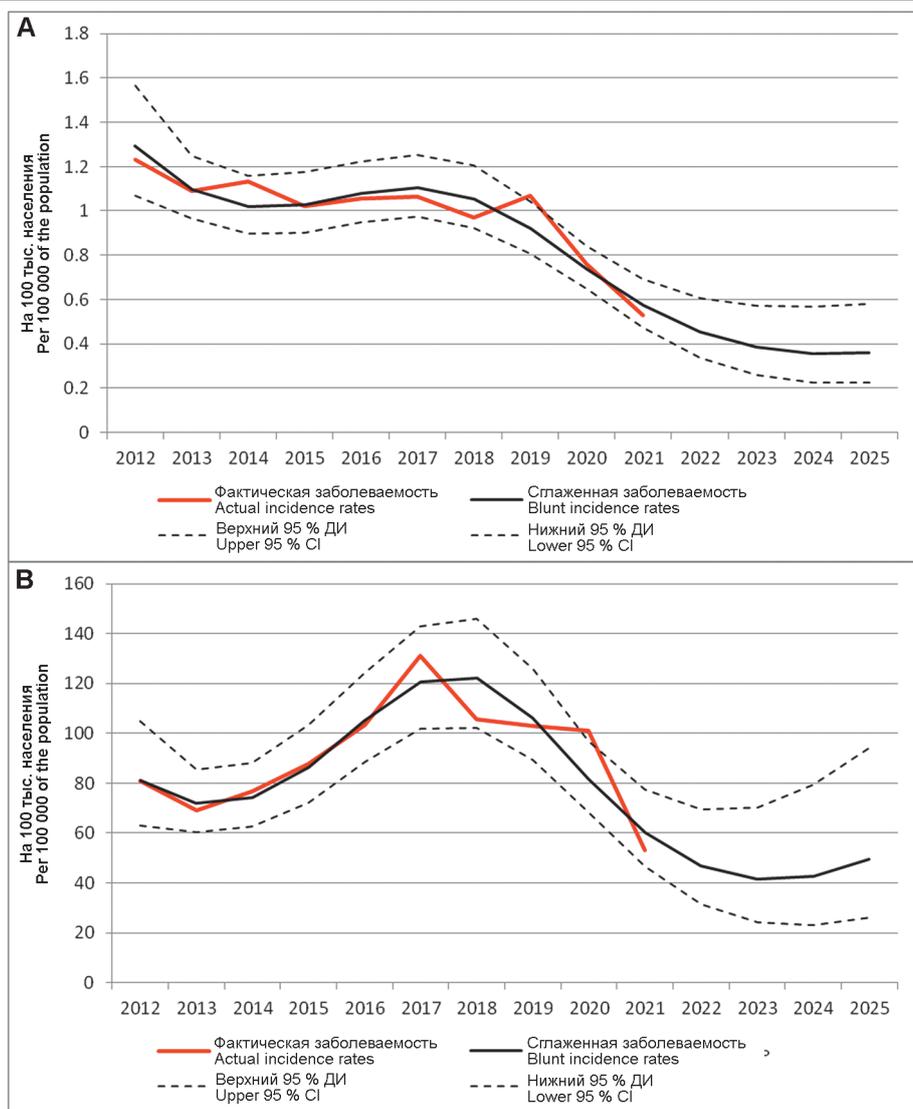


Рис. 2. Графическая иллюстрация использования периодической модели для долгосрочного прогнозирования заболеваемости СКТ:

A – в Российской Федерации; B – в Республике Алтай

Fig. 2. Graphical illustration of the use of a periodic model for long-term prediction of the STT incidence:

A – in the Russian Federation; B – in the Republic of Altai

Таблица 3 / Table 3

Сравнение точности приближения линейной и периодической моделей к фактическим показателям заболеваемости риккетсиозами группы КПЛ в России в 2012–2021 гг.

Comparison of the approximation accuracy of the linear and periodic models to the actual incidence of TSF group rickettsiosis in Russia in 2012–2021

Территории Territory	Средняя квадратическая ошибка (MSE) Mean squared error	
	Линейная модель Linear model	Модель с периодическим компонентом Periodic model
1	2	3
СКТ (STT)		
РФ / Russian Federation	0,145	0,072
Республика Алтай / Republic of Altai	0,243	0,096
Алтайский край / Altai Territory	0,113	0,067
Республика Тыва / Republic of Tuva	0,411	0,338
Хабаровский край / Khabarovsk Territory	0,438	0,240
Еврейская АО / Jewish Autonomous Region	0,533	0,335
Республика Хакасия / Republic of Khakassia	0,691	0,529
Новосибирская область / Novosibirsk Region	0,178	0,121
Приморский край / Primorsky Krai	0,318	0,154
Иркутская область / Irkutsk Region	0,216	0,141

Окончание табл. 3 / Ending of table 3

1	2	3
Красноярский край / Krasnoyarsk Territory	0,181	0,130
Республика Бурятия / Buryat Republic	0,309	0,242
Забайкальский край / Trans-Baikal Territory	0,680	0,427
Амурская область / Amur Region	0,931	0,750
Курганская область / Kurgan Region	1,037	0,694
Тюменская область / Tyumen Region	1,097	0,669
Кемеровская область / Kemerovo Region	0,445	0,265
Омская область / Omsk Region	0,861	0,413
АПЛ (ASF)		
Астраханская область / Astrakhan Region	0,483	0,349
Республика Калмыкия / Republic of Kalmykia	0,576	0,183
СЛ (MF)		
Республика Крым / Republic of Crimea	0,603	0,211
г. Севастополь / Sevastopol	0,741	0,353

болеваемости останутся на уровне 2020–2021 гг., а к 2026 г. восстановятся на допандемическом уровне. Сохранение допандемического уровня заболеваемости средиземноморской лихорадкой и даже некоторое его превышение можно ожидать на протяжении ближайших лет в Республике Крым, г. Севастополе.

Полученные прогнозные значения, безусловно, потребуют уточнения в случае прекращения эпидемического распространения новой коронавирусной инфекции и при условии появления (разработки) и внедрения в практику эффективных диагностических тест-наборов для лабораторной верификации клещевых риккетсиозов.

Результаты проведенного анализа свидетельствуют о необходимости усиления внимания к проблемам диагностики и последующей официальной регистрации природно-очаговых инфекций на фоне такой чрезвычайной ситуации, как пандемия COVID-19, и недопущения подобного в аналогичных ситуациях с новыми или возвращающимися инфекциями.

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

Список литературы

1. Parola P., Paddock Ch.D., Socolovschi C., Labruna M.B., Mediannikov O., Kernif T., Abdad M.Y., Stenos J., Bitam I., Fournier P.-E., Raoult D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013; 26(4):657–702. DOI: 10.1128/CMR.00032-13.
2. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Пеневская Н.А., Блох А.И., Решетникова Т.А., Самойленко И.Е., Кумпан Л.В., Штрек С.В., Савельев Д.А., Абрамова Н.А., Транквилевский Д.В. Особенности эпидемической ситуации по клещевым риккетсиозам в Российской Федерации в 2010–2020 гг. и прогноз на 2021 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 1:73–80. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-73-80.
3. Рудаков Н.В., Штрек С.В., Блох А.И., Пеневская Н.А., Щучинова Л.Д. Возможности серологической верификации сибирского клещевого тифа с использованием тест-системы для выявления антител к *Rickettsia conorii*. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2019; 64(9):553–9. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-9-553-559.
4. Robinson M.T., Satjanadumrong J., Hughes T., Stenos J., Blacksell S.D. Diagnosis of spotted fever group *Rickettsia* infec-

tions: the Asian perspective. *Epidemiol. Infect.* 2019; 147:e286. DOI: 10.1017/S0950268819001390.

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

6. Колпаков С.Л., Яковлев А.А. О методологии оценки эпидемиологической ситуации. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2015; 20(4):34–9.

7. Stolwijk A.M., Straatman H., Zielhuis G.A. Studying seasonality by using sine and cosine functions in regression analysis. *J. Epidemiol. Community Health.* 1999; 53(4):235–8. DOI: 10.1136/jech.53.4.235.

8. Hyndman R.J., Athanasopoulos G. Forecasting: principles and practice. 2nd ed. Melbourne, Australia: OTexts; 2018. [Электронный ресурс]. URL: <https://otexts.com/fpp2> (дата обращения 01.01.2022).

9. Ланг Т.А., Сесик М. Как описывать статистику в медицине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. М.: Практическая медицина; 2011. 477 с.

10. Рудакова С.А., Пеневская 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. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 2:52–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-52-61.

References

1. Parola P., Paddock Ch.D., Socolovschi C., Labruna M.B., Mediannikov O., Kernif T., Abdad M.Y., Stenos J., Bitam I., Fournier P.-E., Raoult D. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013; 26(4):657–702. DOI: 10.1128/CMR.00032-13.
2. Rudakov N.V., Shpynov S.N., Pen'evskaya N.A., Blokh A.I., Reshetnikova T.A., Samoylenko I.E., Kumpan L.V., Strek S.V., Savel'ev D.A., Abramova N.A., Trankvilevsky D.V. [Features of the epidemic situation of tick-borne rickettsioses in the Russian Federation in 2010–2020 and forecast for 2021]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):70–80. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-73-80.
3. Rudakov N.V., Shtrek S.V., Blokh A.I., Pen'evskaya N.A., Shchuchinova L.D. [Possibility of serological verification of Siberian tick typhus with the test system for identification of *Rickettsia conorii* antibodies]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2019; 64(9):553–9. DOI: 10.18821/0869-2084-2019-64-9-553-559.
4. Robinson M.T., Satjanadumrong J., Hughes T., Stenos J., Blacksell S.D. Diagnosis of spotted fever group *Rickettsia* infections: the Asian perspective. *Epidemiol. Infect.* 2019; 147:e286. DOI: 10.1017/S0950268819001390.
5. Savilov E.D., Astaf'ev V.A., Zhdanova S.N., Zarudnev E.A. [Epidemiological Analysis: Methods of Statistical Processing of the Material]. Novosibirsk: "Nauka-Tsentr"; 2011. 156 p.
6. Kolpakov S.L., Yakovlev A.A. [Regarding methodology for assessing the epidemiological situation]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2015; 20(4):34–9.

7. Stolwijk A.M., Straatman H., Zielhuis G.A. Studying seasonality by using sine and cosine functions in regression analysis. *J. Epidemiol. Community Health*. 1999; 53(4):235–8. DOI: 10.1136/jech.53.4.235.

8. Hyndman R.J., Athanasopoulos G. *Forecasting: principles and practice*. 2nd ed. Melbourne, Australia: OTexts; 2018. (Cited 01 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://otexts.com/fpp2>.

9. Lang T.A., Sesik M. [How to Describe Statistics in Medicine. Guide for Authors, Editors, and Reviewers]. Moscow: “Practical medicine”; 2011. 477 p.

10. 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]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (2):52–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-52-61.

Authors:

Rudakov N.V., Pen’evskaya N.A., Kumpan L.V., Blokh A.I., Shpynov S.N., Shrek S.V. Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections; 7, Mira Avenue, Omsk, 644080, Russian Federation; e-mail: mail@oniipi.org. Omsk State Medical University; 12, Lenina St., Omsk, 644099, Russian Federation.

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

Об авторах:

Рудаков Н.В., Пеньевская Н.А., Кумпан Л.В., Блох А.И., Шпынов С.Н., Шрек С.В. 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, 644099, Омск, ул. Ленина, 12.

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-64-70

УДК 616.98:579.852.11

А.Г. Рязанова¹, О.Н. Скударева², Д.К. Герасименко¹, Ф.В. Логвин³, Д.К. Чмеренко¹, О.В. Семенова¹,
Л.Ю. Аксенова¹, Е.И. Еременко¹, Н.П. Буравцева¹, Т.М. Головинская¹, Г.А. Печковский¹,
А.Н. Куличенко¹

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ В МИРЕ В 2021 г., ПРОГНОЗ НА 2022 г. В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

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

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

³ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Представлен обобщенный анализ эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по сибирской язве в 2021 г. в Российской Федерации и в мире, дан прогноз на 2022 г. в России. В 2021 г. в Российской Федерации зафиксировано два случая кожной формы сибирской язвы среди людей в Сибирском (Республика Тыва) и Северо-Кавказском (Республика Дагестан) федеральных округах. Эпизоотолого-эпидемиологическое неблагополучие по инфекции проявлялось в странах ближнего зарубежья: Азербайджане, Армении, Казахстане, Киргизии, Украине. Сибирская язва среди сельскохозяйственных и диких животных регистрировалась в ряде государств Азии, Африки, Европы, в Северной и Южной Америке, Австралии. Случаи заболевания людей отмечались преимущественно на территории Африки (Зимбабве, Кения, Уганда) и Азии (Индия, Индонезия, Ирак, Китай) и были обусловлены реализацией контактного и/или алиментарного путей передачи возбудителя в результате вынужденного убоя больных и/или разделки павших сельскохозяйственных животных, употребления в пищу мяса больного и павшего скота. Уровень заболеваемости сибирской язвой среди сельскохозяйственных животных и людей в 2022 г. в Российской Федерации будет определяться полнотой реализации регламентированных профилактических мероприятий и при строгом выполнении мер комплексного эпизоотолого-эпидемиологического надзора будет ограничен единичными случаями инфекции.

Ключевые слова: сибирская язва, *Bacillus anthracis*, вспышка, заболеваемость.

Корреспондирующий автор: Рязанова Алла Геннадьевна, e-mail: anthraxlab.stv@mail.ru.

Для цитирования: Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К., Логвин Ф.В., Чмеренко Д.К., Семенова О.В., Аксенова Л.Ю., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Печковский Г.А., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая и эпизоотологическая обстановка по сибирской язве в мире в 2021 г., прогноз на 2022 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:64–70. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-64-70

Поступила 02.03.2022. Отправлена на доработку 04.03.2022. Принята к публ. 11.03.2022.

A.G. Ryazanova¹, O.N. Skudareva², D.K. Gerasimenko¹, F.V. Logvin³, D.K. Chmerenko¹,
O.V. Semenova¹, L.Yu. Aksenova¹, E.I. Eremenko¹, N.P. Buravtseva¹, T.M. Golovinskaya¹,
G.A. Pechkovsky¹, A.N. Kulichenko¹

Epidemiological and Epizootiological Situation around Anthrax in the World in 2021, the Forecast for 2022 in the Russian Federation

¹Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation;

²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation;

³Rostov State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. A generalized analysis of the epidemiological and epizootiological situation on anthrax in the world in 2021 is presented. Provided is the forecast for the Russian Federation for 2022. In 2021, two cases of cutaneous form of anthrax were recorded in Russia among population living in the Siberian (the Republic of Tuva) and the North Caucasian (the Republic of Dagestan) Federal Districts. Epizootiological and epidemiological instability due to the infection was manifested in neighboring countries – Azerbaijan, Armenia, Kazakhstan, Kyrgyzstan, and Ukraine. Anthrax among farm and wild animals was registered in a number of countries in Asia, Africa, Europe, North and South America, and Australia. Human cases were noted mainly in Africa (Zimbabwe, Kenya, Uganda, China) and Asia (India, Indonesia, Iraq), and were caused by the contact and/or alimentary pathways of transmission of the pathogen as a result of forced slaughter of sick and/or butchering of fallen farm animals, consuming meat of sick and fallen cattle. The level of anthrax incidence among farm animals and humans in the Russian Federation in 2022 will be predetermined by the completeness of the implementation of regulated preventive measures, and, provided the strict introduction of comprehensive epizootiological and epidemiological surveillance, will be limited to sporadic cases of infection.

Key words: anthrax, *Bacillus anthracis*, outbreak, morbidity.

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

Corresponding author: Alla G. Ryazanova, e-mail: anthraxlab.stv@mail.ru.

Citation: Ryazanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., Logvin F.V., Chmerenko D.K., Semenova O.V., Aksenova L.Yu., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Golovinskaya T.M., Pechkovsky G.A., Kulichenko A.N. Epidemiological and Epizootiological Situation on Anthrax around the World in 2021, the Forecast for 2022 in the Russian Federation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:64–70. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-64-70

Received 02.03.2022. Revised 04.03.2022. Accepted 11.03.2022.

Ryazanova A.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5196-784X>
Gerasimenko D.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8636-6585>
Logvin F.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4410-1677>
Chmerenko D.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2143-2668>
Semenova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0274-898X>
Aksenova L.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7744-3112>

Eremenko E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1117-1185>
Buravtseva N.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0756-5405>
Golovinskaya T.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6475-4512>
Pechkovsky G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7033-9972>
Kulichenko A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Сибирская язва в Российской Федерации.

В Российской Федерации в течение 2021 г. выявлено две вспышки сибирской язвы в субъектах Сибирского (Республика Тыва) и Северо-Кавказского (Республика Дагестан) федеральных округов с вовлечением в эпизоотолого-эпидемиологический процесс двух голов (гол.) крупного рогатого скота (КРС) и двух человек.

В июне в Республике Тыва (с. Бижиктиг-Хая, Барун-Хемчикский кожуун (район)) зафиксирован случай заболевания сибирской язвой человека в результате контакта с тушей павшего животного (КРС) в ходе ее разделки в личном подсобном хозяйстве. Эпидемиологическое расследование показало, что заражение коровы связано с пастбищным выпасом в стационарно неблагополучном по сибирской язве пункте (СНП), где проявления инфекции неоднократно регистрировались с 1941 по 1989 год [1]. Последние случаи сибирской язвы отмечались в этом районе республики в 2018 г., когда произошло заражение трех голов КРС, а при контакте с заболевшим бычком в процессе его вынужденного убоя определено два случая инфекции среди людей [2].

Диагноз кожной формы сибирской язвы установлен на основании характерной клинической картины заболевания, эпидемиологического анамнеза, положительных результатов лабораторных исследований клинических образцов и материала от КРС, осуществленных в ФКУЗ «Тувинская противочумная станция». В процессе исследований выделено четыре культуры *Bacillus anthracis*: одна из клинического материала больного (фрагмент струпа кожного аффекта) и три из внутренних органов КРС (сердце, легкое, печень).

По результатам окончательной идентификации, проведенной в Референс-центре по мониторингу за возбудителем сибирской язвы (ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт»), все четыре культуры идентифицированы как вирулентные культуры возбудителя сибирской язвы. По данным молекулярно-генетического типирования, выделенные культуры относятся к основной группе В (ветвь В.Br.001/002) и идентичны по *canSNP*-, *MLVA15*-генотипам штаммам *B. anthracis*, изолированным в период вспышки сибирской язвы в Барун-Хемчикском районе Республики Тыва в 2018 г. [2].

В августе 2021 г. в Республике Дагестан сибирская язва зарегистрирована у жителя с. Какашура (Карабудахкентский район) после разделки туши КРС, убой которого был проведен без ветеринарного осмотра в убойном пункте.

Диагноз кожной формы сибирской язвы с соответствующей клинической картиной и эпидемиологическим анамнезом подтвержден результа-

тами лабораторных исследований в учреждениях Роспотребнадзора. В пробах кожного аффекта большого методом ПЦР выявлена ДНК *B. anthracis* (ФКУЗ «Дагестанская противочумная станция»), в сыворотке крови непрямым методом флуоресцирующих антител обнаружены специфические противосибиреязвенные антитела в диагностическом титре (ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт»).

Республика Дагестан является одним из наиболее неблагополучных по сибирской язве регионов не только на Северном Кавказе, но и в целом по стране. В настоящее время в республике учтены 430 СНП, проявления активности которых в историческом прошлом различались кратностью и интенсивностью (с максимумом в 1940–1979 гг., 648 вспышек). При этом случаи заболевания сибирской язвой сельскохозяйственных животных (СХЖ) и людей продолжают стабильно регистрироваться в разных районах ежегодно, начиная с 2018 г. Так, в 2020 г. вспышка инфекции была отмечена в с. Какмахи (Карабудахкентский район), расположенном в непосредственной близости от с. Какашура. Согласно Кадастру СНП РФ (2005 г.), в с. Какашура сибирская язва регистрировалась в 1951–1952 гг., в с. Какмахи – в 1948 г. [1, 3].

По данным Россельхознадзора об эпизоотической ситуации в Российской Федерации в I–III кварталах 2021 г. выявлена одна вспышка сибирской язвы среди КРС в Республике Тыва [4].

В 2021 г. в Российской Федерации против сибирской язвы вакцинирован 7541 человек в 67 субъектах, что составило 89,42 % от намеченного плана (8433 человека). План ревакцинации против сибирской язвы выполнен на 68,82 % – иммунизацией охвачено 33465 человек в 69 субъектах (план ревакцинации – 48626 человек).

В полном объеме вакцинация состоялась в 17 субъектах: в республиках Башкортостан, Бурятия, Ингушетия, Татарстан, в Кабардино-Балкарской и Чувашской республиках, Краснодарском и Пермском краях, Амурской, Астраханской, Ивановской, Ленинградской, Липецкой, Псковской, Рязанской, Тамбовской и Ульяновской областях.

Вакцинация свыше 100 % от запланированного объема осуществлена в 21 субъекте, из которых в пяти отмечено некорректное превышение плана вакцинации (в 2,77–8,28 раза): в Удмуртской Республике – 828,26 %, Ставропольском крае – 352,63 %, г. Санкт-Петербурге – 314,29 %, Республике Тыва – 283,75 %, Пензенской области – 276,74 %. Иммунизация не планировалась, но была реализована в Ханты-Мансийском автономном округе (5 человек), Новгородской (16) и Тюменской (30) областях, Красноярском крае (31).

Выполнение плана по вакцинации составило менее 80 % в 18 субъектах: в Белгородской области (привито 76,09 %), Республике Хакасия (72,73 %), Архангельской (72,5 %), Владимирской (71,11 %), Самарской (68,46 %), Московской (61,76 %), Свердловской (55,38 %) областях, Республике Саха (Якутия) (55,38 %), Орловской (36,4 %), Челябинской (36,36 %), Курской (19 %), Брянской (18,08 %) областях, Ненецком автономном округе (12,5 %), Калужской (12,2 %), Костромской (11 %), Ярославской (9,7 %) областях, Забайкальском крае (9,52 %), Волгоградской области (8,4 %).

В 2021 г. вакцинация против сибирской язвы не осуществлялась при запланированных профилактических мероприятиях в семи субъектах: в республиках Адыгея, Крым и Северная Осетия – Алания, Иркутской и Магаданской областях, г. Севастополе, Еврейской автономной области. В 11 субъектах вакцинация людей не планировалась и не проводилась (Республика Карелия, Карачаево-Черкесская и Чеченская республики, Камчатский и Хабаровский края, г. Москва, Калининградская, Мурманская, Сахалинская и Смоленская области, Чукотский автономный округ).

Плановая ревакцинация реализована в полном объеме в десяти субъектах: в республиках Башкортостан, Бурятия, Ингушетия и Хакасия, Камчатском крае, Астраханской, Ленинградской, Новгородской, Псковской и Ульяновской областях.

Более 100 % от намеченного составил охват ревакцинацией в десяти субъектах. Ревакцинация проведена при отсутствии плана в Архангельской и Тюменской областях, Красноярском крае, г. Москве.

В 20 субъектах ревакцинация выполнена в объеме ниже 80 % от плана: в Амурской (78,13 %), Челябинской (78,05 %), Московской (77,89 %) областях, Республике Крым (76 %), Ямало-Ненецком автономном округе (75,38 %), Кемеровской (75 %), Костромской (72 %), Владимирской (69,29 %) областях, Приморском крае (68,97 %), Тверской области (65,61 %), Республике Адыгея (55,62 %), Забайкальском крае (55,26 %), Вологодской (49,41 %), Брянской (49,21 %) областях, Республике Коми (48,92 %), Республике Саха (Якутия) (42,01 %), Калужской области (40,47 %), Ставропольском крае (33,96 %), Волгоградской области (17,39 %), Удмуртской Республике (4,68 %).

Ревакцинация запланирована, но не реализована в трех субъектах: в Курской и Магаданской областях, Ненецком автономном округе. Ревакцинация планировалась и не осуществлялась в 13 субъектах: в республиках Карелия, Северная Осетия – Алания, в Карачаево-Черкесской и Чеченской республиках, Хабаровском крае, Иркутской, Калининградской, Мурманской, Сахалинской и Смоленской областях, г. Севастополе, Еврейской автономной области, Чукотском автономном округе.

В соответствии с информацией Департамента ветеринарии Минсельхоза России, в 2021 г. план

по вакцинации против сибирской язвы КРС выполнен на 160,7 % (иммунизацией охвачено 23075,854 тыс. гол.), мелкого рогатого скота (МРС) – на 268,8 % (40755,107 тыс. гол.), свиней – на 154,3 % (885,852 тыс. гол.), лошадей – на 106,7 % (1133,452 тыс. гол.), оленей – на 82,5 % (949,666 тыс. гол.). Специфическая иммунизация верблюдов не проводилась при запланированной вакцинации 5,143 тыс. голов в 25 субъектах.

Несмотря на высокий охват поголовья КРС специфической иммунизацией против сибирской язвы (более 100 % от планируемого), в двух субъектах страны имели место случаи заболевания КРС, ставшие источником заражения людей, что свидетельствует о неполном учете скота и, соответственно, неполном охвате вакцинацией СХЖ, в том числе на неблагополучных по сибирской язве территориях.

В 2022 г. планируется охватить вакцинацией 14256,505 тыс. гол. КРС (22609,806 тыс. головообработок), 13855,871 тыс. гол. МРС (21550,691 тыс. головообработок), 477,484 тыс. гол. свиней (806,549 тыс. головообработок), 1032,850 тыс. гол. лошадей (1033,480 тыс. головообработок), 1103,165 тыс. гол. оленей (1103,165 тыс. головообработок), 4,981 тыс. гол. верблюдов (4,983 тыс. головообработок).

Сибирская язва в странах ближнего зарубежья. В 2021 г. эпизоотолого-эпидемиологическое неблагополучие по сибирской язве зафиксировано на территории шести стран ближнего зарубежья.

В Казахстане зарегистрировано более десяти очагов инфекции в шести областях и одном городе республиканского значения. Так, в январе в Алматинской области (с. Болексаз, Кегенский район) отмечено 19 павших от сибирской язвы голов КРС. В июне в Костанайской области (хозяйство «Алтай», Денисовский район) заболело 32 СХЖ, из них пало 16 КРС и 9 лошадей, а также произведен вынужденный убой 6 КРС и 1 лошади [5]. В июле в одном из животноводческих хозяйств (с. Приречное) Денисовского района зарегистрирована вспышка инфекции (пало свыше 10 КРС) с выявлением трех случаев заражения людей, осуществлявших уход за этим скотом, возможно, вынужденный убой животных и разделку туш. Также в ноябре в Денисовском районе (с. Жалтырколь) кожная форма сибирской язвы подтверждена у двух работников ТОО «Баталинское», принимавших участие в вынужденном убое заболевшей коровы [6]. В августе в Акжарском районе Северо-Казахстанской области на территории отгонного участка сельхозформирования (вблизи с. Горьковского) кожная форма инфекции средней степени тяжести диагностирована у работника, участвовавшего в убое и разделке туши одной головы КРС без ветеринарного осмотра; несколько позже в данном сельхозформировании пала еще одна голова КРС, а в с. Горьковском зафиксирован падеж от сибирской язвы шести голов КРС. В августе – сентябре в фермерском хозяйстве Туркестанской области

(с. Киелитас, Тобейский район) от сибирской язвы пала 21 голова КРС [7].

В ноябре на юге Казахстана четыре жителя г. Шымкента заболели сибирской язвой после разделки мяса лошади. Со слов владельца, животное было подвергнуто вынужденному убою в связи с травмой без ветеринарного освидетельствования. Мясо было привезено на продажу в г. Шымкент, предположительно, из Сайрамского района Туркестанской области [8]. Также сообщалось (без указания подробностей) о случаях выявления сибирской язвы у людей в Восточно-Казахстанской (Аягоский район, 4 человека), Жамбылской (1), Туркестанской (4) областях и г. Шымкенте (2).

В Киргизии сибирская язва СХЖ и людей отмечалась в Джалал-Абадской (3 вспышки), Ошской (1) областях. В первом квартале 2021 г. обнаружен один случай заражения жителя Базар-Коргонского района Джалал-Абадской области. В сентябре в с. Жузумжан Аксайского района Джалал-Абадской области выявлено восемь случаев инфицирования КРС, а с подозрением на заболевание госпитализированы семь человек. Диагноз впоследствии подтвердился у двух человек, которые употребляли в пищу мясо заболевшей коровы после вынужденного убоя. Также сообщалось, что весной два жителя с. Жузумжан проходили лечение от сибирской язвы. В сентябре в Сузакском районе Джалал-Абадской области (с. Жашасын) в результате контакта и употребления в пищу приобретенного мяса больного КРС сибирская язва диагностирована у четырех человек. В результате эпидемиологического расследования установлено, что мясо КРС было также распродано в нескольких селах. В Ошской области в августе сибирской язвой заболели восемь человек после вынужденного убоя больного скота [9, 10].

По обобщенной информации Всемирной организации по охране здоровья животных (ОИЕ), в Азербайджане в 2021 г. выявлено три эпизоотических очага сибирской язвы. В конце апреля зарегистрировано семь случаев падежа невакцинированного молодняка МРС (5 коз и 2 овцы) в Шамкирском районе. В Билясуварском районе в сентябре пало 20 КРС, а в ноябре в Хачмазском районе – 1 КРС [11].

В Армении в июне – июле 2021 г. вспышки сибирской язвы имели место на территории двух областей с заболеванием 15 человек [12]. Так, в Варденисском районе Гехаркуникской области инфекция зафиксирована в с. Ваневан (пало 5 КРС и 2 МРС) и с. Торфаван (1 КРС) с заболеванием в совокупности трех человек. В июле отмечено еще пять случаев заражения людей в Гехаркуникской и семь – в Ширакской области, в с. Исаакян, в котором имелись случаи падежа скота (6 КРС и 6 МРС). Предыдущие проявления активности инфекции отмечались в Армении в Гехаркуникской и Армавирской областях в 2019 г. [13].

В начале октября 2021 г. Государственный научно-исследовательский институт по лаборатор-

ной диагностике и ветеринарно-санитарной экспертизе г. Киева (Украина) подтвердил случай падежа от сибирской язвы одного пони в зооуголке парка «Топильче» (г. Тернополь) [14].

Сибирская язва в странах дальнего зарубежья.

В соответствии с данными ОИЕ, на протяжении 2021 г. неблагополучная эпизоотологическая ситуация по сибирской язве среди СХЖ зафиксирована на территории двух стран Европы: в Испании (24 очага в 3 провинциях – пало 142 КРС, 5 свиней, 5 лошадей, вынужденный убой 1 КРС), Франции (2 вспышки в 2 регионах – пало 9 КРС); Азии: в Ираке (1 вспышка – пало 8 КРС, вынужденный убой 4 КРС) [15].

По информации Россельхознадзора, в 2021 г. случаи заболевания животных отмечались в Аргентине (1 очаг – неопределенное количество голов домашнего скота) и Бутане (1 очаг – 3 КРС). Согласно опубликованным данным ресурса ProMED-mail, эпизоотии сибирской язвы имели место в Австралии (1 вспышка – предположительно 1 МРС), Аргентине (1 территория – спорадические случаи падежа КРС), Буркина-Фасо (крупная вспышка среди домашнего скота), Германии (1 КРС), Индии (2 вспышки – КРС, 5 или 6 МРС), Индонезии (1 вспышка – десятки голов КРС), Иране (1 территория – 9 КРС), Ираке (1 очаг – домашний скот), Канаде (1 очаг – 1 МРС и предположительно 4 МРС), Кении (1 вспышка – предположительно 8 КРС), Китае (3 территории – пало свыше 5 КРС, вынужденный убой 1 КРС), Турции (2 вспышки среди КРС), Уганде (1 очаг – пало свыше 15 КРС).

Эпизоотологическое неблагополучие по сибирской язве зарегистрировано в период с июля по сентябрь 2021 г. на территории восьми округов трех штатов США с выявлением в совокупности 12 случаев заболевания СХЖ и диких животных: в шести округах штата Техас отмечено восемь эпизоотических очагов (2 очага – 2 лошади; 2 очага – 3 КРС; 3 очага – 3 белохвостых оленя; 1 очаг – 1 куду), по одному очагу в штатах Оклахома (1 КРС) и Северная Дакота (2 КРС) [16].

Вспышки сибирской язвы среди диких животных также зафиксированы в двух странах Африки и Азии. В восточной части Демократической Республики Конго (национальный парк Вирунга, территория Рутшуру, провинция Северное Киву) в апреле отмечены две вспышки инфекции: пало десять бегемотов и один водяной буйвол. В двух штатах Индии имелось четыре эпизоотических очага сибирской язвы: в феврале в штате Одиша в заповеднике дикой природы Карлапат округа Калаханди (предположительно пало 5 слонов) и в районе Райракхол округа Самбалпур (предположительно пал 1 слоненок); в штате Тамилнад в заповедном лесу округа Коимбатур (пал 1 слоненок в июле) и в национальном парке Мудумалай округа Нилгири (пал 1 слон в августе) [17].

Сибирская язва у людей в странах дальнего зарубежья в 2021 г. отмечалась главным образом в

государствах Африки (Буркина-Фасо, Зимбабве, Кения, Уганда) и Азии (Индия, Индонезия, Ирак). Инфицирование людей было обусловлено реализацией контактного и/или алиментарного путей передачи возбудителя в результате вынужденного убоя больных и/или разделки павших СХЖ (в большинстве случаев КРС), употребления в пищу их мяса и мясопродуктов. Единичные случаи заболевания людей после контакта с больными СХЖ, сырьем животного происхождения зафиксированы в странах Европы (Испания, Болгария) и Южной Америки (Аргентина).

В Буркина-Фасо (департамент Гегере, провинция Иоба, регион Южный Уэст) выявлено три случая заболевания людей сибирской язвой в результате употребления в пищу мяса павшего КРС с летальным исходом у двух больных. Сообщалось, что заражение людей связано с крупной эпизоотией среди домашнего скота.

Согласно данным Еженедельного бюллетеня по вспышкам и другим чрезвычайным ситуациям Африканского бюро ВОЗ (WHO Africa), на территории Зимбабве в 2021 г. зафиксировано 306 больных сибирской язвой людей (сведения о клинических формах инфекции отсутствуют), лечение которых закончилось выздоровлением. Это продолжение вспышки, начавшейся в 2019 г., на протяжении которой с мая 2019 г. по декабрь 2021 г. учтено 1166 случаев сибирской язвы у людей с тремя летальными исходами. За этот период инфекция регистрировалась в семи провинциях Зимбабве [18].

В Кении (округ Бомет, деревня Итоик) в ходе контакта с тушей КРС заболели семь человек с летальным исходом у одного из них, проводившего утилизацию туши КРС, а также, вероятно, употребившего в пищу мясо павшего животного [19].

В Восточном регионе Уганды, на территории нескольких населенных пунктов района Квин, отмечен падеж по меньшей мере 15 КРС и заболевание 19 человек с одним летальным исходом. Установлено, что шестеро больных употребляли в пищу мясо павшего КРС.

Сообщалось о предположительной вспышке сибирской язвы в штате Одиша в Индии (округ Корапут, район Ламатапур) с выявлением как минимум девяти случаев заболевания среди людей с одним летальным исходом, связанных с употреблением в пищу мяса КРС.

В Индонезии (провинция Восточная Ява, округ Пагервойо) зарегистрирован падеж десятков голов КРС и подозрение на кожную форму сибирской язвы у шести человек, контактировавших со скотом [20].

В Ираке в августе 2021 г. в двух населенных пунктах района Амадия мухафазы Дохук зафиксировано две вспышки сибирской язвы с заболеванием десяти человек после контакта с больным и павшим скотом (как минимум 12 КРС). В сентябре в г. Мосул (мухафаза Найнава) диагностирован случай желудочно-кишечной формы сибирской язвы у

пациента, обратившегося за медицинской помощью с подозрением на аппендицит [21].

На территории Китая, согласно сведениям Пекинского центра по контролю и профилактике заболеваний (Beijing CDC), в период с января по август 2021 г. сибирская язва регистрировалась в 18 провинциях с заболеванием по меньшей мере 162 человек с двумя летальными исходами (провинция Хэбэй (г. Чэндэ) – легочная форма в результате контакта с больным домашним скотом, продукцией и сырьем животноводства; провинция Шаньдун (префектура Биньчжоу) – контакт с больным КРС в ходе убоя, разделки туши, обработки мяса и употребления его в пищу). Дополнительно известно о вспышке инфекции в провинции Шаньси (уезд Вэньшуй) с заболеванием девяти человек (кожная форма, выздоровление), занимавшихся разведением КРС и продажей мяса [22].

В Болгарии (Шуменская область) кожная форма сибирской язвы обнаружена у пастуха после обработки шкуры павшего животного.

Два случая кожной формы сибирской язвы подтверждены в Испании (автономное сообщество Эстремадура, провинция Бадахос, муниципалитет Навальвильяр-де-Пела) [23].

Случай подозрения на кожную форму сибирской язвенной инфекции был отмечен в ноябре у одного сельскохозяйственного работника в Аргентине, на юге провинции Ла-Пампа [24].

Прогноз ситуации по сибирской язве в Российской Федерации на 2022 г. Заболеваемость СХЖ и людей в 2022 г. в Российской Федерации в большой степени будет определяться полнотой регламентированных профилактических мероприятий, в первую очередь уровнем охвата специфической иммунизацией скота и лиц с потенциально высоким риском инфицирования сибирской язвой. При строгом выполнении мер комплексного эпизоотолого-эпидемиологического надзора за сибирской язвой заболевания СХЖ и людей в России будут ограничены единичными случаями.

Учитывая неблагополучие по сибирской язве в ряде стран ближнего и дальнего зарубежья, имеется потенциальный риск завоза с этих территорий большого скота, продукции и сырья животноводства, содержащих *B. anthracis*.

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

Список литературы

1. Черкасский Б.Л., редактор. Кадастр стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов Российской Федерации. Справочник. М.: ИНТЕРСЕН; 2005. 829 с.
2. Рязанова А.Г., Ежлова Е.Б., Пакскина Н.Д., Семенова О.В., Аксенова Л.Ю., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Варфоломеева Н.Г., Чмеренко Д.К., Печковский Г.А., Куличенко А.Н. Ситуация по сибирской язве в 2018 г., прогноз на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 1:98–102. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-98-102.
3. Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К., Чмеренко Д.К., Семенова О.В., Аксенова Л.Ю., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Печковский Г.А., Куличенко А.Н. Обзор эпизоотолого-эпидемиологической си-

туации по сибирской язве в 2020 г. в мире и прогноз на 2021 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 1:81–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-81-86.

4. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации. 2021 год (III квартал). Официальный сайт Россельхознадзора. [Электронный ресурс]. URL: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2021/iac2021_3q.pdf (дата обращения 18.02.2022).

5. Anthrax. World Organisation for Animal Health (OIE). [Электронный ресурс]. URL: <https://wahis.oie.int/#/report-info?reportId=36492> (дата обращения 15.01.2022).

6. Сибирская язва (2 случая у человека) – Казахстан (Костанайская область). [Электронный ресурс]. 11 ноября 2021 г. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20211114.8699605 (дата обращения 14.01.2022).

7. Anthrax. World Organisation for Animal Health (OIE). [Электронный ресурс]. URL: <https://wahis.oie.int/#/report-info?reportId=39171> (дата обращения 17.01.2022).

8. Сибирская язва–Казахстан (Шымкент)(6). [Электронный ресурс]. 16 ноября 2021 г. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20211116.8699702 (дата обращения 14.01.2022).

9. Обзор инфекционной и паразитарной заболеваемости за январь – март 2020–2021 гг. в Кыргызской Республике. Официальный сайт Департамента профилактики заболеваний и госсанэпиднадзора Министерства здравоохранения Кыргызской Республики. [Электронный ресурс]. URL: <https://dgsen.kg/wp-content/uploads/2021/03/3-Mart.pdf> (дата обращения 14.01.2022).

10. Оперативные сообщения Информационно-аналитического центра Россельхознадзора об эпизоотической ситуации в Российской Федерации по данным Всемирной организации охраны здоровья животных (МЭБ, OIE) и средств массовой информации. Официальный сайт Россельхознадзора. [Электронный ресурс]. URL: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/iac/messages/3800.html> (дата обращения 18.01.2022).

11. Anthrax. World Organization for Animal Health (OIE). [Электронный ресурс]. URL: <https://wahis.oie.int/#/report-info?reportId=43322> (дата обращения 16.01.2022).

12. Оперативные сообщения Информационно-аналитического центра Россельхознадзора об эпизоотической ситуации в Российской Федерации по данным Всемирной организации охраны здоровья животных (МЭБ, OIE) и средств массовой информации. Официальный сайт Россельхознадзора. [Электронный ресурс]. URL: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/iac/messages/3731.html> (дата обращения 22.01.2022).

13. Рязанова А.Г., Скударева О.Н., Герасименко Д.К., Семенова О.В., Аксенова Л.Ю., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Варфоломеева Н.Г., Печковский Г.А., Чмеренко Д.К., Куличенко А.Н. Анализ ситуации по сибирской язве в 2019 г., прогноз на 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:57–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-57-61.

14. Anthrax – Ukraine: (TP) pony, OIE. [Электронный ресурс]. 05 Oct 2021. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20211005.8698872 (дата обращения 24.01.2022).

15. Anthrax. World Organisation for Animal Health (OIE). [Электронный ресурс]. URL: <https://wahis.oie.int/#/events?viewAll=true> (дата обращения 14.01.2022).

16. Anthrax – USA (06): (TX) wildlife. [Электронный ресурс]. 10 Sep 2021. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210910.8660737 (дата обращения 18.01.2022).

17. Anthrax – India (05): (TN) elephant. [Электронный ресурс]. 13 Aug 2021. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210813.8593508 (дата обращения 21.01.2022).

18. Anthrax. World Health Organization. [Электронный ресурс]. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/351992/OEW07-0713022022.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (дата обращения 18.02.2022).

19. Anthrax – Kenya: (BO) human, cattle. [Электронный ресурс]. 20 Jan 2021. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210120.8120990 (дата обращения 20.01.2022).

20. Anthrax – Indonesia: (EJ) livestock, humans, susp. [Электронный ресурс]. 07 Jun 2021. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210607.8430282 (дата обращения 17.01.2022).

21. Anthrax – Iraq (03): (NI) human. [Электронный ресурс]. 14 Sep 2021. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210914.8668916 (дата обращения 14.01.2022).

22. Anthrax – China (03): human, livestock in 2021, review. [Электронный ресурс]. 04 Sep 2021. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210904.8646187 (дата обращения 19.01.2022).

23. Anthrax – Spain (02): (EX) horse, human, susp. [Электронный ресурс]. 09 Sep 2021. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210909.8657673 (дата обращения 18.01.2022).

24. Anthrax – Argentina (02): (LP) human, cattle. [Электронный ресурс]. 17 Nov 2021. URL: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20211117.8699726 (дата обращения 20.01.2022).

References

1. Cherkassky B.L., editor. [Cadastre of Stationary Potentially Hazardous as regards Anthrax Areas in the Russian Federation. Reference Book]. Moscow: “INTERSEN”; 2005. 829 p.

2. Ryzanova A.G., Ezhlova E.B., Paksina N.D., Semenova O.V., Aksanova L.Yu., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Golovinskaya T.M., Varfolomeeva N.G., Chmerenko D.K., Pechkovsky G.A., Kulichenko A.N. [Epidemiological situation on anthrax in 2018, the forecast for 2019]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (1):98–102. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-98-102.

3. Ryzanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., Chmerenko D.K., Semenova O.V., Aksanova L.Yu., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Golovinskaya T.M., Pechkovsky G.A., Kulichenko A.N. [Review of the epizootiological and epidemiological situation on anthrax around the world in 2020 and the forecast for 2021 in the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):81–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-81-86.

4. [Epizootic situation in the Russian Federation. 2021, 3-rd quarter. Official Web-Site of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance]. (Cited 18 Febr 2022). [Internet]. Available from: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2021/iac2021_3q.pdf.

5. [Anthrax. World Organization for Animal Health (OIE)]. (Cited 15 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://wahis.oie.int/#/report-info?reportId=36492>.

6. Anthrax (2 cases in humans) – Kazakhstan (Kostanay Region). 14 Nov 2021. (Cited 11 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20211114.8699605.

7. [Anthrax. World Organization for Animal Health (OIE)]. (Cited 17 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://wahis.oie.int/#/report-info?reportId=39171>.

8. Anthrax – Kazakhstan (Shymkent). 16 Nov 2021. (Cited 14 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20211116.8699702.

9. [Review of infectious and parasitic diseases for January–March 2020–2021 in the Kyrgyz Republic. Official Web-Site of the Ministry of Health of the Kyrgyz Republic]. (Cited 14 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://dgsen.kg/wp-content/uploads/2021/03/3-Mart.pdf>.

10. [Operational reports of Information and Analytical Center of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance on the epizootic situation in the Russian Federation according to the World Organization for Animal Health (OIE) and the mass media. Official Web-Site of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance]. (Cited 18 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/iac/messages/3800.html>.

11. [Anthrax. World Organization for Animal Health (OIE)]. (Cited 16 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://wahis.oie.int/#/report-info?reportId=43322>.

12. [Operational reports of Information and Analytical Center of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance on the epizootic situation in the Russian Federation according to the World Organization for Animal Health (OIE) and the mass media. Official Web-Site of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance]. (Cited 18 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/iac/messages/3731.html>.

13. Ryzanova A.G., Skudareva O.N., Gerasimenko D.K., Semenova O.V., Aksanova L.Yu., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Golovinskaya T.M., Varfolomeeva N.G., Pechkovsky G.A., Chmerenko D.K., Kulichenko A.N. [Analysis of the situation on anthrax in 2019, the forecast for 2020]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):57–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-57-61.

14. Anthrax – Ukraine: (TP) pony, OIE. 05 Oct 2021. (Cited 24 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20211005.8698872.

15. Anthrax. World Organisation for Animal Health (OIE). (Cited 14 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://wahis.oie.int/#/events?viewAll=true>.

16. Anthrax – USA (06): (TX) wildlife. 10 Sep 2021. (Cited 18 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210910.8660737.

17. Anthrax – India (05): (TN) elephant. 13 Aug 2021. (Cited 21 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210813.8593508.

18. Anthrax. World Health Organization. (Cited 18 Feb 2021). [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/351992/OEW07-0713022022.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

19. Anthrax – Kenya: (BO) human, cattle. 20 Jan 2021. (Cited 20 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210120.8120990.

20. Anthrax – Indonesia: (EJ) livestock, humans, susp. 07 Jun 2021. (Cited 17 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promed-mail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210607.8430282.

21. Anthrax – Iraq (03): (NI) human. 14 Sep 2021. (Cited 14 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210914.8668916.

22. Anthrax – China (03): human, livestock in 2021, review. 04 Sep 2021. (Cited 19 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210904.8646187.

23. Anthrax – Spain (02): (EX) horse, human, susp. 09 Sep 2021. (Cited 18 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promed-mail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20210909.8657673.

24. Anthrax – Argentina (02): (LP) human, cattle. 17 Nov 2021. (Cited 20 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-posts/>. Archive Number: 20211117.8699726.

Authors:

Ryazanova A.G., Gerasimenko D.K., Chmerenko D.K., Semenova O.V., Aksenova L.Yu., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Golovinskaya T.M., Pechkovsky G.A., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute.

13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: anthraxlab.stv@mail.ru.

Skudareva O.N. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

Logvin F.V. Rostov State Medical University. 29, Nakhichevansky Lane, Rostov-on-Don, 344022, Russian Federation. E-mail: okt@rostgmu.ru.

Об авторах:

Рязанова А.Г., Герасименко Д.К., Чмеренко Д.К., Семенова О.В., Аксенова Л.Ю., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Печковский Г.А., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: anthraxlab.stv@mail.ru.

Скударева О.Н. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский пер., 18, стр. 5 и 7.

Логвин Ф.В. Ростовский государственный медицинский университет. Российская Федерация, 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. E-mail: okt@rostgmu.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-71-76

УДК 616.98:579.842.23

Н.В. Абзаева, С.Е. Гостищева, О.Л. Старцева, Л.С. Катунина, Д.А. Ковалев, Г.Ф. Иванова,
А.В. Костроминов, А.А. Курилова

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОСНОВ НА РОСТОВЫЕ КАЧЕСТВА ЖИДКИХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВАКЦИННОГО ШТАММА ЧУМНОГО МИКРОБА

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

Цель исследования – изучить влияние экспериментальных основ на ростовые качества жидких питательных сред на этапе получения биомассы вакцинного штамма чумного микроба глубинным методом. **Материалы и методы.** В работе использовали вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ. Выращивание проводили в биореакторе объемом 5 л с автоматической регулировкой мешалки. Использовали 28 вариантов питательных сред, полученных путем комбинации пяти видов основ и шести стимуляторов роста. В качестве контрольных использовали питательные среды без добавления ростостимулирующих добавок. В полученной биомассе исследовали параметры: общее количество микробных клеток, pH, процент живых микробных клеток. **Результаты и обсуждение.** На экспериментальных питательных средах методом глубинного культивирования получены биомассы вакцинного штамма чумного микроба. После исследования бактериальных взвесей по основным показателям проведено сравнение качества полученных суспензий в зависимости от используемой питательной среды. Определены наиболее перспективные основы: панкреатический гидролизат казеина с пептоном сухим ферментативным и кислотный гидролизат кукурузной патоки, особенно в сочетании с такими стимуляторами роста, как сульфит натрия, соль Мора или молибденовокислый аммоний.

Ключевые слова: питательная среда, стимулятор роста, оптическая концентрация, жизнеспособность, глубинное культивирование.

Корреспондирующий автор: Абзаева Наталья Вячеславовна, e-mail: chumnpl@yandex.ru.

Для цитирования: Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Старцева О.Л., Катунина Л.С., Ковалев Д.А., Иванова Г.Ф., Костроминов А.В., Курилова А.А. Изучение влияния экспериментальных основ на ростовые качества жидких питательных сред для глубинного культивирования вакцинного штамма чумного микроба. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:71–76. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-71-76

Поступила 24.09.2020. Отправлена на доработку 06.11.2020. Принята к публ. 25.02.2022.

N.V. Abzaeva, S.E. Gostishcheva, O.L. Startseva, L.S. Katunina, D.A. Kovalev, G.F. Ivanova,
A.V. Kostrominov, A.A. Kurilova

Studying the Effect of Experimental Bases on the Growth Quality of Liquid Nutritional Media for Submerged Cultivation of Plague Microbe Vaccine Strain

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to investigate the effect of experimental bases on the growth qualities of liquid nutrient media at the stage of obtaining the biomass of plague microbe vaccine strain using submerged cultivation. **Materials and methods.** *Yersinia pestis* EV NIEG vaccine strain was used in the work. The cultivation was carried out in a 5 L bioreactor with automatic stirrer control. We used 28 variants of nutrient media obtained through combining five types of bases and six growth stimulants. Nutrient media without the addition of growth-stimulating additives were used as controls. The following parameters were assessed in the yield biomass: the total number of microbial cells, pH, the percentage of viable microbial cells. **Results and discussion.** On experimental nutrient media, biomasses of the plague microbe vaccine strain have been produced using submerged cultivation. After evaluating bacterial suspensions by the main indicators, the quality of the obtained suspensions has been compared depending on the nutrient medium used. The most promising bases identified are pancreatic hydrolyzate of casein with dry enzymatic peptone and acid hydrolyzate of corn syrup, especially in combination with such growth stimulants as sodium sulfite, ferrous ammonium sulfate or ammonium molybdate.

Key words: nutrient medium, growth stimulant, optical concentration, viability, submerged cultivation.

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

Corresponding author: Natal'a V. Abzaeva, e-mail: chumnpl@yandex.ru.

Citation: Abzaeva N.V., Gostishcheva S.E., Startseva O.L., Katunina L.S., Kovalev D.A., Ivanova G.F., Kostrominov A.V., Kurilova A.A. Studying the Effect of Experimental Bases on the Growth Quality of Liquid Nutritional Media for Submerged Cultivation of Plague Microbe Vaccine Strain. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:71–76. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-71-76

Received 24.09.2020. Revised 06.11.2020. Accepted 25.02.2022.

Abzaeva N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7418-9673>
Gostishcheva S.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9891-3665>
Startseva O.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5493-5296>
Katunina L.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8774-101X>

Kovalev D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>
Ivanova G.F., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6127-6738>
Kostrominov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2228-5038>
Kurilova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7105-9961>

Для производства лекарственного препарата вакцины чумной живой продуктивным и технологичным методом получения биомассы, позволяющим управлять процессом, является глубинное культивирование на жидких питательных средах [1, 2].

Технология выпускаемого в настоящее время препарата чумной вакцины состоит из четко регламентированных этапов, одним из которых является поверхностное культивирование на плотной питательной среде в ферментере (АКМ-Ш) в течение (48±2) ч. Ранее в производстве использовали также метод глубинного культивирования на бульонных питательных средах в реакторе, однако сложность обслуживания оборудования в процессе выращивания (коррекция параметров оператором вручную, постоянный отбор проб) способствовала исключению способа из биотехнологического процесса.

Использование ферментеров нового поколения позволяет стандартизировать условия промышленного культивирования в бульоне, возможность автоматической коррекции параметров процесса обеспечивает высокую производительность наряду с возможностью управления кинетикой роста популяции [2–4]. Культивирование биомассы глубинным способом в ферментере проводится с аэрированием бульона, постоянным его барботированием и периодическим введением раствора глюкозы в качестве подкормки. Важным фактором улучшения производительности процесса является питательная среда для культивирования, которая обеспечивает микроорганизмы необходимыми для роста и размножения белками, макро- и микроэлементами [5–7].

В настоящее время среды из ферментативно-гидролизата Хоттингера используются в производстве вакцины для получения генераций чумного микроба, накопления биомассы и выпускающего контроля [8, 9]. Однако среда на основе мяса, даже при полном соответствии ее качественных параметров существующим нормам, не всегда обеспечивает достаточное количество получаемой биомассы. Поэтому исследования в области подбора, изготовления и применения новых питательных сред, позволяющих увеличить конечный выход продукта, всегда актуальны.

Известно, что чумной микроб не предъявляет строгих требований ни к условиям культивирования, ни к питательным средам, но активно реагирует на наличие в среде стимуляторов роста. При этом влияние того или иного стимулятора или группы стимуляторов на рост чумного микроба зависит от природы белковой основы питательной среды [10].

В качестве основ питательных сред для выращивания чумного микроба предлагались гидролизаты различных субстратов: казеина, сои, кукурузы, рыбы, дрожжей и прочих – как животного, так и рас-

тительного происхождения [11–14]. Литературные данные о стимуляторах роста микроорганизмов также многочисленны [15–22]. Модифицированные питательные среды с использованием нетрадиционных основ в совокупности со стимулирующими компонентами могут способствовать наращиванию достаточных объемов бактериальной массы с сохранением культуральных и биохимических свойств микроорганизма. Подбор эффективных питательных сред является подготовительным этапом планируемого возвращения в производство чумной вакцины глубинного аппаратного культивирования и может выполняться до начала мероприятий по переносу стадии разработки в промышленное производство.

Для отработки биотехнологии производства вакцины чумной живой с использованием глубинного культивирования необходимо изучение ростовых качеств жидких питательных сред с ростостимулирующими добавками, способствующих получению бактериальной массы, не уступающей по качеству полученной на плотных средах в АКМ-Ш.

Цель исследования – изучить влияние экспериментальных основ на ростовые качества жидких питательных сред на этапе получения биомассы вакцинного штамма чумного микроба глубинным методом.

Материалы и методы

В работе использовали вакцинный штамм *Yersinia pestis* EV линии НИИЭГ из коллекции патогенных микроорганизмов ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (депонирован в ГКПМ III–IV групп патогенности ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России под № 910301).

В опыте использовали 28 вариантов питательных сред, полученных путем комбинации пяти видов основ и шести стимуляторов роста. Перед использованием все питательные среды контролировали по физико-химическим и биологическим показателям в соответствии с МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза». Приготовление и контроль сред проводили в лаборатории питательных сред Ставропольского противочумного института.

В качестве контрольных использовали питательные среды без добавления ростостимулирующих добавок (только основы со стабилизирующими компонентами).

Выращивание проводили в биореакторе BIOSTAT A (SARTORIUS, Германия) объемом 5 л с автоматической регулировкой мешалки. Для засева использовали посевную культуру, изготовлен-

ную путем последовательных пересевов на этапах I, II и III генерации вакцинного штамма согласно Промышленному регламенту на производство вакцины чумной живой ПР 01897080-09-16, при этом посевная доза составляла не менее 20 млн м.к. на 1 мл питательной среды. Культивировали 16–18 ч при $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$, непрерывной аэрации, подкормке 40 % раствором глюкозы. Величину pH поддерживали на уровне 7,0–7,4. Через 10 ч выращивания и в последующем каждые 2 ч отбирали пробы для определения количества микробных клеток. При наступлении стационарной фазы (прекращение нарастания оптической концентрации микробной взвеси и сохранение pH на одном уровне) процесс культивирования останавливали.

Каждый вариант опыта проводили в трехкратном повторе.

В полученной биомассе определяли количество микробных клеток по отраслевому стандартному образцу мутности 10 единиц соответствующего года выпуска (регламентируемый показатель – не менее 50 млрд/мл), pH (регламентируемый показатель – от 6,8 до 7,8), процент живых микробных клеток (регламентируемый показатель – не менее 25,0 %).

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

Результаты и обсуждение

Использование компонентов питательных сред в различных вариантах позволило провести оценку их сочетанного влияния на качественные характеристики полученных биомасс. В качестве основы использовали один из следующих компонентов: ферментативный гидролизат говяжьего мяса (ФГГМ или Хоттингера); панкреатический гидролизат казеина с пептоном сухим ферментативным; казеиново-пептонный гидролизат с добавлением сои; питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой на основе гидролизата говяжьего мяса (ГМФ); кислотный гидролизат кукурузной патоки.

Для приготовления питательных сред в бульон на основе гидролизата (одного из перечисленных) добавляли один из стимуляторов роста: натрий сернистокислый (сульфит натрия); аммоний молибденовокислый; соль Мора; стимулятор роста гемофильных микроорганизмов (СГМ); ТВИН-20; ТВИН-80 в следующих количествах:

- натрий сернистокислый из расчета 350 мг/л;
- аммоний молибденовокислый из расчета 50 мг/л;
- соль Мора из расчета 10 мг/л;
- стимулятор роста гемофильных микроорганизмов из расчета 5 г/л;
- ТВИН-20 из расчета 0,45 мл/л;
- ТВИН-80 из расчета 0,45 мл/л.

Таким образом, в каждой экспериментальной питательной среде изучалось сочетанное влияние комбинации используемой основы с одним из предлагаемых стимуляторов.

По окончании культивирования из каждой полученной биомассы отбирались пробы для дальнейшего исследования. После проведения контроля по показателям общей и биологической (количество живых микробных клеток) концентрации и сравнения полученных данных определено, что количество микробных клеток существенно различается при различных сочетаниях основ и ростостимулирующих добавок.

В испытанных средах наиболее перспективной основой оказался бульон на основе панкреатического гидролизата казеина с пептоном сухим ферментативным. В сочетании с различными стимуляторами роста, такими как сульфит натрия, соль Мора или молибденовокислый аммоний, прирост биомассы составлял 12,7; 12,3 и 13,0 млрд м.к./мл соответственно, при этом процент жизнеспособных клеток в полученной суспензии находился в интервале 30,0–33,3 % (таблица).

Дальнейший анализ полученных данных показал, что среды на основе кукурузного гидролизата также обеспечивают достаточный выход биомассы, особенно в сочетании с солью Мора – 10,3 млрд м.к./мл и 38,2 % живых м.к.

Среды на основе казеиново-пептонного гидролизата с добавлением сои срабатывали только с добавлением аммония молибденовокислого или соли Мора, в остальных случаях полученная бактериальная масса имела концентрацию менее 9 млрд м.к./мл с достаточно низкой жизнеспособностью.

Биомасса, полученная на бульоне Хоттингера (ФГГМ) и ГМФ-бульоне, также не отличалась большим содержанием микробных клеток, при этом во втором случае обладала еще и очень низкими показателями жизнеспособности (8,3–12,6 %).

Что касается ростостимулирующих добавок, то, несмотря на разнообразие комбинаций «основа×добавка», выявляются некоторые закономерности.

Так, ТВИН-20, как и ТВИН-80, несмотря на возможность применения их в качестве компонента обогащения питательных сред, не обеспечили достаточного прироста биомассы.

Соль аммония, как и соль Мора, почти во всех вариантах позволяли получить биомассу хорошего качества с показателями выше, чем при применении остальных стимуляторов, исключением стала комбинация с ГМФ-бульоном. При этом в динамике роста стационарная фаза наступала на 2 ч раньше, чем при применении остальных стимуляторов.

Использование сульфита натрия, применяемого в данное время в биотехнологии производства чумной вакцины в качестве регламентированного стимулятора роста, в очередной раз позволило подтвердить его действенность. Показатели биомасс, полученных

Влияние стимуляторов роста на основные показатели качества биомассы вакцинного штамма чумного микроба
Effect of growth stimulators on biomass quality indicators of plague microbe vaccine strain

Основа / Medium	Стимулятор / Stimulator	Общее кол-во м.к., млрд/мл Total content of microbe cells, billion/ml	pH	Жизнеспособность, % Viability, %
ФГТМ / Beef enzymatic hydrolysate	Сульфит натрия / Sodium sulfite	6,0±0,1	6,7±0,1	28,9±2,2
	Аммоний молибденовокислый / Ammonium molybdate	7,0±0,3	6,6±0,1	39,6±3,1
	СГМ / Hemophilic microorganism growth stimulant	3,3±0,1	6,3±0,1	19,4±0,9
	Соль Мора / Ferrous ammonium sulfate	8,0±0,3	6,5±0,1	32,2±1,7
	Контроль / Control	5,0±0,1	6,5±0,1	20,5±2,9
Казеин+пептон / Casein+peptone	Сульфит натрия / Sodium sulfite	12,7±1,0	6,8±0,1	30,0±3,5
	Аммоний молибденовокислый / Ammonium molybdenum acid	13,0±0,8	6,6±0,1	33,3±4,0
	Соль Мора / Ferrous ammonium sulfate	12,3±1,0	6,6±0,1	32,1±2,5
	Твин-20 / Tween 20	6,6±0,1	6,6±0,1	9,8±1,1
	Твин-80 / Tween 80	9,0±0,1	6,4±0,1	12,8±0,9
	СГМ / Hemophilic microorganism growth stimulant	8,3±0,5	6,8±0,1	18,0±3,3
	Контроль / Control	8,2±5,0	6,5±0,1	22,4±2,5
Казеин+пептон+соя / Casein+peptone+soy	Сульфит натрия / Sodium sulfite	5,6±0,3	7,3±0,1	28,1±2,0
	Аммоний молибденовокислый / Ammonium molybdate	10,3±0,8	7,1±0,1	28,1±0,6
	Соль Мора / Ferrous ammonium sulfate	9,7±1,1	7,1±0,1	35,7±1,8
	Твин-20 / Tween 20	5,3±0,9	7,2±0,1	18,4±1,6
	Твин-80 / Tween 80	6,0±0,1	7,2±0,1	20,1±2,3
	СГМ / Hemophilic microorganism growth stimulant	5,0±0,2	7,2±0,1	7,3±0,2
	Контроль / Control	8,7±0,2	7,2±0,1	33,3±0,9
ГМФ / Beef hydrolysate	Сульфит натрия / Sodium sulfite	7,3±0,2	5,1±0,1	8,5±1,1
	Аммоний молибденовокислый / Ammonium molybdenum acid	6,0±2,0	5,1±0,1	11,6±0,7
	Твин-20 / Tween 20	7,0±0,5	5,1±0,1	11,5±0,1
	Твин-80 / Tween 80	7,0±1,0	5,1±0,1	12,6±1,4
	СГМ / Hemophilic microorganism growth stimulant	5,2±0,8	5,4±0,1	10,0±1,3
	Соль Мора / Ferrous ammonium sulfate	8,5±0,4	5,1±0,1	8,3±1,6
	Контроль (без стимуляторов) / Control (without stimulants)	7,0±0,9	5,1±0,1	8,5±0,8
Кукурузный гидролизат / Corn hydrolysate	Сульфит натрия / Sodium sulfite	8,7±0,1	6,8±0,1	37,1±2,2
	Аммоний молибденовокислый / Ammonium molybdate	9,9±0,2	6,7±0,1	38,7±1,2
	Соль Мора / Ferrous ammonium sulfate	10,3±0,5	6,7±0,1	38,2±0,9
	Твин-20 / Tween 20	4,0±0,1	6,7±0,1	6,5±0,1
	Твин-80 / Tween 80	5,0±0,1	6,7±0,1	6,0±0,5
	СГМ / Hemophilic microorganism growth stimulant	5,5±1,3	6,7±0,1	8,4±0,2
	Контроль / Control	7,0±0,1	6,7±0,1	26,5±0,9

с применением данного стимулятора, находились на среднем уровне как по общей, так и по биологической концентрации.

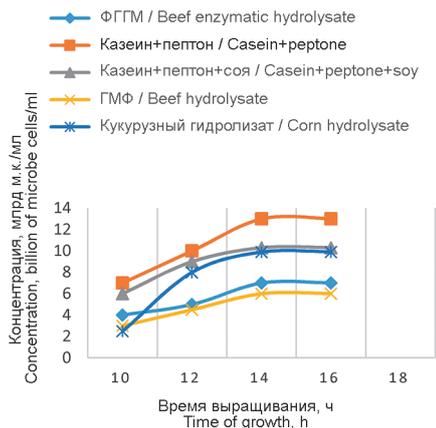
Биомасса, полученная с использованием стимулятора роста гемофильных микроорганизмов (СГМ), отличалась слишком низкой для дальнейшего использования жизнеспособностью, и лишь в одном опыте ее выход составил 8,3 млрд м.к./мл (рисунок).

Таким образом, сочетание ростостимуляторов с различными питательными основами позволяет подбирать оптимальные комбинации основных ком-

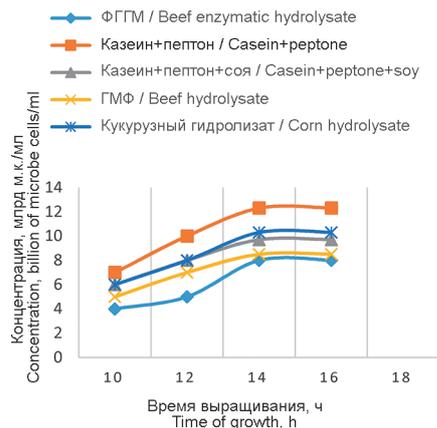
понентов, что расширяет область выбора при обработке биотехнологии глубинного культивирования вакцинного штамма чумного микроба.

Проведенные исследования показали, что применение ростостимулирующих добавок позволяет влиять на качество получаемой биомассы, а питательные среды на основе казеина или кукурузного гидролизата в сочетании со стимуляторами являются альтернативой традиционному бульону Хоттингера. Изучение параметров бульонной культуры, полученной на различных питательных средах, позволит

**Аммоний молибденовокислый
Ammonium molybdate**



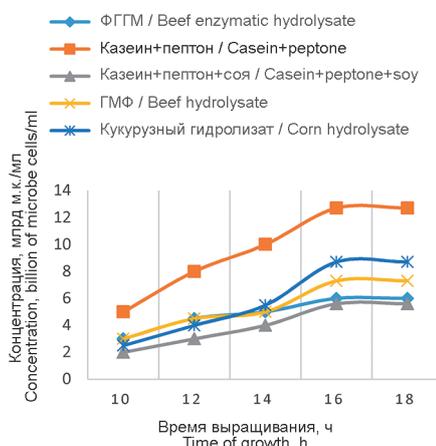
**Соль Мора
Ferrous ammonium sulfate**



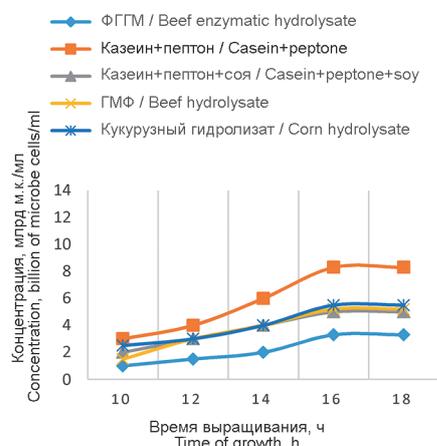
Динамика накопления микробных клеток штамма *Yersinia pestis* EV при глубинном выращивании в зависимости от применяемых стимуляторов роста

Dynamics of accumulation of *Yersinia pestis* EV microbial cells during submerged cultivation depending upon the used growth stimulants

**Сульфит натрия
Sodium sulfite**



**СГМ
Hemophilic microorganism growth stimulant**



внедрить в производство глубинный метод культивирования как альтернативный способ получения препарата чумной вакцины.

Дальнейшие исследования будут направлены на всестороннее изучение экспериментальных серий вакцины, полученной на апробированных жидких питательных средах методом глубинного культивирования.

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

Список литературы

1. Еремин С.А., Волох О.А., Шепелев И.А., Дальвадянц С.М., Дятлов И.А. Разработка новых технологических схем и масштабирование процессов получения антигенов чумного и туляремийного микробов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2006; 92:58–61.
2. Шаров Д.А., Лещенко А.А., Багин С.В., Мохов Д.А., Логвинов С.В., Крупин В.В., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Бирюков В.В. Оптимизация процесса концентрирования микробных клеток в технологии чумных вакцин. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019; 19(1):50–5. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-1-50-55.
3. Зайцев В.В., Дремач Г.Э., Зайцева А.В., Сафроненко Л.В., Тункель В.С. Экспериментальные данные по культивированию некоторых бактерий в газожидкостном биореакторе «Биок». *Коммерческая биотехнология*. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.cbio.ru/page/43/id/3500/>.
4. Шаров Д.А., Лещенко А.А., Багин С.В., Логвинов С.В., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Мохов Д.А., Крупин В.В., Зиганшин А.Р.

5. Каминский Д.И., Лобанов В.В., Рожков К.К., Мазрухо А.Б. Совершенствование питательных сред для выращивания некоторых возбудителей опасных инфекционных заболеваний. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2017; 2:104–10. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-104-110.
6. Поляк М.С., Сухаревич В.И., Сухаревич М.Э. Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2008. С. 37–8.
7. Дзержинская И.С. Питательные среды для выделения и культивирования микроорганизмов: учебное пособие. Астрахань: Изд-во АГТУ; 2008. 236 с.
8. Шепелин А.П., Миронов А.Ю., Шепелин К.А. Питательные среды. Справочник бактериолога. М.: Эпидбиомед-диагностика; 2015. 194 с.
9. Ахапкина И.Г., Блинкова Л.П. Питательные среды как искусственная среда роста и развития микроорганизмов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2001; 6:99–104.
10. Домотенко Л.В., Подкопаев Я.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Питательные среды для диагностики чумы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 4:60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-60-65.
11. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Ломов Ю.М., Телесманич Н.Р., Рожков К.К., Кругликов В.Д. Сравнительная оценка белковых гидролизатов при создании на их основе универсальной питательной среды для диагностики чумы и холеры. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2011; 6:46–8.
12. Трошкова Г.П., Мазуркова Н.А., Сумкина Т.П., Мартынец Л.Д., Шишкина Л.Н., Карабинцева Н.О. Технология получения гидролизата сои с использованием протеолитического фермента бромелайна и оценка ростовых свойств питательной среды на его основе для перевиваемых культур клеток. *Современные наукоемкие технологии*. 2010; 1:45–7.
13. Van Eys J.E. Manual of quality analyses for soybean products in the feed industry. 2nd ed. Chesterfield: USSEC; 2012. 104 p.

14. Гостищева С.Е., Катунина Л.С., Курилова А.А., Абзаева Н.В., Ковтун Ю.С., Жаринова Н.В., Коняева О.А., Жилченко Е.Б., Куличенко А.Н. Применение плотной питательной среды на основе гидролизата кукурузного экстракта сгущенного в производстве вакцины чумной живой и для хранения штаммов чумного микроба. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1:75–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-75-78.
15. Сизоненко М.Н., Тимченко Л.Д., Ржепаковский И.В. Влияние нового стимулятора роста микроорганизмов «СРМП» на биологические свойства *Listeria monocytogenes* вакцинный штамм «АУФ». *Аллергология и иммунология*. 2013; 14(3):198.
16. Pallah O.V., Meleshko T.V., Bati V.V., Boyko N.V. Extracts of edible plants stimulators for beneficial microorganisms. *Biotechnologia Acta*. 2019; 12(3):67–74. DOI: 10.15407/biotech12.03.067.
17. Анганова Е.В., Мирскова А.Н., Савченков М.Ф., Духанина А.В., Адамович С.Н., Мирсков Р.Г., Крюкова Н.Ф. Использование биологически активных соединений в качестве стимуляторов роста стафилококков. *Сибирский медицинский журнал*. 2014; 125(2):75–9.
18. Адамович С.Н., Федосеев А.П., Киборт Р.В., Мирсков Р.Г., Мирскова А.Н. Перспективные стимуляторы повышения выхода бактериальной массы *Staphylococcus aureus* (для получения протеина А). *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2012; 5-1:173–6.
19. Ломова Н.Н., Снежка О.О., Наризный С.А. Биомасса *Streptococcus thermophilus* и *Bifidobacterium longum* в молочной среде с пчелиной обножкой. *Biotechnologia Acta*. 2015; 8(1):71–5. DOI: 10.15407/biotech8.01.071.
20. Лукьянова С.В., Gefan N.G., Адамович С.Н., Оборина Е.Н., Хаптанова Н.М., Кузнецов В.И., Остяк А.С., Косилко В.С., Балахонов С.В. Изучение действия биологически активного соединения трис(2-гидроксиэтил)аммоний 4-хлорфенилсульфанилацетата на рост бактерий *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus*. *Acta Biomedica Scientifica*. 2020; 5(1):47–53. DOI: 10.29413/ABS.2020-5.1.6.
21. Чичерина В.Р., Сапрыкина Е.Ю. Влияние тяжелых металлов на рост бактерий рода *Bacillus*. *Шаг в науку*. 2016; 1:119–25.
22. Мирскова А.Н., Адамович С.Н., Виноградов Е.Я., Мирсков Р.Г. Стимуляторы роста менингококка для диагностики менингита на основе солей 2-гидроксиалкиламинов. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. 2012; 5-1:276–80.
- References**
1. Eremin S.A., Volokh O.A., Shepelev I.A., Dalvadyants S.M., Dyatlov I.A. [Development of new technological schemes and scaling up the processes for obtaining antigens of plague and tularemia microbes]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2006; (92):58–61.
2. Sharov D.A., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Mokhov D.A., Logvinov S.V., Krupin V.V., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Biryukov V.V. [Optimization of concentrating microbial cells in the technology of plague vaccines]. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie [BioPreparations, Prevention, Diagnosis, treatment]*. 2019; 19(1):50–5. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-1-50-55.
3. Zaitsev V.V., Dremach G.E., Zaitseva A.V., Safronenko L.V., Tunkel' V.S. [Experimental data on the cultivation of some bacteria in the gas-vortex bioreactor "Biok"]. *Kommercheskaya Biotehnologiya [Commercial Biotechnology]*. [Internet]. Available from: <http://www.cbio.ru/page/43/id/3500/>.
4. Sharov D.A., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Logvinov S.V., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Mokhov D.A., Krupin V.V., Ziganshin A.R. [Improving the technology of production of live plague vaccine]. *Vestnik Vöisk RKhB Zashchity [Bulletin of the RCB Protection Troops]*. 2017; 1(3):30–7.
5. Kaminsky D.I., Lobanov V.V., Rozhkov K.K., Mazrukho A.B. [Improvement of nutrient media for growing some pathogens of dangerous infectious diseases]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2017; (2):104–10. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-104-110.
6. Polyak M.S., Sukharevich V.I., Sukharevich M.E. [Nutrient Media for Medical and Sanitary Microbiology]. St. Petersburg; 2008. P. 37–8.
7. Dzerzhinskaya I.S. [Nutrient Media for Isolation and Cultivation of Microorganisms: a Tutorial]. Astrakhan: Astrakhan State Technical University; 2008. 236 p.
8. Shepelin A.P., Mironov A.Yu., Shepelin K.A. [Nutrient Media. Reference Book of the Bacteriologist]. Moscow: Epidbiomeddiagnostics; 2015. 194 p.
9. Akhapkina I.G., Blinkova L.P. [Nutrient media as an artificial environment for the growth and development of microorganisms]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2001; (6):99–104.
10. Domotenko L.V., Podkopaev Ya.V., Khramov M.V., Dyatlov I.A. [Nutrient media for plague diagnostics]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; (4):60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-4(102)-60-65.
11. Mazrukho A.B., Kaminsky D.I., Lomov Yu.M., Telesmanich N.R., Rozhkov K.K., Kruglikov V.D. [Comparative assessment of protein hydrolysates while creating a universal nutrient medium on their basis for the diagnosis of plague and cholera]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2011; (6):46–8.
12. Troshkova G.P., Mazurkova N.A., Sumkina T.P., Martynets L.D., Shishkina L.N., Karabintseva N.O. [Technology for the production of soy hydrolyzate using the proteolytic enzyme bromelain and evaluation of the growth properties of the nutrient medium based on it for continuous cell cultures]. *Sovremennyye Naukoemkie Tekhnologii [Modern High Technology]*. 2010; (1):45–7.
13. Van Eys J.E. Manual of quality analyses for soybean products in the feed industry. 2nd ed. Chesterfield: USSEC; 2012. 104 p.
14. Gostishcheva S.E., Katunina L.S., Kurilova A.A., Abzaeva N.V., Kovtun Yu.S., Zharinova N.V., Konyayeva O.A., Zhilchenko E.B., Kulichenko A.N. [Usage of solid medium on the basis of corn-steep extract hydrolysate in manufacturing of live plague vaccine and for plague agent strain preservation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (1):75–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-75-78.
15. Sizonenko M.N., Timchenko L.D., Rzhepakovsky I.V. [Effect of the new microorganism growth stimulant "MGSP" on the biological properties of *Listeria monocytogenes* vaccine strain "AUF"]. *Allergologiya i Immunologiya [Allergology and Immunology]*. 2013; 14(3):198.
16. Pallah O.V., Meleshko T.V., Bati V.V., Boyko N.V. Extracts of edible plants stimulators for beneficial microorganisms. *Biotechnologia Acta*. 2019; 12(3):67–74. DOI: 10.15407/biotech12.03.067.
17. Anganova E.V., Mirskova A.N., Savchenkov M.F., Dukhanina A.V., Adamovich S.N., Mirskov R.G., Kryukova N.F. [The use of biologically active compounds as staphylococci growth stimulants]. *Sibirskiy Meditsinskiy Zhurnal [Siberian Medical Journal]*. 2014; 125(2):75–9.
18. Adamovich S.N., Fedoseev A.P., Kibort R.V., Mirskov R.G., Mirskova A.N. [Promising stimulants for increasing the yield of *Staphylococcus aureus* bacterial mass (for obtaining protein A)]. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012; (5-1):173–6.
19. Lomova N.N., Snezhko O.O., Narizhny S.A. [The biomass of *Streptococcus thermophilus* and *Bifidobacterium longum* in dairy medium with bee pollen]. *Biotechnologia Acta*. 2015; 8(1):71–5. DOI: 10.15407/biotech8.01.071.
20. Luk'yanova S.V., Gefan N.G., Adamovich S.N., Obrina E.N., Khaptanova N.M., Kuznetsov V.I., Ostyak A.S., Kosilko V.S., Balakhonov S.V. [Study of the effect of a biologically active compound tris(2-hydroxyethyl)ammonium 4-chlorophenylsulfanylacetate on the growth of *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*]. *Acta Biomedica Scientifica*. 2020; 5(1):47–53. (In Russ.) DOI: 10.29413/ABS.2020-5.1.6.
21. Chicherina V.R., Saprykina E.Yu. [Effect of heavy metals on the growth of bacteria of the genus *Bacillus*]. *Shag v Nauku. [Step into Science]*. 2016; (1):119–25.
22. Mirskova A.N., Adamovich S.N., Vиноградов E.Ya., Mirskov R.G. [Meningococcus growth stimulants based on salts of 2-hydroxyalkylamines for the diagnosis of meningitis]. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2012; (5-1):276–80.
- Authors:**
Abzaeva N.V., Gostishcheva S.E., Startseva O.L., Katunina L.S., Kovalev D.A., Ivanova G.F., Kostrominov A.V., Kurilova A.A. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.
- Об авторах:**
Абзаева Н.В., Гостищева С.Е., Старцева О.Л., Катунина Л.С., Ковалев Д.А., Иванова Г.Ф., Костромин А.В., Курилова А.А. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-77-85

УДК 616.932

В.В. Евдокимова, Л.П. Алексеева, О.А. Якушева, Д.А. Левченко, В.Д. Кругликов, В.П. Зюзина,
М.Э. Яговкин**ИЗУЧЕНИЕ С ПОМОЩЬЮ ПАНЕЛИ МКА ПОВЕРХНОСТНЫХ АНТИГЕННЫХ ДЕТЕРМИНАНТ АТИПИЧНЫХ ПО АГГЛЮТИНАБЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ***

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Цель работы – изучение поверхностных антигенных детерминант атипичных по признаку агглютинабельности штаммов *Vibrio cholerae* R-варианта с помощью иммуноферментного анализа и панели моноклональных антител (МКА). **Материалы и методы.** Исследовано 60 штаммов *V. cholerae* R-варианта, выделенных из объектов окружающей среды на территориях бывшего СССР и субъектов Российской Федерации за 30-летний период (1988–2019 гг.), в реакции слайд-агглютинации с холерными диагностическими сыворотками, иммуноферментном анализе с использованием панели МКА к мембранным белкам и набора реагентов «Иммуноглобулины моноклональные диагностические, меченные пероксидазой хрена, сухие для серологической идентификации *V. cholerae* O1 и O139 (*in vitro*) методом ИФА и дот-ИФА». **Результаты и обсуждение.** Проведен анализ поверхностных структур атипичных по агглютинабельности штаммов *V. cholerae* R-варианта иммуноферментным методом, который показал, что среди исследуемых штаммов, идентифицированных при выделении как *V. cholerae* R-варианта, регистрируются отдельные штаммы с различным количеством О-антигена (диапазон оптической плотности от $0,261 \pm 0,002$ до $1,312 \pm 0,003$). Эпитопы специфического О-антигена обнаружены у части «консервативных» штаммов (30 %), агглютинирующихся только сывороткой RO, и у нескольких штаммов (20 %), которые не имеют гена *wbeT*, детерминирующего его синтез, и потерявших агглютинабельность со всеми диагностическими холерными сыворотками, в том числе и RO. Эпитопы белковой природы, узнаваемые комплементарными МКА, с различной частотой представлены в составе поверхностных антигенов R-вибрионов; снижение их представленности или отсутствие на поверхности клетки коррелирует с модификацией или утратой R-ЛПС и сопровождается отрицательной реакцией агглютинации.

Ключевые слова: холерный вибрион, R-вариант, агглютинабельность, моноклональное антитело, эпитоп, О-антиген, мембранный белок OmpT, OmpU, иммуноферментный анализ.

Корреспондирующий автор: Евдокимова Вероника Вячеславовна, e-mail: nika_evd@mail.ru.

Для цитирования: Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Якушева О.А., Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Зюзина В.П., Яговкин М.Э. Изучение с помощью панели МКА поверхностных антигенных детерминант атипичных по агглютинабельности штаммов *Vibrio cholerae*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 1:77–85. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-77-85

Поступила 30.09.2021. Принята к публ. 12.10.2021.

V.V. Evdokimova, L.P. Alekseeva, O.A. Yakusheva, D.A. Levchenko, V.D. Kruglikov, V.P. Zyuzina,
M.E. Yagovkin**Study of the Surface Antigenic Determinants of *Vibrio cholerae* Strains with Atypical Agglutinability Using the Panel of Monoclonal Antibodies**

Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to study surface antigenic determinants of *V. cholerae* R-variant strains using enzyme immunoassay and a panel of monoclonal antibodies (MAbs). **Materials and methods.** 60 strains of *V. cholerae* R-variant isolated from ambient environment objects in the territories of the former USSR and the constituent entities of the Russian Federation over a 30-year period (1988–2019) were investigated in the slide agglutination reaction with cholera diagnostic sera, enzyme immunoassay (ELISA) using the panel of MAbs specific to membrane proteins and a set of reagents “Monoclonal diagnostic immunoglobulins labeled with horseradish peroxidase, dry, for serological identification of *V. cholerae* O1 and O139 (*in vitro*) through ELISA and dot-ELISA”. **Results and discussion.** The analysis of the surface structures of *V. cholerae* R-variant strains with atypical agglutinability has been carried out applying enzyme immunoassay. It showed that individual strains with different amounts of O-antigen are registered among the studied strains identified at isolation as *V. cholerae* R-variant (the optical density range is from 0.261 ± 0.002 to 1.312 ± 0.003). Epitopes of specific O-antigen were found in some “conservative” strains (30 %) that are agglutinated only with RO serum, and in several strains (20 %) that do not have the *wbeT* gene that determines its synthesis, and lost agglutinability with all diagnostic cholera sera, including RO. The protein epitopes recognized by complementary MAbs are represented with varying frequency in the composition of surface antigens of R-vibrios; a decrease in their representation or absence on the cell surface correlates with the modification or loss of R-LPS and is accompanied by a negative agglutination reaction.

Key words: *Vibrio cholerae*, R-variant, agglutinability, monoclonal antibody, epitope, O-antigen, outer membrane protein OmpT, OmpU, enzyme-linked immunosorbent assay.

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

Corresponding author: Veronika V. Evdokimova, e-mail: nika_evd@mail.ru.

Citation: Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Zyuzina V.P., Yagovkin M.E. Study of the Surface Antigenic Determinants of *Vibrio cholerae* Strains with Atypical Agglutinability Using the Panel of Monoclonal Antibodies. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*, 2022; 1:77–85. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-77-85
Received 30.09.2021. Accepted 12.10.2021.

Evdokimova V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5522-9097>
Alekseeva L.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9866-3579>
Yakusheva O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8159-7547>
Levchenko D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4676-0377>

Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>
Zyuzina V.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3100-0049>
Yagovkin M.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8414-4965>

На сегодняшний день практические лаборатории имеют в своем распоряжении необходимый набор диагностических препаратов для идентификации возбудителя холеры. При этом расширение номенклатуры, совершенствование, улучшение качества, стандартизация диагностикумов по-прежнему остаются актуальной задачей. Существенную роль в разработке новых диагностических средств играет идентификация антигенов или их фрагментов, специфичных исключительно для *Vibrio cholerae*. Гибридная технология позволяет получать панели высокоаффинных моноклональных антител (МКА) к отдельным эпитопам (в отличие от поликлональных сывороток) диагностически значимых антигенов холерных вибрионов. В настоящее время в Росздравнадзоре зарегистрированы следующие диагностические тест-системы на основе МКА для экспресс-диагностики холеры: «Тест-полоска *V. cholerae* O1» (ГНЦ ПМБ, г. Оболенск) [1], «Иммуноглобулины моноклональные диагностические флуоресцирующие сухие для серологической идентификации *Vibrio cholerae* O1 и O139 (*in vitro*) методом РИФ «ИГ – *V. cholerae* O1/O139 – РИФ» (Ростовский-на-Дону противочумный институт) [2], «Иммуноглобулины моноклональные диагностические сухие для серологической идентификации *V. cholerae* O1 и O139 (*in vitro*) методом РА «ИГ – *V. cholerae* O1/O139 – РА» (Ростовский-на-Дону противочумный институт) [3], «Тест-полоска *V. cholerae tox+*» (ГНЦ ПМБ, г. Оболенск) [4], «Тест-система иммуноферментная для определения продукции холерного токсина штаммами *V. cholerae* (ИФАХолХТ-М)» (РосНИПЧИ «Микроб», Саратов) [5], которые могут быть использованы в практическом здравоохранении.

Несмотря на то, что различные варианты иммуноферментного метода не включены в схему лабораторной диагностики холеры, применение моноклональных пероксидазных конъюгатов в иммуноферментном анализе (ИФА) и дот-ИФА представляется перспективным в ходе мониторинга воды поверхностных водоемов для обнаружения представителей *V. cholerae* O1, O139, количественной оценки специфического O-антигена, серологической характеристики типичных и атипичных штаммов, поскольку из объектов окружающей среды наряду с типичными могут выделяться штаммы холерных вибрионов, атипичные по серологическим свойствам, в том числе со сниженной агглютинабельностью холерными диагностическими сыворотками [6–10]. Так, например, в 2006 г. выделение атипичных по антигенному составу штаммов отмечалось на территории десяти административных районов Российской

Федерации. Среди выделенных культур 28,6 % составляли культуры со сниженной агглютинабельностью, неопределяемым сероваром и RO-вариантами. А.А. Мошкина [11] при изучении свойств забайкальских штаммов холерных вибрионов O1 отмечает атипичные штаммы с неустойчивыми свойствами: при первичной изоляции культуры обладают агглютинабельностью до титра диагностической холерной сывороткой O1, а при последующих пересевах титр агглютинации резко снижается вплоть до отсутствия агглютинации, вследствие чего установлена серологическая принадлежность к холерным вибрионам nonO1/nonO139 серогруппы. Кроме того, может наблюдаться диссоциация культур и появление R-колоний. Атипичные по серологическим признакам культуры холерных вибрионов изучались с помощью моноклональных антител в различных серологических методах: МКА, направленные к эпитопам O-боковой цепи, узнавали сходные детерминанты у типичных и тех атипичных вибрионов, которые агглютинировались до 1/4 титра O-сывороткой и в низких титрах – RO-сывороткой [12].

В случае пребывания холерного вибриона в неблагоприятных условиях окружающей среды изменению подвергаются прежде всего боковые полисахаридные цепи липополисахарида (ЛПС), отвечающие за серологическую специфичность холерных вибрионов. В процессе перехода штаммов Oгава в Инаба боковые цепи частично или полностью редуцируются, в итоге наблюдается снижение или утрата агглютинабельности, либо ее наличие только с сывороткой Инаба/Инаба и RO, или переход в R-варианты. У холерных вибрионов S→R мутации сопровождаются утратой квиновозамина и перозамина (сахаров, характерных для S-форм холерного вибриона) и потерей O-специфичности [13]. При изучении серологической дивергенции возбудителя холеры с помощью панели моноклональных антител, специфичных к детерминантам наружной клеточной стенки *V. cholerae* O1, обнаружены различия между представителями сероваров Инаба и Oгава в отношении антигенов белковой природы, хотя ранее предполагалось, что сероконверсия холерного вибриона O1 серогруппы из Oгава в Инаба обусловлена главным образом модификацией ЛПС [14]. В лаборатории гибридом Ростовского-на-Дону противочумного института получена и охарактеризована панель МКА, направленных к детерминантам полисахаридной и белковой природы *V. cholerae* O1, O139. На базе лаборатории сконструированы на основе МКА пероксидазные конъюгаты, используемые в реакциях ИФА и дот-ИФА.

Целью исследования явилось изучение поверхностных антигенных детерминант атипичных по признаку агглютинабельности штаммов *V. cholerae* R-варианта с помощью иммуноферментного анализа и панели МКА.

Материалы и методы

Штаммы микроорганизмов. В работе использовали 60 штаммов *V. cholerae* R-варианта, полученных из коллекции Музея живых культур института. Взвеси холерных вибрионов готовили в 0,9 % растворе хлорида натрия (рН 7,2±0,1) по стандартным образцам мутности ГИСК им. Л.А. Тарасевича (в настоящее время – ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России) 10 единиц (ОСО 42-28-85П) соответствующего года выпуска, эквивалентных концентрации $1 \cdot 10^9$ м.к./мл. Взвеси культур инактивировали на водяной бане в течение 30 минут.

Реакция агглютинации. Серологическую идентификацию холерных вибрионов проводили в реакции агглютинации (РА) с серогрупповой (O1), серовароспецифическими (Огава и Инаба) и RO диагностическими холерными сыворотками [МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры»].

Подъем гибридом из жидкого азота. При размораживании клеток гибридом криопробирку помещали на 1–2 минуты на водяную баню при 37 °С, добавляли 10-кратный объем теплой культуральной среды, аккуратно перемешивали и центрифугировали 10 минут при 1000 об/мин. Супернатант удаляли, осадок ресуспендировали в культуральной среде RPMI-1640 («БиолоТ», Россия), содержащей 15 % сыворотки плода коровы (HyClone, США), определяли жизнеспособность, концентрацию клеток в тесте с трипановым синим и вносили их в лунки культуральных панелей с заранее подготовленным фидерным слоем [15].

Культивирование гибридом *in vitro*. Культивирование гибридом проводили с использованием стерильных сред и стерильной культуральной посуды, применяли антибиотики, а все манипуляции с клетками проводили в ламинарном боксе (Lamsystems, Россия) с принудительной подачей стерильного воздуха. По мере роста и тиражирования гибридных клонов *in vitro* производили перенос части клеток в лунки больших объемов (с макрофагами), контролируя антителопродукцию с помощью твердофазного иммуноферментного анализа (ТИФА). Смену среды культивирования (половину объема) производили через каждые 2–3 суток. После восстановления криоконсервированных гибридных клонов их пересеивали в чашки Петри и культуральные флаконы емкостью 50–100 мл и культивировали при 37 °С в CO₂-инкубаторе. Морфологию клеток оценивали под инвертированным микроскопом, антителообразующую способность и активность антител в культуральной среде – в ТИФА.

Препараты моноклональных антител.

Источником МКА служили культуральные жидкости, накопленные при многократном пассировании *in vitro* гибридом-продуцентов H2F6, A5D8, G3F5, E5F5. Выделение иммуноглобулиновой фракции из культуральных жидкостей осуществляли преципитацией сульфатом аммония [16] с последующим диализом. В полученных препаратах определяли концентрацию белка методом Лоури, равную 2–5 мг/мл. Для выявления O1-антигена холерных вибрионов использовали экспериментальный набор реагентов «Имуноглобулины моноклональные диагностические, меченные пероксидазой хрена, сухие для серологической идентификации *V. cholerae* O1 и O139 (*in vitro*) методом ИФА и дот-ИФА» (ТУ и акт внедрения от 02.09.2016 № 1041/1-16-10).

Имуноферментный анализ. Постановку прямого и непрямого твердофазного иммуноферментного анализа в полистироловых планшетах осуществляли по общепринятой методике [16]. При постановке непрямого ТИФА использовали антимишинный пероксидазный конъюгат (HRP-Goat-Anti-Mouse, Invitrogen, США). В качестве хромогена использовали 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (AppliChem, Германия). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре BioTek EL×800 (BioTek Instruments, США) при длине волны 450 нм (референс-волна – 630 нм). Результаты считали положительными, если значение D₄₅₀ исследуемого образца в 2 раза и более превосходило среднее значение D₄₅₀ отрицательных контролей.

Статистическая обработка результатов.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с помощью программы Microsoft Excel (Microsoft Office 2003). При анализе и обобщении результатов планшетного ТИФА использованы параметрические статистические методы: вычисляли среднюю арифметическую, стандартную ошибку средней арифметической (P<0,05).

Результаты и обсуждение

Известно, что поверхностные структуры клетки играют ключевую роль в процессе адаптации холерных вибрионов к условиям окружающей среды, в результате чего появляются штаммы с измененной антигенной структурой, в том числе и неагглютинабельные. В связи с этим интерес представляло изучение антигенного состава атипичных по агглютинабельности штаммов холерных вибрионов. Всего в исследование взяли 60 штаммов, выделенных из объектов окружающей среды на территориях бывшего СССР и субъектов Российской Федерации за 30-летний период (1988–2019 гг.), которые ранее были идентифицированы как эпидемически неопасные (нетоксигенные) штаммы *V. cholerae* R-варианта. Все штаммы исследованы в реакции агглютинации с холерными диагностическими серогрупповыми и серовароспецифическими сыворотками (O1, O139,

Огава, Инаба и RO) и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с целью детекции участков кластера *wbe*-O1, генов *ctxA*, *tcpA* [17]. Применение такого чувствительного метода, как иммуноферментный анализ, является эффективным в диагностике глубоко измененных по антигенной структуре штаммов холерных вибрионов. Для ответа на вопрос, как часто в составе поверхностных структур R-вибрионов встречаются эпитопы, специфичные для S-вибрионов, мы использовали панель МКА, полученных к типичным холерным вибрионам O1-серогруппы. В ходе работы для оценки представленности специфических антигенных детерминант на поверхности атипичных по признаку агглютинабельности штаммов *V. cholerae* R-варианта сначала проводили детекцию O-полисахарида в ТИФА с помощью пероксидазного конъюгата МКА-O1. Результаты представлены в табл. 1. По признаку агглютинабельности исследуемые штаммы мы разделили на шесть групп.

Как видно, эпитопы O-антигена обнаружены у всех представленных групп штаммов, в том числе у штаммов, агглютинирующихся только RO-сывороткой (табл. 1, № п/п 5), и штаммов, не агглютинирующихся ни одной из диагностических сывороток (табл. 1, № п/п 6). Отсутствие гена *wbeT* и в то же время способность некоторых штаммов 5-й и 6-й группы взаимодействовать с МКА-O1 может указывать на то, что у S- и R-штаммов имеются общие детерминанты O-антигена (R-антигена), не кодирующиеся геном *wbeT*. Более того, показатели оптической плотности (ОП) ($0,360 \pm 0,004 \div 0,465 \pm 0,010$) позволяют говорить о низкой частоте представленности эпитопов, выявляемых соответствующими им МКА, и регистрировать их наличие на поверхности R-вибрионов можно только с помощью высокочувствительного ТИФА. В 1-й, 3-й, 4-й группах большая часть штаммов вступала в реакцию с МКА-O1 (диапазон ОП: $0,261 \pm 0,015 \div 1,312 \pm 0,012$), что сви-

Таблица 1 / Table 1

Серологическая активность штаммов *V. cholerae* R-варианта
Serological activity of *V. cholerae* R-variant strains

№ п/п No.	Количество штаммов Number of strains	Агглютинабельность холерными сыворотками Agglutinability with cholera sera				Генетическая характеристика Genetic profile	Реакция в ТИФА с ПХ МКА-O1 (кол-во штаммов) Results in ELISA with HP MAб-O1 (number of strains)	Диапазон ОП Range of optical density	
		O1 O1	Огава Ogawa	Инаба Inaba	RO RO				
1	10	+	+	-	-	<i>ctxA tcpA wbeT</i> ⁻	«+» (1)	$0,261 \pm 0,015$	
						<i>ctxA tcpA wbeT</i> ⁺	«+» (7)	$(0,489 \pm 0,01) \div$ $(1,002 \pm 0,013)$	
						<i>ctxA</i> ⁺ <i>tcpA</i> ⁺ <i>wbeT</i> ⁺	«+» (2)	$(0,635 \pm 0,011) \div$ $(0,701 \pm 0,023)$	
2	3	+	-	+	-	<i>ctxA tcpA wbeT</i> ⁺	«+» (1)	$0,697 \pm 0,014$	
							«-» (2)	$(0,078 \pm 0,02) \div$ $(0,088 \pm 0,005)$	
3	4	+	+	+	-	<i>ctxA tcpA wbeT</i> ⁺	«+» (3)	$(0,351 \pm 0,03) \div$ $(1,312 \pm 0,012)$	
							«+» (1)	$0,716 \pm 0,005$	
4	5	+	-	-	-	<i>ctxA tcpA wbeT</i> ⁻	«+» (1)	$0,275 \pm 0,02$	
							<i>ctxA tcpA wbeT</i> ⁺	«+» (3)	$(0,334 \pm 0,005) \div$ $(1,008 \pm 0,004)$
							<i>ctxA tcpA</i> ⁺ <i>wbeT</i> ⁺	«+» (1)	$0,687 \pm 0,01$
5	22	-	-	-	+	<i>ctxA tcpA wbeT</i> ⁻	«+» (7)	$(0,329 \pm 0,01) \div$ $(0,841 \pm 0,022)$	
							«-» (15)	$(0,074 \pm 0,12) \div$ $(0,095 \pm 0,022)$	
6	14	-	-	-	-	<i>ctxA tcpA wbeT</i> ⁻	«+» (3)	$(0,360 \pm 0,004) \div$ $(0,465 \pm 0,01)$	
							«-» (3)	$(0,077 \pm 0,005) \div$ $(0,085 \pm 0,01)$	
							<i>ctxA tcpA wbeT</i> ⁺	«-» (8)	$(0,088 \pm 0,005) \div$ $(0,097 \pm 0,014)$
K+								$1,453 \pm 0,01$	
K-								$0,053 \pm 0,013$	

Примечание: в табл. 1 представлены средние значения оптических плотностей (ОП) и стандартное отклонение $P < 0,05$; K+ (положительный контроль); K- (отрицательный контроль). ПХ – пероксидаза хрена.

Note: the table 1 shows the average values of optical densities and the standard deviation $P < 0,05$; K+ (positive control); K- (negative control). PH – horseradish peroxidase.

Таблица 2 / Table 2

Специфическая активность препаратов МКА в непрямом ТИФА
Specific activity of MAb preparations in indirect ELISA

МКА MAb	Титр, ОП Titer, OD					
	1/500	1/1000	1/2000	1/4000	1/8000	1/16000
H2F6	1,420±0,02	1,174±0,01	1,181±0,01	1,100±0,004	1,026±0,025	0,901±0,003
A5D8	1,560±0,03	1,302±0,022	1,195±0,01	1,032±0,02	0,920±0,012	0,815±0,01
G3F5	1,597±0,012	1,415±0,015	1,221±0,023	1,097±0,015	1,050±0,015	0,846±0,02
E5F5	1,519±0,02	1,306±0,011	1,138±0,011	1,101±0,014	1,024±0,01	0,808±0,015
К+ (положительный контроль/positive control)						1,635±0,03
К- (отрицательный контроль/negative control)						0,047±0,01

Примечание: в табл. 2 представлены средние значения оптических плотностей (ОП) и стандартное отклонение P<0,05; К+ (положительный контроль); К- (отрицательный контроль); ОП – оптическая плотность.

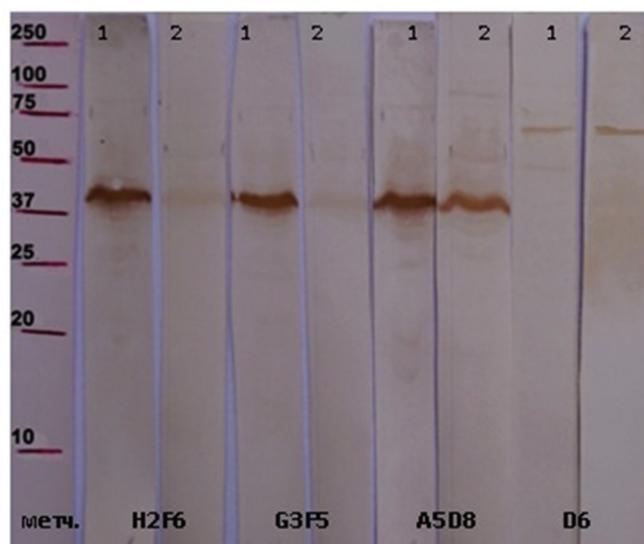
Note: the table 2 shows the average values of optical densities (OD) and the standard deviation P<0.05; K+ (positive control); K- (negative control); OD – optical density.

детельствовало, наряду с наличием гена *wbeT* и агглютинабельности холерными диагностическими серогрупповыми и сероварспецифическими сыворотками (O1, Огава, Инаба), об их принадлежности к O1-серогруппе. Во 2-й группе два из трех штаммов, агглютинирующихся сывороткой Инаба, не вступали в реакцию с МКА-O1, что обусловлено, скорее всего, утратой или частотой встречаемости концевых антигенных детерминант боковых цепей ЛПС, которые у штаммов Инаба более короткие, и чаще наблюдается их модификация при неблагоприятных воздействиях. Пятая группа, условно названная «консервативной» и обозначенная как R-вариант, включала штаммы, которые агглютинируются только сывороткой холерной RO от 1/2 диагностического титра и у которых отсутствует ген *wbeT*; в этой группе у 7 из 22 штаммов (30 %) обнаружены эпитопы O-антигена (диапазон ОП: 0,329±0,01 ÷ 0,841±0,022), судя по взаимодействию с МКА. Принимая во внимание положительную реакцию отдельных R-вариантов с МКА-O1, можно предположить, что геномная область биосинтеза O1-антигена сохраняется у этих «консервативных» R-штаммов, возможно, в измененной форме, что требует дальнейших молекулярно-генетических исследований. В 6-ю группу включены штаммы, которые потеряли способность агглютинироваться диагностическими холерными сыворотками, в том числе RO, несмотря на то, что часть из них содержит ген *wbeT*, но только с помощью МКА в ТИФА у 3 из 14 (20 %) штаммов обнаружены эпитопы O1-антигена.

Мы располагали панелью МКА, стабильно продуцирующих специфические иммуноглобулины к мембранным белкам холерных вибрионов O1-, O139-серогрупп [18]. Для приготовления препаративных количеств МКА клетки гибридом H2F6, A5D8, G3F5, E5F5 размораживали и тиражировали *in vitro*. Оценку интенсивности антителопродукции проводили с помощью тестирования в ТИФА образцов среды из лунок с гибридомами. После накопления культуральных жидкостей проводили выделение

иммуноглобулинов методом сульфатаммонийного осаждения (при 50 % насыщения). С помощью непрямого ТИФА установили специфическую активность каждого препарата МКА (табл. 2). В качестве антигена (сенситина) использовали обеззараженную бактериальную взвесь *V. cholerae* El Tor 18826 (*ctxA*⁺, *tcpA*⁺). Для работы препараты МКА использовали в рабочем разведении 1:4000 ÷ 1:8000.

Эпитопную направленность МКА определяли в иммуноблоттинге, используя лизаты клеток холерных вибрионов (рисунок). В результате обработки мембраны МКА H2F6 и G3F5 специфические белковые полосы обнаружены на уровне маркерных белков 38–42 кДа у штамма *V. cholerae* El Tor 18826 (*ctxA*⁺ *tcpA*⁺), при инкубации мембраны



Иммуноблоттинг МКА H2F6, G3F5, E5F5, A5D8 с бактериальными лизатами:

1 – *V. cholerae* El Tor 18826 (*ctxA*⁺ *tcpA*⁺); 2 – *V. cholerae* El Tor 18512 (*ctxA*⁻ *tcpA*⁻)

Immunoblotting of MAb H2F6, G3F5, E5F5, A5D8 with bacterial lysates:

1 – *V. cholerae* El Tor 18826 (*ctxA*⁺ *tcpA*⁺); 2 – *V. cholerae* El Tor 18512 (*ctxA*⁻ *tcpA*⁻)

с МКА A5D8 – у штаммов *V. cholerae* El Tor 18826 (*ctxA⁺ tcpA⁺*) и *V. cholerae* El Tor 18512 (*ctxA⁻ tcpA⁻*), что подтверждает установленную ранее эпитопную направленность МКА: H2F6 и G3F5 специфичны к эпитопам белка наружной мембраны OmpT (40 кДа), A5D8 – OmpU (38 кДа) [18]. При обработке мембраны МКА D6 выявляются антигенные детерминанты, соответствующие белковой полосе с молекулярной массой 60–65 кДа.

Полученные препараты МКА использовали в непрямом ТИФА для изучения спектра мембранных белков у штаммов *V. cholerae* El Tor, *V. cholerae* O139, *V. cholerae* R-варианта. Результаты представлены в табл. 3.

Как видно, детерминанты мембранного белка OmpU, выявляемые МКА A5D8, представлены у всех исследуемых штаммов. По-видимому, этот мембранный порин является стабильным и консервативным антигеном, который остается неизменным даже при условии попадания холерных вибрионов в неблагоприятную среду и на этапе их перехода из S- в R-форму. Более того, может происходить увеличение биосинтеза белка OmpU, в частности у штаммов геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор при высокой температуре (42 °C), что является одним из механизмов их адаптации к действию теплового стресса [19]. МКА H2F6, G3F5 выявляют специфические эпитопы мембранного белка OmpT у *tcpA⁺* штаммов холерных вибрионов O1, O139, а среди R-вибрионов – как у *tcpA⁺*, так и у *tcpA⁻* штаммов (табл. 3, № п/п 6–9). МКА D6 обнаруживает «свои» эпитопы у всех взятых в исследование штаммов *V. cholerae* El Tor, O139, а среди штаммов *V. cholerae*

R-вариант – у большей части (82 %). Спектр поверхностных антигенных детерминант выборки штаммов представлен в табл. 4.

Анализ результатов ТИФА, полученных при исследовании 60 штаммов холерных вибрионов, отличающихся по признаку агглютинабельности, показал разнообразие представленности эпитопов на их поверхности. Так, все штаммы, агглютинирующиеся сыворотками O1 и серовароспецифической Огава и Инаба, вступали в реакцию с МКА O1, направленными к O-антигену, т.е. они равноценны поликлональной O1 сыворотке. Эти же штаммы взаимодействовали со всеми МКА, узнающими «свои» детерминанты в составе поверхностных белковых антигенов. Что касается штаммов, агглютинирующихся RO-сывороткой, то среди них лишь небольшая часть имела детерминанты мембранного белка OmpT (40 кДа), узнаваемые МКА H2F6, и единичные эпитопы O-антигена, подтверждение тому – низкие значения ОП в ИФА. Частота встречаемости эпитопов мембранных белков у штаммов, не агглютинирующихся ни одной из диагностических сывороток, была минимальной.

В неблагоприятных условиях среды обитания холерный вибрион использует несколько стратегий адаптации: формирование сложных сообществ микробных клеток – биопленок, переход в некультивируемое (покоящееся) состояние, трансформация в «персистирующий» фенотип [20–25]. Это приводит к появлению атипичных по фенотипическим признакам штаммов – от морфологии клеток и колоний до ослабления и утраты агглютинабельности холерными диагностическими серогрупповыми

Таблица 3 / Table 3

Взаимодействие штаммов *V. cholerae* El Tor, *V. cholerae* O139, *V. cholerae* R-варианта с МКА в ТИФА
Interaction of *V. cholerae* El Tor, *V. cholerae* O139, *V. cholerae* R-variant strains with MAb in ELISA

№ п/п No.	Количество исследованных штаммов Number of strains	Бактериальные штаммы Bacterial strains	МКА (положительная реакция, количество штаммов) MAb (positive reaction; number of strains)			
			H2F6	A5D8	G3F5	D6
1	8	<i>V. cholerae</i> El Tor <i>ctxA⁺ tcpA⁺</i>	8	8	7	8
2	8	<i>V. cholerae</i> El Tor <i>ctxA⁻ tcpA⁺</i>	8	8	7	8
3	8	<i>V. cholerae</i> El Tor <i>ctxA⁻ tcpA⁻</i>	0	8	0	8
4	5	<i>V. cholerae</i> O139 <i>ctxA⁺ tcpA⁺</i>	5	5	4	5
5	6	<i>V. cholerae</i> O139 <i>ctxA⁻ tcpA⁻</i>	0	6	1	6
6	3	<i>V. cholerae</i> R-вариант <i>ctxA⁺ tcpA⁺ wbeT⁺</i> (вода/water)	3	3	2	3
7	1	<i>V. cholerae</i> R-вариант <i>ctxA⁺ tcpA⁺ wbeT⁺</i> (человек/patient)	1	1	1	1
8	16	<i>V. cholerae</i> R-вариант <i>ctxA⁻ tcpA⁻ wbeT⁺</i> (вода/water)	1	16	14	16
9	40	<i>V. cholerae</i> R-вариант <i>ctxA⁻ tcpA⁻ wbeT⁻</i> (вода/water)	3	40	27	29

Таблица 4 / Table 4

Оценка методом ТИФА спектра поверхностных антигенных детерминант у атипичных по признаку агглютинабельности штаммов *V. cholerae* R-варианта

Evaluation of the spectrum of surface antigenic determinants in *V. cholerae* R-variant strains with atypical agglutinability using ELISA

№ п/п No.	Штамм <i>V. cholerae</i> R-варианта <i>V. cholerae</i> R-variant strains	Агглютинабельность холерными сыворотками Agglutinability with diagnostic cholera sera	Генетическая характеристика Genetic profile	F8G12 (МКА-O1) F8G12 (MAb-O1)	H2F6	A5D8	G3F5	D6
1	13918	O1(1/2 ДТ), Огава (1/2 ДТ) O1(1/2 DT), Ogawa (1/2 DT)	<i>ctxA⁺ tcpA⁺ wbeT⁺</i>	+	+	+	+	+
2	17569	O1(ДТ) O1 (DT)	<i>ctxA⁻ tcpA⁺ wbeT⁺</i>	+	+	+	+	+
3	17572	O1(1/4 ДТ), Инаба (ДТ) O1(1/4 DT) Inaba(DT)	<i>ctxA⁻ tcpA⁻ wbeT⁺</i>	+	-	+	-	+
4	13910	RO (ДТ) RO (DT)	<i>ctxA⁻ tcpA⁻ wbeT⁻</i>	-	+	+	-	+
5	16290	RO (ДРТ) RO (DWT)	<i>ctxA⁻ tcpA⁻ wbeT⁻</i>	-	-	+	-	+
6	18138	RO (1/2ДТ) RO (1/2 DT)	<i>ctxA⁻ tcpA⁻ wbeT⁻</i>	-	-	+	-	+
7	13902	отриц. negative	<i>ctxA⁻ tcpA⁻ wbeT⁻</i>	-	-	+	-	+
8	18906	отриц. negative	<i>ctxA⁻ tcpA⁻ wbeT⁻</i>	-	-	+	-	-
9	18500	отриц. negative	<i>ctxA⁻ tcpA⁻ wbeT⁻</i>	-	-	+	-	-

Примечание: ДТ – диагностический титр сыворотки.

Note: DT – diagnostic titer of the serum.

(O1, O139) и вариантоспецифическими (Инаба и Огава) сыворотками – или агглютинирующихся RO-сывороткой в различных сочетаниях с ними. При идентификации атипичных по агглютинабельности холерных вибрионов O1, т.е. штаммов *V. cholerae* R-вариантов, следует учитывать, что они представляют собой форму антигенной изменчивости данных микроорганизмов. Основу внешней антигенной мозаики R-вариантов составляет R-ЛПС, и все воздействия, которым подвергается микробная клетка, в первую очередь отражаются на структуре R-core, обуславливая его значительные вариации по терминальным моносахаридам. Анализ с помощью панели МКА поверхностных структур атипичных по агглютинабельности штаммов *V. cholerae* R-варианта в иммуноферментном методе показал, что среди штаммов, идентифицированных при выделении как *V. cholerae* R-варианта, регистрируются отдельные культуры с различным количеством O-антигена (диапазон оптической плотности – от 0,261±0,002 до 1,312±0,003). Эпитопы специфического O-антигена обнаружены у небольшой части «консервативных» штаммов (30 %), агглютинирующихся только сывороткой RO, и у нескольких штаммов (20 %), которые не имеют гена *wbeT*, детерминирующего его синтез, и потерявших агглютинабельность со всеми

диагностическими холерными сыворотками, в том числе и RO, и такие варианты холерных вибрионов безусловно требуют дальнейшего изучения. Эпитопы мембранных белков 38–42 и 60–65 кДа, узнаваемые комплементарными МКА, с различной частотой представлены в составе поверхностных антигенов штаммов *V. cholerae*, взятых в исследование. Результаты ТИФА показали, что снижение их представленности или отсутствие на поверхности клетки коррелируют с модификацией или утратой R-ЛПС и сопровождаются отрицательной реакцией агглютинации. Вполне вероятно, что они находятся в ассоциации с R-ЛПС, образуя белково-полисахаридный комплекс. Для решения вопросов, касающихся антигенных отличий типичных и атипичных вибрионов, повышения точности и достоверности идентификации последних, представляется целесообразным углубленное изучение генов, детерминирующих синтез O- и R-ЛПС, их экспрессии и возможности обнаружения этих полисахаридов с помощью современных иммунологических методов на основе специфических поликлональных сывороток и МКА.

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

Список литературы

- Алексеева Л.П., Телесманич Н.Р., Ломов Ю.М., Храмов М.В., Кругликов В.Д., Агафонова В.В., Фатеева О.Ф., Чеботарев Д.А., Керманов А.В. Сравнительная оценка методов до-иммуноанализа и иммунохроматографии при выявлении холерных вибрионов O1 серогруппы. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2010; 6:88–93.
- Кретенчук О.Ф., Алексеева Л.П., Маркина О.В., Козлова Г.А., Яговкин М.Э., Кругликов В.Д., Архангельская И.В. Оптимизация условий получения диагностических флуоресцирующих моноклональных иммуноглобулинов для идентификации холерных вибрионов O1- и O139-серогрупп. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; 12:32–4.
- Алексеева Л.П., Кругликов В.Д., Телесманич Н.Р., Ломов Ю.М., Евдокимова В.В., Авдеева Е.П., Фатеева О.Ф., Яговкин М.Э. Идентификация холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп с помощью моноклональных антител и реакции слайд-агглютинации. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2010; 11:53–6.
- Баранова Е.В., Ветчинин С.С., Шевяков А.Г., Соловьев П.В., Миронова Л.В., Пономарева А.С., Басов Е.А., Хунхеева Ж.Ю., Кругликов В.Д., Алексеева Л.П., Бикетов С.Ф. Конструирование иммунохроматографического теста на основе моноклональных антител для выявления холерного токсина. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2020; 16(2):18–26.
- Михеева Е.А., Девдариани З.Л., Осина Н.А., Щербаква С.А. Определение холерного токсина у штаммов *V. cholerae* в иммуноферментном анализе с использованием моноклональных антител. *Биозащита и биобезопасность*. 2014; 6(4):38–42.
- Хайтович А.Б. Биологические свойства *Vibrio cholerae* как составная часть эпиднадзора за холерой. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2001; 1:5–9.
- Марамович А.С., Урбанович Л.Я., Куликалова Е.С., Шкаруба Т.Т. Роль и значение поверхностных водоемов в становлении и развитии VII пандемии холеры. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2009; 2:21–5.
- Иванова С.М., Титов Г.В., Безмертный В.Е., Титова С.В., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Архангельская И.В., Ежова М.И., Кудрякова Т.А., Зубкова Д.А., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С. Информация о биологических свойствах холерных вибрионов O1 серогруппы, изолированных из объектов окружающей среды и от людей на территории Российской Федерации в 2014 году. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы. Материалы проблемной комиссии. Вып. 28. Ростов н/Д; 2015. С. 67–70. [Электронный ресурс]. URL: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2015/06/Cholera-28-2015.pdf> (дата обращения 28.09.2021).
- Яшкуллов К.Б., Каляева Т.Б., Оброткина Н.Ф., Тюнникова В.Д., Дандаева Б.В. О свойствах культур холерных вибрионов O1, выделенных из воды открытых водоемов Республики Калмыкия в период с 2012–2014 гг. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы. Материалы проблемной комиссии. Вып. 28. Ростов н/Д; 2015. С. 71–5. [Электронный ресурс]. URL: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2015/06/Cholera-28-2015.pdf> (дата обращения 28.09.2021).
- Иванова С.М., Иванников В.В., Мискинова Т.А., Лопатин А.А., Титова С.В., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Архангельская И.В., Левченко Д.А., Чемисова О.С., Гаевская Е.А., Ежова М.И., Непомнящая Н.Б. Информация о биологических свойствах холерных вибрионов O1 серогруппы, изолированных из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации в 2017 году. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы. Сборник статей Проблемной комиссии. Вып. 31. Ростов н/Д; 2018. С. 48–51. [Электронный ресурс]. URL: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2019/01/СБОРНИК-31.pdf> (дата обращения 28.09.2021).
- Мошкина А.А. Свойства забайкальских штаммов холерных вибрионов O1, выделенных за последние пять лет. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы. Сборник статей Проблемной комиссии. Вып. 32. Ростов н/Д; 2019. С. 110–112. [Электронный ресурс]. URL: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2019/11/Холера-и-патогенные-для-человека-вибрионы-выпуск-32.pdf> (дата обращения 28.09.2021).
- Алексеева Л.П., Черепихина И.Я., Сальникова О.И., Буракова О.С. Изучение антигенных взаимосвязей типичных и R-форм холерных вибрионов на основе моноклональных антител. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1998; 4:9–12.
- Hisatsune K., Hayashi M., Haishima Y., Kondo S. Relationship between structure and antigenicity of O1 *Vibrio cholerae* lipopolysaccharides. *J. Gen. Microbiol.* 1989; 135(7):1901–07. DOI: 10.1099/00221287-135-7-1901.
- Kaper J.B., Morris J.G. Jr, Levine M.M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–86. DOI: 10.1128/CMR.8.1.48.
- Кэтти Д., редактор. Антитела. Методы. Кн. 1. М.: Мир; 1991. 287 с.
- Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высш. шк.; 1991. 288 с.
- Левченко Д.А., Архангельская И.В., Кругликов В.Д., Подойнищина О.А. Атипичность штаммов *Vibrio cholerae* O1 по признаку агглютинабельности. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(5):482–91. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-10.
- Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Кретенчук О.Ф., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Бурша О.С. Моноклональные антитела к термостабильным поверхностным антигенам холерных вибрионов O1- и O139-серогруппы. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 3:51–7.
- Заднова С.П., Агафонов Д.А., Шашкова А.В., Смирнова Н.И. Сравнительная устойчивость типичных и генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* биовара El Toг к действию неблагоприятных факторов внешней среды. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2014; 2:11–7.
- Миронова Л.В. Современные представления о закономерностях эпидемического процесса при холере: экологические и молекулярно-биологические аспекты. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2018; 23(5):242–50. DOI: 10.18821/1560-9529-2018-23-5-242-250.
- Куликалова Е.С., Урбанович Л.Я., Саппо С.Г., Миронова Л.В., Марков Е.Ю., Мальник В.В., Корзун В.М., Миткеева С.К., Балахонов С.В. Биопленка холерного вибриона: получение, характеристика и роль в резервации возбудителя в водной окружающей среде. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015; 1:3–11.
- Silva A.J., Benitez J.A. *Vibrio cholerae* biofilms and cholera pathogenesis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(2):e0004330. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004330.
- Jubair M., Morris J.G. Jr, Ali A. Survival of *Vibrio cholerae* in nutrient-poor environments is associated with a novel “persistor” phenotype. *PLoS One*. 2012; 7(9):e45187. DOI: 10.1371/journal.pone.0045187.
- Wu B., Liang W., Kan B. Growth phase, oxygen, temperature and starvation affect the development of viable but non-culturable state of *Vibrio cholerae*. *Front Microbiol.* 2016; 7:404. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00404.
- Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun S., McDougald D. Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2013; 4:375. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00375.

References

- Alekseeva L.P., Telesmanich N.R., Lomov Yu.M., Khramov M.V., Kruglikov V.D., Agafonova V.V., Fateeva O.F., Chebotarev D.A., Kermanov A.V. [Comparative evaluation of dot-immunoassay and immunochromatography in the detection of *Vibrio cholerae* O1 serogroup]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2010; (6):88–93.
- Kretenchuk O.F., Alekseeva L.P., Markina O.V., Kozlova G.A., Yagovkin M.E., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V. [Optimization of conditions for obtaining diagnostic fluorescent monoclonal immunoglobulins for the identification of *Vibrio cholerae* O1- and O139-serogroups]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2012; 12:32–4.
- Alekseeva L.P., Kruglikov V.D., Telesmanich N.R., Lomov Yu.M., Evdokimova V.V., Avdeeva E.P., Fateeva O.F., Yagovkin M.E. [Identification of cholera vibrios of O1 and O139 serogroups using monoclonal antibodies and slide-agglutination reaction]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2010; (11):53–6.
- Baranova E.V., Vetchinin S.S., Shevyakov A.G., Solov'ev P.V., Mironova L.V., Ponomareva A.S., Basov E.A., Khunkheeva Zh.Yu., Kruglikov V.D., Alekseeva L.P., Biketov S.F. [Designing an immune-chromatographic test based on monoclonal antibodies to detect cholera toxin]. *Vestnik Biotekhnologii i Fiziko-Himicheskoi Biologii Imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology Named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2020; 16(2):18–26.
- Mikheeva E.A., Devdariani Z.L., Osina N.A., Shcherbakova S.A. [Detection of cholera toxin in *V. cholerae* strains in enzyme immunoassay using monoclonal antibodies]. *Biозashchita i Biobezopasnost' [Biosecurity and Biosafety]*. 2014; 6(4):38–42.
- Khaitovich A.B. [Biological properties of *Vibrio cholerae* as an integral part of cholera surveillance]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2001; (1):5–9.
- Maramovich A.S., Urbanovich L.Ya., Kulikalova E.S., Shkaruba T.T. [The role and importance of surface water bodies in the emergence and development of the VII cholera pandemic]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2009; (2):21–5.

8. Ivanova S.M., Titov G.V., Bezsmertny V.E., Titova S.V., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Arkhangel'skaya I.V., Ezhova M.I., Kudryakova T.A., Zubkova D.A., Vodopyanov S.O., Vodopyanov A.S. [Information on biological properties of cholera vibrios of O1 serogroup, isolated from environmental objects and from patients on the territory of the Russian Federation in 2014]. In: [Cholera and Pathogenic for Humans Vibrios. Proceedings of the Problem Commission]. Issue 28. Rostov-on-Don; 2015. P. 67–70. (Cited 28 Sept 2021). [Internet]. Available from: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2015/06/Cholera-28-2015.pdf>.
9. Yashkulov K.B., Kalyaeva T.B., Obrotkina N.F., Tyunnikova V.D., Dandaeva B.V. [Regarding the properties of cholera vibrio O1 cultures isolated from the water of surface reservoirs of the Republic of Kalmykia in 2012–2014]. In: [Cholera and Pathogenic for Humans Vibrios. Proceedings of the Problem Commission]. Issue 28. Rostov-on-Don; 2015. P. 71–5. (Cited 28 Sept 2021). [Internet]. Available from: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2015/06/Cholera-28-2015.pdf>.
10. Ivanova S.M., Ivannikov V.V., Miskina T.A., Lopatin A.A., Titova S.V., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Arkhangel'skaya I.V., Levchenko D.A., Chemisova O.S., Gaevskaya N.E., Ezhova M.I., Nepomnyashchaya N.B. [Information about biological properties of cholera vibrios of O1 serogroup isolated from environmental objects on the territory of the Russian Federation in 2017]. In: [Cholera and Pathogenic for Humans Vibrios. Proceedings of the Problem Commission]. Issue 31. Rostov-on-Don; 2018. P. 48–51. (Cited 28 Sept 2021). [Internet]. Available from: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2019/01/СБОРНИК-31.pdf>.
11. Moshkina A.A. [Properties of Trans-Baikalian strains of cholera vibrios O1 isolated over the past five years]. In: [Cholera and Pathogenic for Humans Vibrios. Proceedings of the Problem Commission]. Issue 32. Rostov-on-Don; 2019. P. 110–2. (Cited 28 Sept 2021). [Internet]. Available from: <http://antiplague.ru/wp-content/uploads/2019/11/Холера-и-патогенные-для-человека-вибрионы-выпуск-32.pdf>.
12. Alekseeva L.P., Cherepakhina I.Ya., Sal'nikova O.I., Burlakova O.S. [Study of antigenic relations between typical and R-forms of cholera vibrios, based on monoclonal antibodies]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1998; (4):9–12.
13. Hisatsune K., Hayashi M., Haishima Y., Kondo S. Relationship between structure and antigenicity of O1 *Vibrio cholerae* lipopolysaccharides. *J. Gen. Microbiol.* 1989; 135(7):1901–07. DOI: 10.1099/00221287-135-7-1901.
14. Kaper J.B., Morris J.G. Jr, Levine M.M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–86. DOI: 10.1128/CMR.8.1.48.
15. Catty D., editor. [Antibodies. Methods]. Book 1. Moscow: "Mir"; 1991. 287 p.
16. Egorov A.M., Osipov A.P., Dzantiev B.B., Gavrilova E.M. [Theory and Practice of Enzyme Immunoassay]. Moscow: "High School"; 1991. 288 p.
17. Levchenko D.A., Arkhangel'skaya I.V., Kruglikov V.D., Podoinitsyna O.A. [Atypical strains of *Vibrio cholerae* O1 by agglutinability indicator]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2020; 97(5):482–91. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-10.
18. Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Kretenchuk O.F., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., Bursha O.S. [Monoclonal antibodies to thermostable surface antigens of *Vibrio cholerae* O1- and O139-serogroup]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2015; (3):51–7.
19. Zadnova S.P., Agafonov D.A., Shashkova A.V., Smirnova N.I. [Comparative resistance of typical and genetically altered strains of *Vibrio cholerae* El Tor biovar to adverse environmental factors]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2014; (2):11–7.
20. Mironova L.V. [Modern views on epidemic process patterns in case of cholera: ecological and molecular biological aspects]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and infectious diseases]*. 2018; 23(5):242–50. DOI: 10.18821/1560-9529-2018-23-5-242-250.
21. Kulikalova E.S., Urbanovich L.Ya., Sappo S.G., Mironova L.V., Markov E.Yu., Mal'nik V.V., Korzun V.M., Mitkeeva S.K., Balakhonov S.V. [*Vibrio cholerae* biofilm: production, characterization and role in pathogen preservation in the aquatic environment]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2015; (1):3–11.
22. Silva A.J., Benitez J.A. *Vibrio cholerae* biofilms and cholera pathogenesis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(2):e0004330. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004330.
23. Jubair M., Morris J.G. Jr, Ali A. Survival of *Vibrio cholerae* in nutrient-poor environments is associated with a novel "persister" phenotype. *PLoS One.* 2012; 7(9):e45187. DOI: 10.1371/journal.pone.0045187.
24. Wu B., Liang W., Kan B. Growth phase, oxygen, temperature and starvation affect the development of viable but non-culturable state of *Vibrio cholerae*. *Front Microbiol.* 2016; 7:404. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00404.
25. Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun S., McDougald D. Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2013; 4:375. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00375.

Authors:

Evdokimova V.V., Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Levchenko D.A., Kruglikov V.D., Zyuzina V.P., Yagovkin M.E. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Об авторах:

Евдокимова В.В., Алексеева Л.П., Якушева О.А., Левченко Д.А., Кругликов В.Д., Зюзина В.П., Яговкин М.Э. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-86-93

УДК 616.98:578.824.11

М.А. Ефимова^{1,2}, Р.М. Ахмадеев¹, А.Г. Галеева¹, А.Р. Валеева³, Н.Р. Мифтахов¹, М.Н. Мукминов^{3,4},
К.С. Хаертынов^{1,3}, Э.А. Шуралев^{2,3,4}

ВЫДЕЛЕНИЕ ГЛИКОПРОТЕИНА ВИРУСА БЕШЕНСТВА МЕТОДОМ ТРЕХФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЕГО АНТИГЕННЫХ СВОЙСТВ

¹ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Казань, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», Казань, Российская Федерация;

³Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Российская Федерация;

⁴ФГАОВУ «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Российская Федерация

Цель работы – разработка методического подхода к выделению гликопротеина вируса бешенства с использованием трехфазной экстракции и характеристика его антигенных свойств. **Материалы и методы.** Инфекционную активность вируса бешенства (производственный штамм «Овечий» ГНКИ) после длительного хранения восстанавливали на белых мышах линии BALB/c. Штамм использовали для культивирования на клетках линии ВНК-21; культуральную жидкость концентрировали методом ультрацентрифугирования с последующим разделением ее по плавучей плотности в градиенте сахарозы, отбором визуально опалесцирующих зон, фазовым концентрированием, хроматографическим разделением на колонке ENrich™ SEC650 (Bio-Rad, США) и отбором мономерных фракций с высокой серологической активностью по результатам вестерн-блоттинга. **Результаты и обсуждение.** Показано, что предварительное механическое разрушение суспензии головного мозга, извлечение вирусосодержащего материала из клеточной суспензии путем последовательных этапов центрифугирования, разделение осадка, полученного в градиенте сахарозы, с дальнейшей очисткой фазовым концентрированием и хроматографическим разделением преципитата позволяет получать мономерный препарат с высокой серологической активностью. Данный подход позволил получить антиген, представляющий собой гликопротеин вируса бешенства с молекулярной массой 67 кДа и две его изоформы с молекулярной массой 60 и 54 кДа. Описанный подход можно рассматривать в качестве варианта выделения специфического антигена вируса бешенства при проведении работ по совершенствованию методов лабораторной диагностики. Полученный антиген является мономерным дискретом и содержит одну фракцию молекулярной массой 67 кДа. Результаты исследований подтверждают высокую специфичность антигена и его пригодность для конструирования иммуноферментных и иммунохроматографических тестов, получения специфических иммуноглобулинов, рецепторного изучения взаимодействия антиген/антитело, а также для оценки напряженности протективного иммунитета после вакцинации.

Ключевые слова: гликопротеин вируса бешенства, фазовая экстракция, вестерн-блоттинг, гель-фильтрационная хроматография.

Корреспондирующий автор: Галеева Антонина Глебовна, e-mail: antonina-95@yandex.ru.

Для цитирования: Ефимова М.А., Ахмадеев Р.М., Галеева А.Г., Валеева А.Р., Мифтахов Н.Р., Мукминов М.Н., Хаертынов К.С., Шуралев Э.А. Выделение гликопротеина вируса бешенства методом трехфазной экстракции и характеристика его антигенных свойств. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 1:86–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-86-93

Поступила 09.01.2022. Отправлена на доработку 26.01.2022. Принята к публ. 15.02.2022.

М.А. Efimova^{1,2}, R.M. Akhmadeev¹, A.G. Galeeva¹, A.R. Valeeva³, N.R. Miftakhov¹,
M.N. Mukminov^{3,4}, K.S. Khaertynov^{1,3}, E.A. Shuralev^{2,3,4}

Isolation of Rabies Virus Glycoprotein Using Three-Phase Extraction and Characteristics of its Antigenic Properties

¹Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation;

²Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, Kazan, Russian Federation;

³Kazan State Medical Academy – affiliated branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of Russia, Kazan, Russian Federation;

⁴Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to develop an approach to isolation of rabies virus glycoprotein applying three-phase extraction and to characterize its antigenic properties. **Materials and methods.** Infectious activity of the rabies virus (production strain, “Ovine” GNKI) after long-term storage was restored on white BALB/c mice. The strain was used for cultivation on BHK-21 cells; the culture liquid was concentrated applying ultracentrifugation followed by separation by buoyant density in a sucrose gradient, selection of visually opalescent zones, phase concentration, chromatographic separation on an ENrich™ SEC650 column (Bio-Rad, USA) and selection of monomeric fractions with high serological activity according to the results of Western blotting. **Results and discussion.** We have demonstrated that preliminary mechanical destruction of brain suspension, extraction of the virus-containing material from the cell suspension through successive low-speed and high-speed centrifugation, separation of the sediment produced in sucrose gradient with further phase concentration and chromatographic separation of the precipitate allows to obtain monomeric antigenic preparations with high serological activity. This methodology has made it possible to obtain an antigen, which is rabies virus glycoprotein with a molecular weight of 67 kDa, and two of its isoforms, having molecular weights of 60 and 54 kDa. The described approach can be viewed as an option for isolation of the rabies virus specific antigen when improving laboratory diagnostics techniques. The resulting antigen is a monomeric discrete containing one fraction with a molecu-

lar weight of 67 kDa. The data obtained corroborate the high specificity of the antigen and its suitability for the design of enzyme immunoassay and immunochromatographic tests, production of specific immunoglobulins, the study of the antigen/antibody interaction, as well as for the assessment of the protective immunity intensity after vaccination.

Key words: rabies virus glycoprotein, phase extraction, Western blotting, gel filtration chromatography.

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

Corresponding author: Antonina G. Galeeva, e-mail: antonina-95@yandex.ru.

Citation: Efimova M.A., Akhmadeev R.M., Galeeva A.G., Valeeva A.R., Miftakhov N.R., Mukminov M.N., Khaertynov K.S., Shuralev E.A. Isolation of Rabies Virus Glycoprotein Using Three-Phase Extraction and Characteristics of its Antigenic Properties. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:86–93. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-86-93

Received 09.01.2022. Revised 26.01.2022. Accepted 15.02.2022.

Efimova M.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8786-1310>

Galeeva A.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2650-6459>

Valeeva A.R., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5218-9341>

Mukminov M.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5996-0271>

Khaertynov K.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4764-560X>

Shuralev E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0650-3090>

Бешенство – особо опасная летальная зооантропонозная болезнь всех видов теплокровных животных, в том числе человека, характеризующаяся поражением центральной нервной системы. Возбудителем бешенства является РНК-содержащий вирус семейства *Rhabdoviridae*, рода *Lyssavirus*. В настоящее время установлено, что вирус бешенства имеет четыре серотипа [1]. Центральная нервная система является избирательным местом нахождения возбудителя бешенства. В наибольшем титре вирус обнаруживается в головном мозге (аммоновых рогах, мозжечке и продолговатом мозге), а также в слюнных железах, биоптатах кожи [2] и спинномозговой жидкости [3].

Эпизоотическая ситуация по бешенству животных в некоторых регионах Российской Федерации остается нестабильной, выявляются природные очаги, отмечается рост заболеваемости диких плотоядных животных, в эпизоотический процесс интенсивно вовлекаются домашние животные, создавая угрозу для людей [4]. В настоящее время одним из ключевых звеньев существующей тактики предупреждения распространения инфекции является вакцинация. Несмотря на значительный прогресс вакцинопрофилактики, проблема бешенства остается актуальной в связи с распространением инфекции среди диких животных – так называемого природного бешенства [5].

Диагноз «бешенство» ставится на основании комплекса эпизоотологических, клинических, патологоанатомических данных и результатов лабораторных исследований. Применяемые на сегодняшний день диагностические средства исключают возможность индикации возбудителя бешенства до манифестации клинических симптомов болезни. Прижизненное и посмертное подтверждение бешенства производится посредством диагностических методов, направленных на выявление цельного вириона, вирусных антигенов или нуклеиновых кислот в инфицированных тканях [6]. Точность выставления достоверного диагноза и определения напряженности иммунного ответа вакцинированных против бешенства диких и домашних животных требует наличия специфических антигенов и является важной составляющей для организации профилактических мероприятий. Расширение номенклатуры, повыше-

ние качества диагностических тест-систем остаются первостепенными задачами для лабораторной практики. Современные достижения биотехнологии позволяют получать высокоспецифичные антигенные препараты для дальнейшего совершенствования методов диагностики бешенства.

Перспективным направлением является конструирование вирусоподобных частиц (VLP), содержащих гликопротеины вируса бешенства (RVG) – наиболее активные видоспецифичные иммуногены [7, 8]. Гликопротеин вируса бешенства является единственным вирусным белком, обнаруженным в липидной оболочке. Эта молекула массой 65–67 кДа соответствует N-гликозилированному трансмембранному белку, является гликопротеином I типа, имеет тримерную структуру, распознает рецепторы и вызывает рН-индуцированное слияние мембран [9]. Он идентифицирован как основная детерминанта патогенности, участвующая в процессах почкования, аксонального оттока вириона во время инфекции, апоптоза и толерантности иммунной системы [10], а также в процессах блокирования активации дендритных клеток [11]. Более того, гликопротеин является основным антигеном, индуцирующим защитный иммунный ответ, который используется в коммерческих рекомбинантных вакцинах [12–14]. Также индукцию защитного ответа вызывает рибонуклеопротеин (RNP) вируса бешенства [15–17], однако именно гликопротеин играет ведущую роль в выявлении вируснейтрализующих антител (VNA) [18]. Данные о структуре гликопротеина, его антигенных свойствах, роли в патогенезе позволяют рассматривать его как базовый компонент для конструирования диагностических тест-систем [19].

В отечественной и зарубежной литературе есть сведения о способах получения очищенных антигенов вируса бешенства, основанных на дезинтеграции вирионов, наиболее широко применимыми среди которых являются ультрацентрифугирование в градиентах плотности сахарозы и хлористого цезия [20–22], обработка неионными и цвиттерионными детергентами [13] с последующей хроматографической очисткой [23, 24], однако изыскание доступных технологий выделения мономерных антигенных препаратов является по-прежнему актуальным направлением исследований.

Целью настоящей работы явилась разработка методического подхода к получению гликопротеина вируса с использованием трехфазной экстракции и характеристика его антигенных свойств.

Материалы и методы

Все стадии исследования соответствовали законодательству Российской Федерации, международным этическим нормам и нормативным документам ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»).

Штамм вируса. В работе использовали производственный штамм фиксированного вируса бешенства «Овечий» ГНКИ органо-тканевого происхождения с инфекционным титром $5,25 \lg LD_{50}/0,1$ мл.

Репродукция вируса бешенства. Для повышения инфекционной активности вируса белых мышей линии BALB/c живой массой 6–7 г заражали интрацеребрально вирусом бешенства под ингаляционным наркозом (изофлуран). Мышей, павших с признаками неврологических нарушений через 5–8 суток после заражения, декапитировали, стерильно извлекали мозг и готовили 20 % суспензию в 0,05 М фосфатно-буферном растворе (pH=7,2±0,1), которую дополнительно обрабатывали в стеклянном гомогенизаторе. С целью максимального механического разрушения мозговой ткани использовали прибор FastPrep®-24 Classic Instrument (MP Biomedicals, США) и пробирки Lysing Matrix E (MP Biomedicals, США) (режим обработки: скорость вибрации – 6,0 м/с, время обработки – 40 с). Механически разрушенную мозговую ткань осаждали центрифугированием на центрифуге Eppendorf 5430 R (Eppendorf, Германия) при 5000 g в течение 10 мин при 4 °С для удаления разрушенных клеток, далее супернатант концентрировали ультрацентрифугированием на центрифуге Beckman L-7 Series Preparative ultracentrifuges (Beckman Coulter, США) при 180000 g в течение 1 часа. Осадок ресуспендировали в объеме, равном 1/10 части от исходного.

Для культивирования вируса бешенства использовали перевиваемую монослойно-суспензионную сублинию клеток почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21/13 (Институт цитологии РАН, Россия) [25]; после накопления вируса в титре не менее $6,0 \lg LD_{50}/0,1$ мл при множественности инфицирования 0,01 MOI суспензию клеток осаждали путем центрифугирования при 3000 g и приступали к дальнейшей очистке.

Фракционирование в градиенте плотности сахарозы. Очистку вируса проводили в ступенчатом (10–60 %) градиенте сахарозы (Sigma, США) методом ультрацентрифугирования при 180000 g в течение 3 часов. Разделенные по плавучей плотности зоны опалесценции отбирали в отдельные флаконы. На каждом этапе очистки вируса проводили контроль с использованием вестерн-блоттинга для определе-

ния локализации серологически активных фракций. Для дальнейшего концентрирования вирусного материала после разделения по плавучей плотности использовали метод трехфазового концентрирования.

Фазовое разделение (экстракция) вирусного белка. В качестве фазовой системы использовали n-бутанол («Химпром», Россия) и насыщенный раствор сульфата аммония (НСА) («Ленреактив», Россия). К конечному супернатанту вирусосодержащего материала приливали НСА в соотношении 1:1 и инкубировали в течение 60 мин при комнатной температуре, добавляли 2 объема n-бутанола, смесь энергично встряхивали, фазы разделяли центрифугированием на центрифуге Eppendorf 5804 R (Eppendorf, Германия) при 3000 g в течение 40 мин при 15 °С. Смесь разделялась на три фазы: верхняя фаза содержала бутанол, средняя фаза представляла собой взвесь в виде тонкого диска-таблетки, нижняя фаза – раствор НСА. Верхнюю фазу удаляли, нижнюю фазу отбирали в отдельный флакон, к средней фазе после подсушивания добавляли 0,5 исходного объема 0,01 М трис-НСI буфера, встряхивали и получали опалесцирующий раствор, после чего оставляли на сутки при температуре 4–6 °С и центрифугировали 10 мин при 10000 g для удаления взвешенных частиц.

Гель-фильтрационная хроматография. В качестве метода разделения использовали гель-проникающую хроматографию, которую проводили на приборе NGC Quest 10 Plus System (Bio-Rad, США) с использованием колонки ENrich SEC 650 (в соответствии с протоколом), препарат для разделения вносили при помощи петли 250 мкл, элюцию проводили 0,01 М трис-НСI буфером (pH 7,2), детекцию осуществляли при длине волны 280 нм, фракции собирали на коллекторе фракций BioFrac (Bio-Rad, США) в объеме 500 мкл (скорость элюции – 1 мл/мин, давление – 600 psi). Концентрацию белка определяли на спектрофотометре UV5 (Mettler Toledo, Швейцария) при длине волны 280 нм. Контроль полученного материала осуществляли с использованием вестерн-блоттинга для определения локализации серологически активных фракций.

Анализ вирусных белков в SDS-PAGE и вестерн-блоттинге. Электрофоретический анализ проводили в 12,5 % полиакриламидном геле (ПААГ) на приборе Mini-Protean Tetra Cell (Bio-Rad, США) по Лэммли [26]. Перенос разделенного в ПААГ материала на нитроцеллюлозную мембрану (0,45 μ m, Bio-Rad, США) осуществляли при помощи системы полусухого блоттинга Trans-Blot SD Semy-Dry Transfer Cell (Bio-Rad, США). Вестерн-блоттинг проводили с антирабическими кроличьими иммуноглобулинами, выделенными из гипериммунной сыворотки, полученной против производственного штамма вируса бешенства «Овечий» ГНКИ (коллекция ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), в разведении 1:1000. В качестве отрицательного контроля использовали неиммунные кроличьи иммуноглобулины, в каче-

стве гетерологичного – кроличьи иммуноглобулины против болезни Ауески в аналогичном разведении.

Документирование результатов электрофореза и вестерн-блоттинга проводили на приборе Gel Doc XR+ (Bio-Rad, США), статистическую обработку осуществляли при помощи программы Image Lab Software 6.0. Специфические иммунореактивные полипептиды определяли при помощи набора маркера молекулярной массы 6,5–200,0 кДа (Broad Range, Bio-Rad, США).

Результаты и обсуждение

Ранее проведенные исследования [27] по получению вирусного материала в градиенте плотности сахарозы (10–60 %) с последующим анализом при помощи электрофореза в 12,5 % ПААГ показали наличие большого количества белков, представляющих полипептидный состав клеточной суспензии как источника вируса бешенства. Установлено, что на фоне большого количества полипептидов доля специфических и серологически активных дискретов в процентном отношении к общему количеству белков оказалась мала из-за присутствия балластного материала. В то же время наблюдалась высокая серологическая активность полученного материала в зоне молекулярной массы 67 кДа, соответствующей гликопротеину. Результаты аналитического электрофореза очищенного в градиенте плотности сахарозы вируса бешенства, полученного из суспензии инфицированных клеток ВНК-21, и вестерн-блоттинга представлены на рис. 1.

Как видно из результатов вестерн-блоттинга, серологическая активность разделенного на ультрацентрифуге вирусного материала распределена в

зоне с 10 до 60 % сахарозы. Разделение материала по плавучей плотности не позволило добиться локализации серологической активности только в одной зоне. По всей видимости, на разделение вирусной массы по плавучей плотности повлияли три фактора: перегрузка разделяемого материала, рецепторная связь вирусного материала с клеточными структурами, отсутствие полной дезинтеграции клеток. Фракционированный материал, визуально представляющий четкие зоны опалесценции, был отобран и объединен для дальнейшей очистки.

Фазовая экстракция вирусного белка. Для достижения поставленной цели – получения очищенного вирусного препарата с более высокой дискретностью – нами взята за основу математическая модель фазовой экстракции белка [28, 29], которая позволяет минимизировать денатурирующие свойства органических растворителей (в случае их отдельного использования). В качестве фазовой системы использован *n*-бутанол/сульфат аммония, исходным материалом служили пять объединенных опалесцирующих зон (рис. 1) после фракционирования в градиенте плотности сахарозы.

В результате фазового концентрирования образовавшийся преципитат перемещался из двух несмешивающихся растворов в середину, которая была сформирована при низкоскоростном центрифугировании (тонкий диск-таблетка) и представляла собой десольбилизованный биологический материал. После удаления верхней и нижней фаз диск подсушивали и вносили 0,01 М трис-НСl буфер (pH 7,0±0,1) в половинном объеме от исходного, получали опалесцирующий раствор, инкубировали при температуре 4–6 °С и центрифугировали 10 мин при 10000 g для удаления взвешенных частиц. Результаты вестерн-

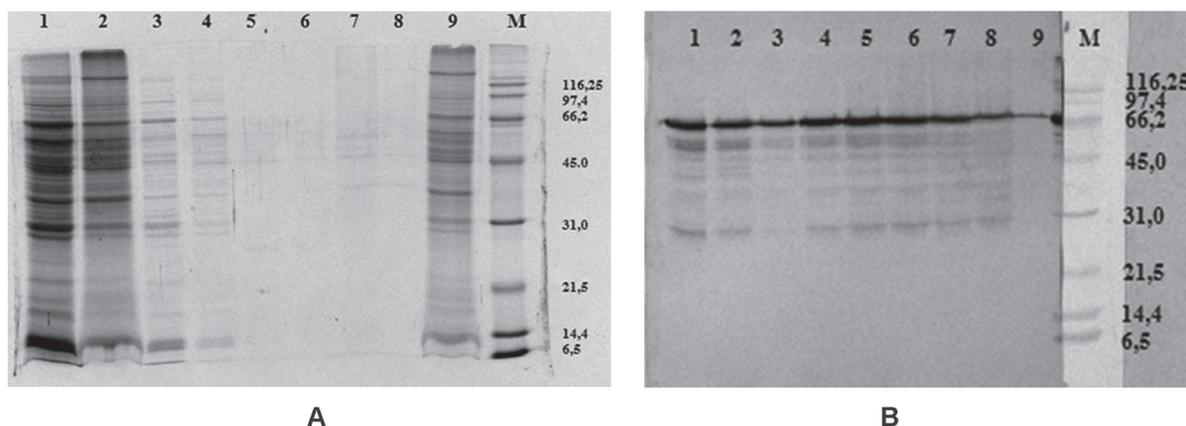


Рис. 1. Результаты аналитического электрофореза (А) и вестерн-блоттинга (В):

А – аналитический электрофорез вирусного материала, отобранного с зон 1–9 концентрации сахарозы: 1 – до 10 %; 2 – с 10 до 20 %; 3 – с 20 до 30 %; 4 – с 30 до 35 %; 5 – с 35 до 40 %; 6 – с 40 до 45 %; 7 – с 45 до 50 %; 8 – с 50 до 60 %; 9 – с 60 % до дна пробирки; М – маркер молекулярных масс Broad Range (Bio-Rad, США); В – вестерн-блоттинг разделенного по плавучей плотности осадка вирусного материала в ступенчатом градиенте сахарозы (10–60 %) с кроличьими иммуноглобулинами (разведение 1:1000): 1 – до 10 %; 2 – с 10 до 20 %; 3 – с 20 до 30 %; 4 – с 30 до 35 %; 5 – с 35 до 40 %; 6 – с 40 до 45 %; 7 – с 45 до 50 %; 8 – с 50 до 60 %; 9 – с 60 % до дна пробирки; М – маркер молекулярных масс Broad Range (Bio-Rad, США)

Fig. 1. Results of analytical electrophoresis (A) and Western blotting (B):

A – analytical electrophoresis of viral material taken from zones 1–9 of sucrose concentration: 1 – below 10 %; 2 – from 10 to 20 %; 3 – from 20 to 30 %; 4 – from 30 to 35 %; 5 – from 35 to 40 %; 6 – from 40 to 45 %; 7 – from 45 to 50 %; 8 – from 50 to 60 %; 9 – from 60 % to the bottom of the test tube; M – Broad Range molecular weight marker (Bio-Rad, USA); B – Western blotting of the viral material sediment separated by buoyant density in a stepwise sucrose gradient (10–60 %) with rabbit immunoglobulins (1:1000 dilution): 1 – below 10 %; 2 – from 10 to 20 %; 3 – from 20 to 30 %; 4 – from 30 to 35 %; 5 – from 35 to 40 %; 6 – from 40 to 45 %; 7 – from 45 to 50 %; 8 – from 50 to 60 %; 9 – from 60 % to the bottom of the test tube; M – Broad Range molecular weight marker (Bio-Rad, USA)

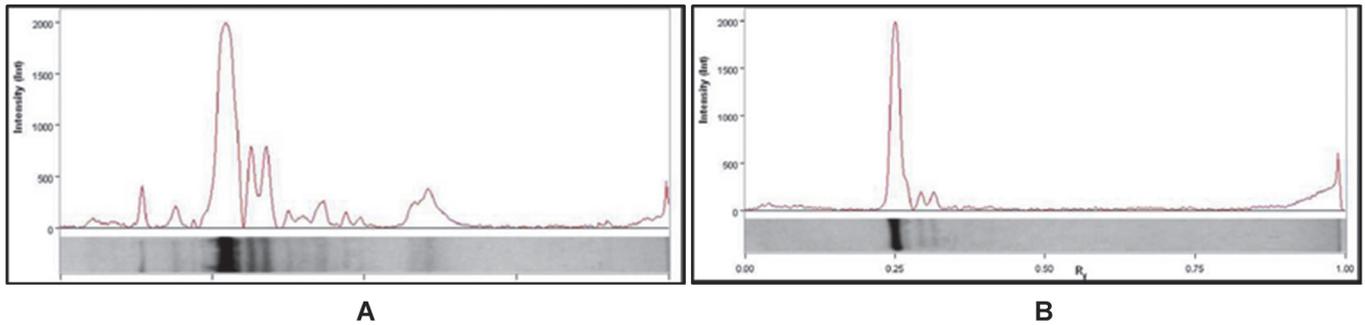


Рис. 2. Вестерн-блоттинг супернатанта фазового преципитата с кроличьими иммуноглобулинами, выделенными из гипериммунной сыворотки, полученной против производственного штамма вируса бешенства «Овечий» ГНКИ (коллекция ФЦТРБ-ВНИВИ): **A** – исходный вирусный материал; **B** – супернатант экстракта средней фазы

Fig. 2. Western blotting of the supernatant of the phase precipitate with rabbit immunoglobulins isolated from hyperimmune serum obtained against the production strain of the rabies virus “Ovine” GNKI (collection of the FCTRBS-ARRVI): **A** – original viral material; **B** – supernatant of the middle phase extract

блоттинга с использованием кроличьих иммуноглобулинов, выделенных из гипериммунных сывороток, полученных против производственного штамма вируса бешенства «Овечий» ГНКИ (коллекция ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ») представлены на рис. 2.

В материале после фазового концентрирования определяются основной гликопротеин (67 кДа) и два пика с молекулярными массами 65 и 60 кДа, представляющие собой гликопротеины различной олигомеризации трансмембранных и цитоплазматических доменов. По всей видимости, это связано со свойствами сульфатных анионов, вызывающих в растворе белков конформационные изменения. На основании изучения серологической активности определены три антигена: один мажорный и два минорных, которые показали высокую специфичность. По сравнению с исходным вирусным материалом (рис. 2, A) очевидна эффективность использования метода трехфазной очистки.

Гель-фильтрационная хроматография. Анализ профиля белков. Материал после трехфазного концентрирования был разделен по молекулярным массам методом гель-фильтрации, результаты которой представлены на рис. 3.

Профиль элюции представлен двумя пиками, обозначенными № 1 и № 2 соответственно. Электрофоретический анализ пика № 1 в ПААГ показал, что гликопротеин, степень очистки которого составила >90 %, являлся мономером, представляющим одну четкую полосу молекулярной массой около 67 кДа; чистота и мономерность пика № 2 была аналогичной, однако концентрация – в 4–5 раз меньше. Фракционированный материал также проанализирован методом вестерн-блоттинга с использованием кроличьих иммуноглобулинов, очищенных по ранее описанной методике [27, 30]. Результаты представлены на рис. 4.

Выделенный гликопротеин представляет собой мономерный препарат с молекулярной массой 67 кДа, по серологическим характеристикам имеет иммунодоминантную активность с антирабическими иммуноглобулинами и не реагирует с отрицатель-

ными и гетерологичными иммуноглобулинами кролика. Олигомеры гликопротеина 67 кДа после трехфазовой очистки и концентрирования образовывали едва заметные полосы – реплики, соответствующие молекулярным массам 60 и 65 кДа.

С целью усовершенствования протокола препаративного выделения и наработки очищенного гликопротеина вируса бешенства нами испытано последовательное сочетание методик зонального ультрацентрифугирования, трехфазового концентрирования и гель-фильтрации. В результате использования процедуры трехфазового концентрирования получены высокоактивные антигены вируса бешенства, сопоставимые по чистоте и активности с антигенами, полученными после гель-фильтрации.

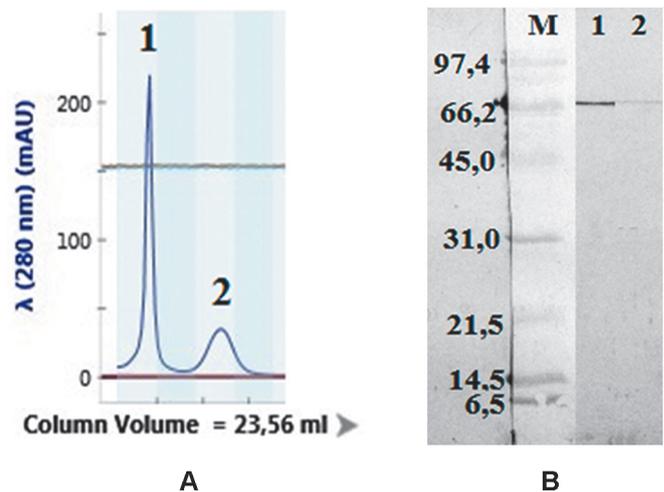


Рис. 3. Результат фракционирования вирусного материала: **A** – гистограмма гель-фильтрации (по оси абсцисс показано количество элюирующего буфера, прошедшего через колонку, по оси ординат – оптическая плотность, выраженная в единицах оптической плотности (OU) при длине волны 280 нм); **B** – вестерн-блоттинг: трек 1 – элюат № 1; трек 2 – элюат № 2; M – маркер молекулярных масс Broad Range (Bio-Rad, США)

Fig. 3. Result of viral material fractionation: **A** – gel filtration histogram (the abscissa shows the amount of elution buffer that passed through the column, the ordinate shows the optical density expressed in units of optical density (OU) at a wavelength of 280 nm); **B** – Western blotting: track 1 – eluate No. 1; track 2 – eluate No. 2; M – Broad Range molecular weight marker (Bio-Rad, USA)

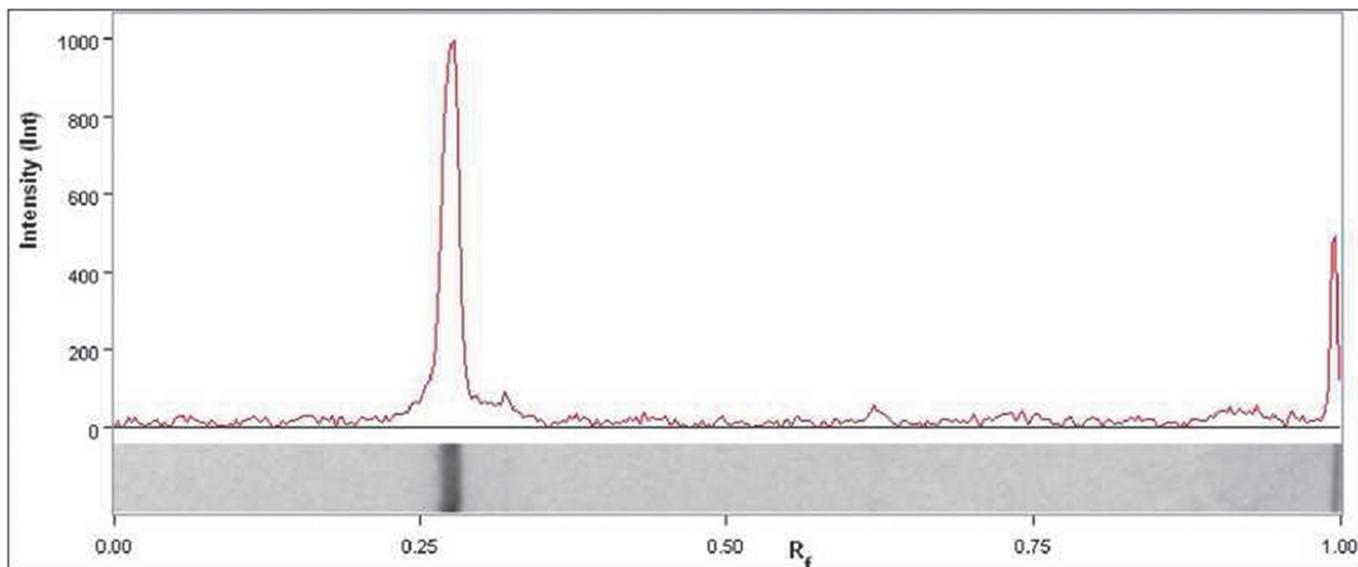


Рис. 4. Вестерн-блоттинг гликопротеиновой фракции после гель-фильтрации

Fig. 4. Western blotting of the glycoprotein fraction after gel filtration

На основании изучения серологической активности охарактеризованы три антигена: один мажорный и два минорных, которые показали высокую специфичность. Данные антигены представлены основным гликопротеином G (67 кДа) и двумя минорными полипептидами. Полученные результаты демонстрируют высокую степень чистоты выделенного гликопротеина и подтверждают его антигенную специфичность.

Полученные результаты являются важными для формирования технологических регламентов по наработке гликопротеина вируса бешенства. В соответствии с поставленными задачами упрощения процедуры получения очищенного гликопротеина без потери его антигенных и иммунохимических свойств возможно аргументированно исключить процесс гель-фильтрации. Кроме того, метод трехфазной экстракции совместим с другими методами, обладает преимуществом сочетания концентрирования и очистки за один-два этапа с минимальными трудозатратами.

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

Список литературы

1. Fooks A.R., Shipley R., Markotter W., Tordo N., Freuling C.M., Müller T., McElhinney L.M., Banyard A.C., Rupprecht C.E. Renewed public health threat from emerging lyssaviruses. *Viruses*. 2021; 13(9):1769. DOI: 10.3390/v13091769.
2. Elmgren L.D., Nadin-Davis S.A., Muldoon F.T., Wandeler A.I. Diagnosis and analysis of a recent case of human rabies in Canada. *Can. J. Infect. Dis.* 2002; 13(2):129–33. DOI: 10.1155/2002/235073.
3. Saengseesom W., Mitmoonpitak C., Kasempimolporn S., Sitprija V. Real-time PCR analysis of dog cerebrospinal fluid and saliva samples for ante-mortem diagnosis of rabies. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*. 2007; 38(1):53–7.
4. Shulpin M.I., Nazarov N.A., Chupin S.A., Korennoy F.I., Metlin A.Ye., Mischenko A.V. Rabies surveillance in the Russian Federation. *Rev. Sci. Tech.* 2018; 37(2):483–95. DOI: 10.20506/rst.37.2.2817.

5. Hicks D.J., Fooks A.R., Johnson N. Developments in rabies vaccines. *Clin. Exp. Immunol.* 2012; 169(3):199–204. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2012.04592.x.
6. Mani R.S., Madhusudana S.N. Laboratory diagnosis of human rabies: recent advances. *Sci. World J.* 2013; 2013:569712. DOI: 10.1155/2013/569712.
7. Fontana D., Kratje R., Etcheverrigaray M., Prieto C. Rabies virus-like particles expressed in HEK293 cells. *Vaccine*. 2014; 32(24):2799–804. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.02.031.
8. Kang H., Qi Y., Wang H., Zheng X., Gao Y., Li N., Yang S., Xia X. Chimeric rabies virus-like particles containing membrane-anchored GM-CSF enhances the immune response against rabies virus. *Viruses*. 2015; 7(3):1134–52. DOI: 10.3390/v7031134.
9. Gaudin Y., Ruigrok R.W., Tuffereau C., Knossow M., Flamand A. Rabies virus glycoprotein is a trimer. *Virology*. 1992; 187(2):627–32. DOI: 10.1016/0042-6822(92)90465-2.
10. Morimoto K., Foley H.D., McGettigan J.P., Schnell M.J., Dietzschold B. Reinvestigation of the role of the rabies virus glycoprotein in viral pathogenesis using a reverse genetics approach. *J. Neurovirol.* 2000; 6(5):373–81. DOI: 10.3109/13550280009018301.
11. Li C., Zhang H., Ji L., Wang X., Wen Y., Li G., Fu Zh.F., Yang Y. Deficient incorporation of rabies virus glycoprotein into virions enhances virus-induced immune evasion and viral pathogenicity. *Viruses*. 2019; 11(3):218. DOI: 10.3390/v11030218.
12. Schnee M., Vogel A.B., Voss D., Petsch B., Baumhof P., Kramps T., Stütz L. An mRNA vaccine encoding rabies virus glycoprotein induces protection against lethal infection in mice and correlates of protection in adult and newborn pigs. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(6):e0004746. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004746.
13. Ramya R., Mohana Subramanian B., Sivakumar V., Senthilkumar R.L., Sambasiva Rao K.R.S., Srinivasan V.A. Expression and solubilization of insect cell-based rabies virus glycoprotein and assessment of its immunogenicity and protective efficacy in mice. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(10):1673–9. DOI: 10.1128/CVI.05258-11.
14. Osakada F., Callaway E.M. Design and generation of recombinant rabies virus vectors. *Nat. Protoc.* 2013; 8(8):1583–601. DOI: 10.1038/nprot.2013.094.
15. Sokol F., Stancek D., Koprowski H. Structural proteins of rabies virus. *J. Virol.* 1971; 7(2):241–9. DOI: 10.1128/JVI.7.2.241-249.1971.
16. Koser M.L., McGettigan J.P., Tan G.S., Smith M.E., Koprowski H., Dietzschold B., Schnell M.J. Rabies virus nucleoprotein as a carrier for foreign antigens. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2004; 101(25):9405–10. DOI: 10.1073/pnas.0403060101.
17. Masatani T., Ito N., Ito Yu., Nakagawa K., Abe M., Yamaoka S., Okadera K., Sugiyama M. Importance of rabies virus nucleoprotein in viral evasion of interferon response in the brain. *Microbiol Immunol.* 2013; 57(7):511–7. DOI: 10.1111/1348-0421.12058.
18. Faber M., Pulmanusahakul R., Hodawadekar S.S., Spitsin S., McGettigan J.P., Schnell M.J., Dietzschold B. Overexpression of the Rabies virus glycoprotein results in enhancement of apoptosis

and antiviral immune response. *J. Virol.* 2002; 76(7):3374–81. DOI: 10.1128/jvi.76.7.3374-3381.2002.

19. Gupta P.K., Sharma S., Walunj S.S., Chaturvedi V.K., Raut A.A., Patial S., Rai A., Pandey K.D., Saini M. Immunogenic and antigenic properties of recombinant soluble glycoprotein of rabies virus. *Vet. Microbiol.* 2005; 1:108(3-4):207–14. DOI: 10.1016/j.vetmic.2005.04.007.

20. Cox J.H., Dietzschold B., Schneider L.G. Rabies virus glycoprotein. II. Biological and serological characterization. *Infect. Immun.* 1977; 16(3):754–9. DOI: 10.1128/IAI.16.3.754-759.1977.

21. Dastkhosh M., Rahimi P., Haghight S., Biglari P., Howaizi N., Saghiri R., Roohandeh A. Cell culture extraction and purification of rabies virus nucleoprotein. *Jundishapur J. Microbiol.* 2014; 7(9):e11734. DOI: 10.5812/jjm.11734.

22. Smith G., Liu Y. Rabies glycoprotein virus-like particles (VLPs). 2012; WO/2012/061815.

23. Trabelsi K., Ben Zakour M., Kallel H. Purification of rabies virus produced in Vero cells grown in serum free medium. *Vaccine.* 2019; 37(47):7052–60. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.06.072.

24. Targovnik A.M., Ferrari A., Mc Callum G.J., Arregui M.B., Smith I., Bracco L.F., Alfonso V., Lopez M.G., Martinez-Solis M., Herrero S., Miranda M.V. Highly efficient production of rabies virus glycoprotein G ectodomain in Sf9 insect cells. *3 Biotech.* 2019; 9(11):385. DOI: 10.1007/s13205-019-1920-4.

25. Sokol F., Kuwert E., Wiktor T.J., Hummeler K., Koprowski H. Purification of rabies virus grown in tissue culture. *J. Virol.* 1968; 2(8):836–49. DOI: 10.1128/JVI.2.8.836-849.1968.

26. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227(5259):680–5. DOI: 10.1038/227680a0.

27. Ахмадеев Р.М., Ефимова М.А., Чернов А.Н., Мухамеджанова А.Г., Арсланова А.Ф., Шуралев Э.А., Хаертынов К.С., Никитин А.И., Макаев Х.Н. Способ получения антигена вируса бешенства для серологической диагностики. Патент РФ № 2694836. 14.12.2018, опубл. 17.07.2019. Бюл. № 20.

28. Asenjo J.A., Andrews B.A. Aqueous two-phase systems for protein separation: phase separation and applications. *J. Chromatogr. A.* 2012; 18:1238:1–10. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.03.049.

29. Gaudin Y., Ruigrok R.W., Knossow M., Flamand A. Low-pH conformational changes of rabies virus glycoprotein and their role in membrane fusion. *J. Virol.* 1993; 67(3):1365–72. DOI: 10.1128/JVI.67.3.1365-1372.1993.

30. Nadyrova A.I., Efimova M.A., Mukhamedzhanova A.G., Chernov A.N., Makaev H.N. Obtaining rabies virus purified antigen. *As. J. Pharm.* 2018; 12(4):1299–303. DOI: 10.22377/ajp.v12i04.2926.

References

1. Fooks A.R., Shipley R., Markotter W., Tordo N., Freuling C.M., Müller T., McElhinney L.M., Banyard A.C., Rupprecht C.E. Renewed public health threat from emerging lyssaviruses. *Viruses.* 2021; 13(9):1769. DOI: 10.3390/v13091769.

2. Elmgren L.D., Nadin-Davis S.A., Muldoon F.T., Wandeler A.I. Diagnosis and analysis of a recent case of human rabies in Canada. *Can. J. Infect. Dis.* 2002; 13(2):129–33. DOI: 10.1155/2002/235073.

3. Saengseesom W., Mitmoonpitak C., Kasempimolporn S., Sitprija V. Real-time PCR analysis of dog cerebrospinal fluid and saliva samples for ante-mortem diagnosis of rabies. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 2007; 38(1):53–7.

4. Shulpin M.I., Nazarov N.A., Chupin S.A., Korennoy F.I., Metlin A.Ye., Mischenko A.V. Rabies surveillance in the Russian Federation. *Rev. Sci. Tech.* 2018; 37(2):483–95. DOI: 10.20506/rst.37.2.2817.

5. Hicks D.J., Fooks A.R., Johnson N. Developments in rabies vaccines. *Clin. Exp. Immunol.* 2012; 169(3):199–204. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2012.04592.x.

6. Mani R.S., Madhusudana S.N. Laboratory diagnosis of human rabies: recent advances. *Sci. World J.* 2013; 2013:569712. DOI: 10.1155/2013/569712.

7. Fontana D., Kratje R., Etcheverrigaray M., Prieto C. Rabies virus-like particles expressed in HEK293 cells. *Vaccine.* 2014; 32(24):2799–804. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.02.031.

8. Kang H., Qi Y., Wang H., Zheng X., Gao Y., Li N., Yang S., Xia X. Chimeric rabies virus-like particles containing membrane-anchored GM-CSF enhances the immune response against rabies virus. *Viruses.* 2015; 7(3):1134–52. DOI: 10.3390/v7031134.

9. Gaudin Y., Ruigrok R.W., Tuffereau C., Knossow M., Flamand A. Rabies virus glycoprotein is a trimer. *Virology.* 1992; 187(2):627–32. DOI: 10.1016/0042-6822(92)90465-2.

10. Morimoto K., Foley H.D., McGettigan J.P., Schnell M.J., Dietzschold B. Reinvestigation of the role of the rabies virus glycoprotein in viral pathogenesis using a reverse genetics approach. *J. Neurovirol.* 2000; 6(5):373–81. DOI: 10.3109/13550280009018301.

11. Li C., Zhang H., Ji L., Wang X., Wen Y., Li G., Fu Z.H., Yang Y. Deficient incorporation of rabies virus glycoprotein into virions enhances virus-induced immune evasion and viral pathogenicity. *Viruses.* 2019; 11(3):218. DOI: 10.3390/v11030218.

12. Schnee M., Vogel A.B., Voss D., Petsch B., Baumhof P., Kramps T., Stitz L. An mRNA vaccine encoding rabies virus glycoprotein induces protection against lethal infection in mice and correlates of protection in adult and newborn pigs. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(6):e0004746. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004746.

13. Ramya R., Mohana Subramanian B., Sivakumar V., Senthilkumar R.L., Sambasiva Rao K.R.S., Srinivasan V.A. Expression and solubilization of insect cell-based rabies virus glycoprotein and assessment of its immunogenicity and protective efficacy in mice. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(10):1673–9. DOI: 10.1128/CVI.05258-11.

14. Osakada F., Callaway E.M. Design and generation of recombinant rabies virus vectors. *Nat. Protoc.* 2013; 8(8):1583–601. DOI: 10.1038/nprot.2013.094.

15. Sokol F., Stancek D., Koprowski H. Structural proteins of rabies virus. *J. Virol.* 1971; 7(2):241–9. DOI: 10.1128/JVI.7.2.241-249.1971.

16. Koser M.L., McGettigan J.P., Tan G.S., Smith M.E., Koprowski H., Dietzschold B., Schnell M.J. Rabies virus nucleoprotein as a carrier for foreign antigens. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2004; 101(25):9405–10. DOI: 10.1073/pnas.0403060101.

17. Masatani T., Ito N., Ito Yu., Nakagawa K., Abe M., Yamaoka S., Okadera K., Sugiyama M. Importance of rabies virus nucleoprotein in viral evasion of interferon response in the brain. *Microbiol Immunol.* 2013; 57(7):511–7. DOI: 10.1111/1348-0421.12058.

18. Faber M., Pulmanusahakul R., Hodawadekar S.S., Spitsin S., McGettigan J.P., Schnell M.J., Dietzschold B. Overexpression of the Rabies virus glycoprotein results in enhancement of apoptosis and antiviral immune response. *J. Virol.* 2002; 76(7):3374–81. DOI: 10.1128/jvi.76.7.3374-3381.2002.

19. Gupta P.K., Sharma S., Walunj S.S., Chaturvedi V.K., Raut A.A., Patial S., Rai A., Pandey K.D., Saini M. Immunogenic and antigenic properties of recombinant soluble glycoprotein of rabies virus. *Vet. Microbiol.* 2005; 1:108(3-4):207–14. DOI: 10.1016/j.vetmic.2005.04.007.

20. Cox J.H., Dietzschold B., Schneider L.G. Rabies virus glycoprotein. II. Biological and serological characterization. *Infect. Immun.* 1977; 16(3):754–9. DOI: 10.1128/IAI.16.3.754-759.1977.

21. Dastkhosh M., Rahimi P., Haghight S., Biglari P., Howaizi N., Saghiri R., Roohandeh A. Cell culture extraction and purification of rabies virus nucleoprotein. *Jundishapur J. Microbiol.* 2014; 7(9):e11734. DOI: 10.5812/jjm.11734.

22. Smith G., Liu Y. Rabies glycoprotein virus-like particles (VLPs). 2012; WO/2012/061815.

23. Trabelsi K., Ben Zakour M., Kallel H. Purification of rabies virus produced in Vero cells grown in serum free medium. *Vaccine.* 2019; 37(47):7052–60. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.06.072.

24. Targovnik A.M., Ferrari A., Mc Callum G.J., Arregui M.B., Smith I., Bracco L.F., Alfonso V., Lopez M.G., Martinez-Solis M., Herrero S., Miranda M.V. Highly efficient production of rabies virus glycoprotein G ectodomain in Sf9 insect cells. *3 Biotech.* 2019; 9(11):385. DOI: 10.1007/s13205-019-1920-4.

25. Sokol F., Kuwert E., Wiktor T.J., Hummeler K., Koprowski H. Purification of rabies virus grown in tissue culture. *J. Virol.* 1968; 2(8):836–49. DOI: 10.1128/JVI.2.8.836-849.1968.

26. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227(5259):680–5. DOI: 10.1038/227680a0.

27. Akhmadeev R.M., Efimova M.A., Chernov A.N., Mukhamedzhanova A.G., Arslanova A.F., Shuralev E.A., Khaerzaynov K.S., Nikitin A.I., Makaev H.N. [Method for obtaining rabies virus antigen for serological diagnostics]. Patent of the Russian Federation No. 2694836. 14.12.2018, publ. 17.07.2019. Bull. No. 20.

28. Asenjo J.A., Andrews B.A. Aqueous two-phase systems for protein separation: phase separation and applications. *J. Chromatogr. A.* 2012; 18:1238:1–10. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.03.049.

29. Gaudin Y., Ruigrok R.W., Knossow M., Flamand A. Low-pH conformational changes of rabies virus glycoprotein and their role in membrane fusion. *J. Virol.* 1993; 67(3):1365–72. DOI: 10.1128/JVI.67.3.1365-1372.1993.

30. Nadyrova A.I., Efimova M.A., Mukhamedzhanova A.G., Chernov A.N., Makaev H.N. Obtaining rabies virus purified antigen. *As. J. Pharm.* 2018; 12(4):1299–303. DOI: 10.22377/ajp.v12i04.2926.

Authors:

Efimova M.A. Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety; Nauchny Gorodok-2, Kazan, 420075, Russian Federation. Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman; 35, Siberian Tract St., Kazan, 420029, Russian Federation.

Akhmadeev R.M., Galeeva A.G., Miftakhov N.R. Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety. Nauchny Gorodok-2, Kazan, 420075, Russian Federation. E-mail: vnivi@vnivi.ru.

Valeeva A.R. Kazan State Medical Academy – affiliated branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Russian Ministry of Health. 11, Mushtari St., Kazan, 420012, Russian Federation.

Mukminov M.N. Kazan State Medical Academy – affiliated branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Russian Ministry of Health; 11, Mushtari St., Kazan, 420012, Russian Federation. Kazan (Volga Region) Federal University; 18, Kremlin St., Kazan, 420008, Russian Federation.

Khaertynov K.S. Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety; Nauchny Gorodok-2, Kazan, 420075, Russian Federation. Kazan State Medical Academy – affiliated branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Russian Ministry of Health. 11, Mushtari St., Kazan, 420012, Russian Federation.

Shuralev E.A. Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman; 35, Siberian Tract St., Kazan, 420029, Russian Federation. Kazan State Medical Academy – affiliated branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Russian Ministry of Health; 11, Mushtari St., Kazan, 420012, Russian Federation. Kazan (Volga Region) Federal University; 18, Kremlin St., Kazan, 420008, Russian Federation.

Об авторах:

Ефимова М.А. Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности; Российская Федерация, 420075, Казань, Научный городок-2. Казанская государственная академия ве-

теринарной медицины имени Н.Э. Баумана; Российская Федерация, 420029, Казань, ул. Сибирский Тракт, 35.

Ахмадеев Р.М., Галеева А.Г., Мифтахов Н.Р. Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности. Российская Федерация, 420075, Республика Татарстан, Казань, Научный городок-2. E-mail: vnivi@vnivi.ru.

Валеева А.Р. Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России. Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Муштари, 11.

Мукминов М.Н. Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»; Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Муштари, 11. Казанский (Приволжский) федеральный университет; Российская Федерация, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18.

Хаертынов К.С. Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности; Российская Федерация, 420075, Казань, Научный городок-2. Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»; Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Муштари, 11.

Шуралев Э.А. Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана; Российская Федерация, 420029, Казань, ул. Сибирский Тракт, 35. Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования»; Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Муштари, 11. Казанский (Приволжский) федеральный университет; Российская Федерация, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-94-100

УДК 616.98:578.834.1

А.В. Зайковская, А.В. Гладышева, М.Ю. Карташов, О.С. Таранов, А.С. Овчинникова,
А.В. Шиповалов, О.В. Пьянков

ИЗУЧЕНИЕ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO* БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2, ОТНОСЯЩИХСЯ К РАЗЛИЧНЫМ ГЕНЕТИЧЕСКИМ ВАРИАНТАМ

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

Цель – изучить особенности репродукции штаммов вируса SARS-CoV-2 различных генетических вариантов на культурах клеток Vero и Vero E6. **Материалы и методы.** В работе использовали штаммы вируса SARS-CoV-2, относящиеся к вариантам, вызывающим обеспокоенность (VOC), циркулирующим на территории РФ. Штаммы вируса SARS-CoV-2 депонированы в Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Эксперименты проводили на культурах клеток Vero и Vero E6. Динамику накопления инфекционного вируса определяли путем титрования образцов культуральной жидкости через 24, 48, 72, 96 часов после инфицирования (MOI – от 1 до 0,00001 ЦПД₅₀/клетку). Образование бляшек изучали на культуре клеток Vero E6 под 0,2 % агаровым покрытием. Анализ изображения и подсчет размеров бляшек проводили в графическом редакторе GIMP (GNU Image Manipulation Program). **Результаты и обсуждение.** Описана динамика накопления инфекционного вируса в культуральной жидкости в зависимости от множественности инфицирования для штаммов вируса SARS-CoV-2, относящихся к разным генетическим линиям. Показаны различия морфологии бляшек на монослое культуры клеток Vero E6 под агаровым покрытием. Вирусы SARS-CoV-2, относящиеся к генетическим вариантам альфа и дельта, демонстрируют максимальную репродукцию среди изученных штаммов (инфекционный титр – более 7 lg TCID₅₀/100мкл). Вариант омикрон под агаровым покрытием образует самые мелкие бляшки и при низкой множественности инфицирования имеет низкий уровень репродукции. Таким образом, штаммы коронавируса SARS-CoV-2, относящиеся к разным генетическим линиям, имеют существенные отличия в скорости репродукции на культуре клеток Vero и Vero E6.

Ключевые слова: коронавирус SARS-CoV-2, VOC, культура клеток Vero, культура клеток Vero E6, титр вируса, образование бляшек.

Корреспондирующий автор: Зайковская Анна Владимировна, e-mail: zaykovskaya_av@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Зайковская А.В., Гладышева А.В., Карташов М.Ю., Таранов О.С., Овчинникова А.С., Шиповалов А.В., Пьянков О.В. Изучение в условиях *in vitro* биологических свойств штаммов коронавируса SARS-CoV-2, относящихся к различным генетическим вариантам. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:94–100. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-94-100

Поступила 02.02.2022. Принята к публ. 25.02.2022.

A.V. Zaykovskaya, A.V. Gladysheva, M.Yu. Kartashov, O.S. Taranov, A.S. Ovchinnikova,
A.V. Shipovalov, O.V. P'yankov

In vitro Study of Biological Properties of SARS-CoV-2 Coronavirus Strains Related to Various Genetic Variants

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

Abstract. The aim of the research was to study reproduction features of SARS-CoV-2 coronavirus strains of various genetic lines on Vero and Vero E6 cell culture. **Materials and methods.** The SARS-CoV-2 virus strains related to the variants of concern (VOC) circulating in the territory of the Russian Federation were used in the research. The strains of the SARS-CoV-2 virus were deposited in the State Collection of Pathogens of Viral Infections and Rickettsioses at the FBIS SSC VB “Vector” of the Rospotrebnadzor. The experiments were carried out on Vero and Vero E6 cell cultures. The dynamics of infectious virus accumulation was determined by titration of culture fluid samples 24, 48, 72, 96 hours after infection (MOI – from 1 to 0,00001 CPE₅₀/cell). Plaque formation was studied on Vero E6 cell culture under 0.2 % agar coating. Image analysis and plaque size calculation were performed using GIMP (GNU Image Manipulation Program). **Results and discussion.** The study describes the dynamics of accumulation of infectious virus in the culture fluid depending upon multiplicity of infection for the strains of SARS-CoV-2 virus belonging to different genetic lines. Differences in the morphology of plaques on the monolayer of Vero E6 cell culture under agar coating are shown. SARS-CoV-2 virus strains related to Alfa and Delta VOC demonstrate maximum reproduction rate among the studied strains (infectious titer is higher than 7 lg TCID₅₀/100μl). Omicron VOC forms small plaques under agar coating and at a low multiplicity of infection has a low reproduction rate. Thus, SARS-CoV-2 virus strains belonging to different genetic lines have significant differences in the rate of reproduction on Vero and Vero E6 cell culture.

Key words: SARS-CoV-2 coronavirus, VOC, Vero cell culture, Vero E6 cell culture, virus titer, plaque formation.

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

Corresponding author: Anna V. Zaykovskaya, e-mail: zaykovskaya_av@vector.nsc.ru.

Citation: Zaykovskaya A.V., Gladysheva A.V., Kartashov M.Yu., Taranov O.S., Ovchinnikova A.S., Shipovalov A.V., P'yankov O.V. *In vitro* Study of Biological Properties of SARS-CoV-2 Coronavirus Strains Related to Various Genetic Variants. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:94–100. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-94-100

Received 02.02.2022. Accepted 25.02.2022.

Zaykovskaya A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0450-5212>
Gladysheva A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7396-3954>
Kartashov M.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7857-6822>
Taranov O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6746-8092>

Ovchinnikova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1745-7643>
Shipovalov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1201-8307>
P'yankov O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3340-8750>

На сегодняшний день в мире зарегистрировано более 418 млн случаев COVID-19, из них 5,9 млн – с летальным исходом. В России число заболевших, выявленных за сутки, стремительно растет в результате распространения нового генетического варианта вируса SARS-CoV-2 омикрон, на начало 2022 г. их число превысило 15 млн [1].

Новый коронавирус SARS-CoV-2, как и большинство РНК-содержащих вирусов, при адаптации к новым хозяевам склонен к генетической эволюции. Частое появление мутаций в геноме приводит к возникновению вариантов, которые могут иметь характеристики, отличные от предковых штаммов [2].

Варианты, ответственные за тяжелое течение заболевания, снижение эффективности лечения, характеризующиеся повышенной трансмиссивностью и рядом других свойств, вызывающих обеспокоенность, получили название VOC (Variant of Concern). На данный момент Всемирная организация здравоохранения выделяет пять основных VOC: альфа (линия B.1.1.7), который впервые выделен в Великобритании [3–4], бета (линия B.1.351) – в Южной Африке [5], гамма (линия B.1.1.28.1 или P.1) – в Бразилии [6–8], дельта (линия B.1.617.2) – в Индии [9], омикрон (линия B.1.1.529) – в Южной Африке совсем недавно [10]. Каждый из генетических вариантов VOC имеет ключевые мутации, которые оказывают влияние на биологические свойства вируса [11].

Многие из аминокислотных замен, обнаруженных у VOC, расположены в рецептор-связывающем домене (receptor-binding domain, RBD) S-белка вируса SARS-CoV-2 [12]. Вариант альфа (B.1.1.7) из 17 мутаций в вирусном геноме 8 (69–70del, 144 del, N501Y, A570D, P681H, T716I, S982A, D1118H) имеет в S-белке. Вариант бета (B.1.351) включает 9 замен (L18F, D80A, D215G, R246I, K417N, E484K, N501Y, D614G и A701V) в S-белке, из которых 3 (K417N, E484K и N501Y) расположены в RBD. Вариант гамма (B.1.1.28) содержит 11 мутаций в S-белке (L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, H655Y, T1027I, V1176, K417T, E484K и N501Y), из них 3 (L18F, K417N, E484K) расположены в RBD. Вариант дельта (B.1.617.2) несет 10 аминокислотных замен (T19R, (G142D*), 156del, 157del, R158G, L452R, T478K, D614G, P681R, D950N) в S-белке. На юге Африки 26 ноября 2021 г. впервые выявлен новый, имеющий наибольшее количество мутаций вариант вируса SARS-CoV-2, который получил название омикрон. Данные анализа его генома показали наличие более 30 генетических изменений в S-белке вируса.

Использование молекулярно-генетических методов исследования вирусов, таких как секвенирование, позволяет быстро регистрировать вновь возникающие генетические линии вируса SARS-CoV-2

и картировать мутации. Однако для изучения биологических свойств вновь выявляемых генетических вариантов необходимо также использовать классические вирусологические способы их индикации и идентификации. Клеточные культуры являются наглядной моделью для изучения биологии вируса и особенностей взаимодействия с клеткой хозяина в условиях *in vitro*. Многие скрининговые исследования возбудителя COVID-19 проведены на клеточных линиях почки африканской зеленой мартышки Vero E6 и Vero-CCL81, поскольку они экспрессируют большое количество рецептора ACE2 [13–14]. Возникновение и накопление мутаций в геноме коронавируса приводят к изменению его биологических свойств. Особенности репродукции на культурах клеток являются одной из важных характеристик штамма изучаемого вируса.

Целью настоящей работы являлось изучение особенностей репродукции штаммов вируса SARS-CoV-2 различных генетических вариантов в культуре клеток Vero и Vero E6. Исследование проводили путем определения динамики накопления инфекционного вируса в культуральной жидкости в зависимости от множественности инфицирования и анализа морфологии бляшек.

Материалы и методы

Культуры клеток. Исследования проводили на линии клеток Vero и Vero E6 (клетки эпителия почки африканской зеленой мартышки), полученных из коллекции культур клеток ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Клетки культивировали в среде DMEM (Gibco, США) с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, США) и комплексного антибиотика (Gibco, США) в атмосфере 5 % CO₂ при температуре 37 °C. В качестве поддерживающей среды при культивировании вируса также использовали DMEM, но с добавлением 2 % эмбриональной сыворотки.

Вирусы. В работе использовали штаммы коронавируса, выделенные от больных на территории РФ и относящиеся к вызывающим обеспокоенность генетическим вариантам. Штаммы предварительно были наработаны на культуре клеток Vero E6, охарактеризованы и депонированы в Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций и риккетсиозов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Сведения о происхождении, принадлежности к генетическим вариантам, инфекционных титрах штаммов коронавируса, использованных в экспериментах, представлены в таблице.

Выделение изолятов вируса. Образцы носоглоточных смывов, полученные от больных COVID-19, осветляли центрифугированием, фильтровали через

Информация о штаммах коронавируса SARS-CoV-2, использованных в эксперименте
Data on SARS-CoV-2 coronavirus strains used in the experiment

Штамм коронавируса Strain of coronavirus (GISAID ID)	Место, дата выделения Site, date of isolation	Название варианта VOC (country of origin)	Генетический вариант Genetic variant	Титр (lg ЦПД50/100мкг)±m Titer (lg TCID50/100µl)±m				
				1-й пассаж 1st passage	2-й пассаж 2nd passage	3-й пассаж 3rd passage	4-й пассаж 4th passage	5-й пассаж 5th passage
hCoV-19/Australia/VIC01/2020 (EPI_ISL_406844)	Австралия, январь 2020 Australia, January 2020	не является VOC not a VOC	B	н.д. n.d.	н.д. n.d.	6,0±0,29	7,0±0,25	7,5±0,47*
hCoV-19/Russia/Omsk202118_1707/2020 (EPI_ISL_1242008)	Омск, июль 2020 Omsk, July 2020	не является VOC not a VOC	B.1.1	6,0±0,25	6,25±0,38	5,5±0,25*	н.д. n.d.	н.д. n.d.
hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020 (EPI_ISL_6565012)	Москва, декабрь 2020 Moscow, December 2020	Альфа (Великобритания) Alpha (UK)	B.1.1.7	6,5±0,0	6,75±0,25	6,75±0,25	7,2±0,38*	н.д. n.d.
hCoV-19/Russia/MOS-SAB-1502/2021 (EPI_ISL_6492245)	Москва, февраль 2021 Moscow, February 2021	Бета (Южная Африка) Beta (South Africa)	B.1.351	3,5±0,35	5,5±0,0	6,75±0,38	6,3±0,17*	н.д. n.d.
hCoV-19/Russia/SA-17620-080521/2021 (EPI_ISL_6565014)	Якутск, май 2021 Yakutsk, May 2021	Гамма (Бразилия) Gamma (Brazil)	P.1	4,75±0,17	5,5±0,38	6,3±0,17*	н.д. n.d.	н.д. n.d.
hCoV-19/Russia/PSK-2804/2021 (EPI_ISL_7338814)	Псков, апрель 2021 Pskov, April 2021	Дельта (Индия) Delta (India)	B.1.617.2	6,75±0,25	6,5±0,00	6,75±0,25	7,0±0,47*	н.д. n.d.
hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021 (EPI_ISL_8920444)	Москва, декабрь 2021 Moscow, December 2021	Омикрон (Южная Африка) Omicron (South Africa)	B.1.1.529	без ЦПД without cytopathic effect	3,5±0,25	6,0±0,17*	н.д. n.d.	н.д. n.d.

Примечание: * – пассаж и инфекционный титр штамма, использованного в исследовании; н.д. – нет данных.

Note: * – passage and infectious titer of the strain used in the study; n.d. – no data.

насадки Millex с диаметром пор 0,22 мкм (Merck Millipore, США) и высевали на монослой культуры клеток Vero и Vero E6, выращенных в культуральных флаконах площадью поверхности 25 см² (Corning, США). Инкубацию инфицированных культур клеток проводили при температуре 37 °С в течение 5 суток или до появления цитопатического действия вирусов (ЦПД). Наличие вируса в культуральной жидкости подтверждали, используя набор реагентов «Вектор-ПЦРv-2019-nCoV-RG» (ГНЦ ВБ «Вектор», Россия).

Определение титра вируса. Культуру клеток выращивали в 96-луночном культуральном планшете. После удаления ростовой среды из лунок планшета в них вносили последовательные десятикратные разведения вирусосодержащей жидкости в поддерживающей среде в трех повторах и инкубировали в течение 4 суток в атмосфере 5 % CO₂ при температуре 37 °С, после чего окрашивали. Для этого в каждую лунку планшета вносили по 100 мкл 0,2 % раствора генцианвиолета (1 г генцианвиолета растворяли в 20 мл 96 % этилового спирта, добавляли 120 мл 40 % формалина и 350 мл раствора Хенкса). Через 30 минут жидкость удаляли и планшеты промывали водой. Специфическое поражение монослоя культуры клеток в лунке учитывали как ЦПД. Расчет титра вируса проводили по формуле Рида – Менча и выражали в lg ЦПД₅₀/мл [15].

Изучение морфологии бляшек под агаровым покрытием. Монослой культуры клеток выращивали в 24-луночных культуральных планшетах. Удаляли из лунок ростовую среду, вносили инфицирующую жидкость при множественности заражения (multiplicity of infection, MOI), равной 0,001 ЦПД₅₀/клетку, для каждого штамма коронавируса. После завершения экспозиции в атмосфере 5 % CO₂ при температуре 37 °С в течение 1 часа монослой промывали однократно, затем в лунки вносили агаровое покрытие следующего состава: культуральная среда «Игла MEM с L-глутамином с двойным набором аминокислот» («Биолот», Россия) с антибиотиками 100 ЕД/мл (Antibiotic-Antimycotic; Gibco, США), 5 % эмбриональной сыворотки коров (Gibco, США), 0,2 % агара (бакто-агар; Becton Dickinson and Company, США). Культуральные планшеты инкубировали в течение 4 суток в атмосфере 5 % CO₂ при температуре 37 °С, затем окрашивали 0,2 % раствором генцианвиолета.

Динамика накопления инфекционного вируса в культуральной жидкости в зависимости от множественности инфицирования. Монослой культуры клеток выращивали в 48-луночных культуральных планшетах, инфицировали разведениями каждого штамма коронавируса при MOI от 1 до 0,00001 ЦПД₅₀/клетку в трех повторах. После экспозиции в течение 1 часа при температуре 37 °С промывали трехкратно, затем добавляли поддерживающую среду DMEM (Gibco, США) с L-глутамином, с добавлением 2 % эмбриональной телячьей сыворотки

(Gibco, США), Antibiotic-Antimycotic (Gibco, США). Через 24, 48, 72, 96 часов после инфицирования пробы культуральной жидкости из каждой лунки титровали на монослой культуры клеток.

Анализ данных. Анализ данных проводили с использованием программы Microsoft Excel, анализ изображения и подсчет размеров бляшек – с помощью графического редактора GIMP (GNU Image Manipulation Program).

Результаты и обсуждение

В работе использовано семь штаммов коронавируса SARS-CoV-2, которые выделены в разные периоды пандемии и относятся к разным генетическим вариантам. Штамм hCoV-19/Australia/VIC01/2020 (вариант B) любезно предоставлен Mike Catton (Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory, Мельбурн, Австралия) в феврале 2020 г. и использован в качестве референс-штамма. Первый подъем заболеваемости коронавирусной инфекции на территории РФ был вызван генетическим вариантом B.1.1 (не является VOC). Штамм hCoV-19/Russia/Omsk202118_1707/2020 относится к этой линии. Штаммы hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020 (B.1.1.7, альфа), hCoV-19/Russia/MOS-SAB-1502/2021 (B.1.351, бета) и hCoV-19/Russia/SA-17620-080521/2021 (B.1.1.28.1, гамма) принадлежат к VOC и характеризуются высокой трансмиссивностью, повышенными показателями смертности и вовлечением в эпидемический процесс, помимо пожилых людей, лиц более молодого возраста [3]. Вариант дельта представлен штаммом hCoV-19/Russia/PSK-2804/2021 (B.1.617.2), при заражении которым повышается тяжесть заболевания и уровень госпитализации среди заболевших [16]. Первые изоляты этой генетической линии выявлены на территории России весной 2021 г. В связи со снижением связывающей активности нейтрализующих антител, приобретенных как после заболевания более ранним вариантом вируса SARS-CoV-2, так и после вакцинации, штаммы линии дельта быстро стали доминирующими среди вновь выделяемых коронавирусов. Генетический вариант омикрон (B.1.1.529) – штамм hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021 – появился на территории России недавно, в настоящее время активно распространяется благодаря высокой скорости передачи внутри популяции.

Для первичного выделения штаммов использовали две перевиваемые культуры клеток Vero и Vero E6. Все изоляты при первом пассаже успешно культивировались. Однако при выделении штамма hCoV-19/Russia/SA-17620-080521/2021 на Vero на первом пассаже не зарегистрировано ЦПД, в то время как на Vero E6 оно было хорошо выражено. Штамм hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021 выделен на культуре клеток Vero E6, на первом пассаже ЦПД не зафиксировано. Такого рода избирательный цитопатический эффект различных гене-

тических вариантов вируса SARS-CoV-2 на клетки Vero E6 может быть ассоциирован с оксидативным стрессом, связанным со значительным снижением уровня клеточных тиолов (прежде всего восстановленной формы глутатиона), развивающимся уже в первые сутки после инфицирования клеток коронавирусом [17].

При проведении вирусологических исследований большое значение имеет получение пулов вируса с высокими инфекционными титрами. Скорость репродукции конкретного штамма вируса является важной характеристикой его биологических свойств, зависящих от изменяемой мутациями архитектуры вирусной частицы. Для оценки влияния аминокислотных замен в S-белке коронавирусов различных генетических вариантов на их взаимодействие с восприимчивой клеткой проведен эксперимент по изучению динамики накопления инфекционного вируса в культуральной жидкости в зависимости от множественности инфицирования (рис. 1). Анализируя результаты, продемонстрированные на рис. 1, можно сказать, что все приведенные в исследовании штаммы вируса SARS-CoV-2 успешно реплицируются на культуре клеток Vero E6. При больших значениях MOI вирус достаточно быстро начинает репродуцироваться в культуре клеток. Через 24 часа ЦПД визуально не определяется, через 48 часов при высокой множественности (1–0,001) достигает 80–100 %, при этом инфекционные титры резко возрастают. При 100 % повреждении монослоя клеток в дальнейшем вирус начинает терять инфекционность. При MOI, равной 0,0001–0,00001, ЦПД

проявляется позже (48–72 часа) и характеризуется очаговыми повреждениями монослоя. В данном случае инфекционные титры достигают максимальных значений к 96 часам. Согласно результатам исследований, штаммы hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020 и hCoV-19/Russia/PSK-2804/2021 нарабатываются в титрах более 7 lg ЦПД₅₀/100 мкл, что превышает значения для других штаммов. Штамм hCoV-19/Russia/Omsk202118_1707/2020 не имеет мутаций VOC, его уровень репликации сравнительно низкий. При MOI, равном 0,001 и ниже, инфекционные титры коронавируса в культуральной жидкости определяются только через 48 часов. Штамм hCoV-19/Australia/VIC01/2020 также не относится к VOC, но он прошел наибольшее число пассажей на культуре клеток, вероятно, с этим связаны высокие показатели репродукции. Динамика накопления вирусных частиц штамма hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021 отличается от таковой у остальных исследованных штаммов, так как через 96 часов при низкой множественности (0,0001 и ниже) инфекционные титры не поднимаются до максимального значения, а остаются на достаточно низком уровне.

При культивировании вируса SARS-CoV-2 под агаровым покрытием происходит формирование бляшек – специфическое очаговое повреждение монослоя клеток. На основании анализа размера очагов можно судить о скорости распространения коронавируса между соседними клетками монослойной культуры, что позволяет оценить динамику его репродукции. На рис. 2 показаны фотографии монослоя клеточной культуры Vero E6, которые получены при

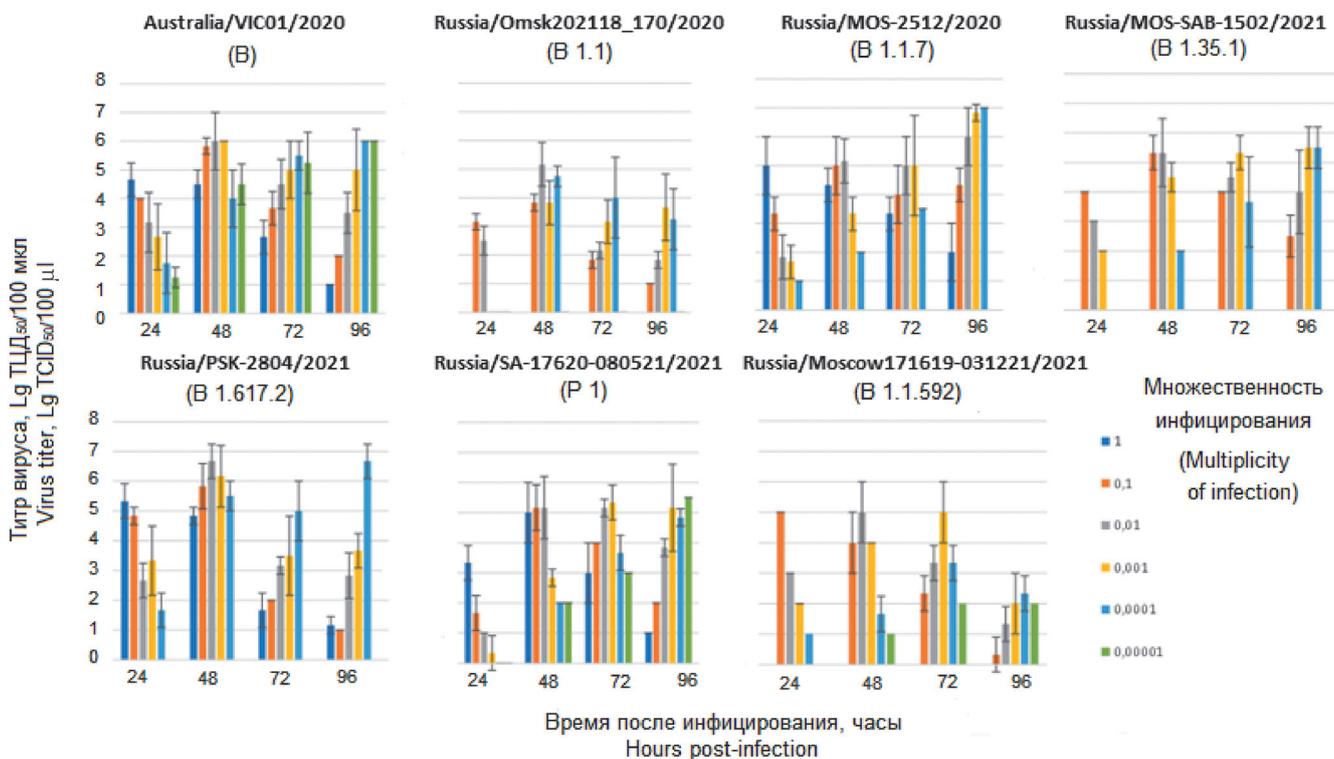


Рис. 1. Динамика репродукции вируса SARS-CoV-2 в культуре клеток Vero E6 в зависимости от множественности инфицирования
 Fig. 1. Dynamics of SARS-CoV-2 virus reproduction in Vero E6 cell culture depending on the multiplicity of infection

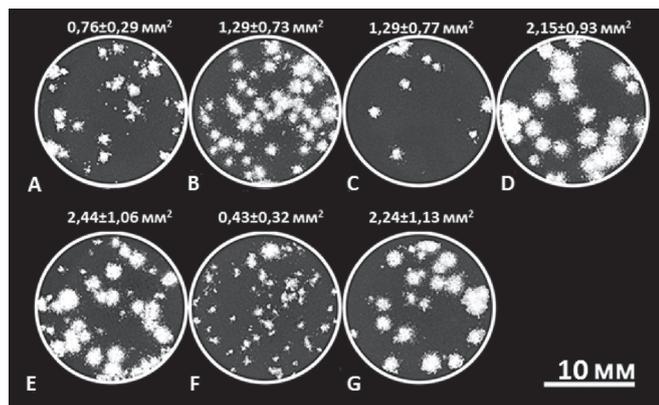


Рис. 2. Образование бляшек на монослое культуры клеток Vero E6 под агаровым покрытием на 4-е сутки после инфицирования. Над каждым рисунком указано среднее значение площади бляшек ± стандартное отклонение:

A – hCoV-19/Australia/VIC01/2020; B – hCoV-19/Russia/MOS-SAB-1502/2021; C – hCoV-19/Russia/SA-17620-080521/2021; D – hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020; E – hCoV-19/Russia/PSK-2804/2021; F – hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021; G – hCoV-19/Russia/Omsk202118-1707/2020

Fig. 2. Plaque formation on agar-coated Vero E6 cell culture monolayer at day 4 post-infection. The mean plaque area (±) standard deviation is indicated above each figure:

A – hCoV-19/Australia/VIC01/2020; B – hCoV-19/Russia/MOS-SAB-1502/2021; C – hCoV-19/Russia/SA-17620-080521/2021; D – hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020; E – hCoV-19/Russia/PSK-2804/2021; F – hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021; G – hCoV-19/Russia/Omsk202118-1707/2020

инфицировании штаммами коронавируса разных генетических линий. Через 96 часов культивирования в культуре клеток Vero E6 под агаровым покрытием штаммы, использованные в исследовании, формируют очаги повреждения монослоя разного размера, что подтверждает различие скорости репродукции генетических вариантов вируса SARS-CoV-2. Наибольший размер бляшек получен для штаммов hCoV-19/Russia/PSK-2804/2021 и hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020, наименьший – для штамма hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021.

Таким образом, в результате исследований показано, что аминокислотные замены, имеющиеся у вариантов VOC, способствуют более активной репродукции в культуре клеток Vero E6. Мутация N69del, V70del(69), общая для вариантов альфа и омикрон, индуцирует более быстрое слияние клеток и образование многоядерных клеток – синцитии. Еще одна значимая аминокислотная замена – P681H(674) – может увеличивать расщепление S1/S2 фуриноподобными протеазами, усиливать слияние мембран клеток-хозяев вируса и выявлена у вариантов альфа, дельта и омикрон. Мутация N501Y, присутствующая во всех VOC, кроме дельты, увеличивает аффинность связывания с рецептором ACE2, которая еще более усиливается при появлении дополнительной аминокислотной замены Q498R в варианте омикрон, который получает легкий доступ к клетке-хозяину [18, 19]. Сродство RBD к рецептору ACE2 также усиливают такие замены, как T478K, которая присутствует у варианта дельта, L452R – у вариантов дельта и омикрон и E484K – у бета и гамма. Более

того, варианты дельта, гамма и омикрон имеют замену K417N, приводящую к структурным изменениям S-белка, снижающим нейтрализующую активность антител [20, 21].

Результаты представленных исследований демонстрируют, что штаммы вируса SARS-CoV-2, относящиеся к разным генетическим линиям, имеют существенные отличия в скорости репродукции в культуре клеток Vero E6, о чем свидетельствуют значения инфекционных титров в образцах культуральной жидкости и размеры бляшек, образованных под агаровым покрытием. Наличие мутаций у вариантов VOC существенно повышает способность к инфицированию восприимчивых клеток для всех линий вируса SARS-CoV-2, исключая омикрон. Данный вариант вируса под агаровым покрытием образует самые мелкие бляшки и при низкой множественности инфицирования имеет низкий уровень репродукции. В генетическом варианте омикрон наблюдаются серьезные изменения биологических свойств, как было показано ранее, он имеет наибольшее количество мутаций и характеризуется более высокой трансмиссивностью по сравнению с предыдущими вариантами VOC [10], в то же время оказывает менее выраженное повреждающее действие на клетки монослойной культуры Vero E6. Таким образом, увеличение трансмиссивности на фоне снижения патогенности может косвенно свидетельствовать о постепенном снижении вирулентности вновь выявляемых штаммов SARS-CoV-2 до уровня сезонных коронавирусов.

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

References / Список литературы

1. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) dashboard. (Cited 18 Feb 2022). [Internet]. Available from: <https://covid19.who.int>.
2. Shiliaev N., Lukash T., Palchevska O., Crossman D.K., Green T.J., Crowley M.R., Frolova E.I., Frolov I. Natural and recombinant SARS-CoV-2 isolates rapidly evolve *in vitro* to higher infectivity through more efficient binding to heparan sulfate and reduced S1/S2 cleavage. *J. Virol.* 2021; 95(21):e0135721. DOI: 10.1128/JVI.01357-21.
3. Challen R., Brooks-Pollock E., Read J.M., Dyson L., Tsaneva-Atanasova K., Danon L. Risk of mortality in patients infected with SARS-CoV-2 variant of concern 202012/1: matched cohort study. *BMJ.* 2021; 372:n579. DOI: 10.1136/bmj.n579.
4. Volz E., Mishra S., Chand M., Barrett J.C., Johnson R., Geidelberg L., Hinsley W.R., Laydon D.J., Dabrera G., O’Toole A., Amato R., Ragonnet-Cronin M., Harrison I., Jackson B., Ariani C.V., Boyd O., Loman N.J., McCrone J.T., Gonçalves S., Jorgensen D., Myers R., Hill V., Jackson D.K., Gaythorpe K., Groves N., Sillitoe J., Kwiatkowski D.P.; COVID-19 Genomics UK (COG-UK) consortium, Flaxman S., Ratmann O., Bhatt S., Hopkins S., Gandy A., Rambaut A., Ferguson N.M. Assessing transmissibility of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Nature.* 2021; 593(7858):266–9. DOI: 10.1038/s41586-021-03470-x.
5. Yadav P.D., Sarkale P., Razdan A., Gupta N., Nyayanit D.A., Sahay R.R., Potdar V., Patil D.Y., Baradkar S., Kumar A., Aggarwal N., Shete A.M., Kaur H., Mohandas S. Isolation and characterization of SARS-CoV-2 Beta variant from UAE travelers. *J. Infect. Public Health.* 2021; 15(2):182–6. DOI: 10.1016/j.jiph.2021.12.011.
6. Campbell F., Archer B., Laurenson-Schafer H., Jinnai Y., Konings F., Batra N., Pavlin B., Vandemaële K., Van Kerkhove M.D., Jombart T., Morgan O., le Polain de Waroux O. Increased transmissibility and global spread of SARS-CoV-2 variants of concern as at June 2021. *Euro Surveill.* 2021; 26(24):2100509. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2021.26.24.2100509.

7. Faria N.R., Mellan T.A., Whittaker C., Claro I.M., Candido D.D.S., Mishra S., Crispim M.A.E., Sales F.C.S., Hawryluk I., McCrone J.T., Hulswit R.J.G., Franco L.A.M., Ramundo M.S., de Jesus J.G., Andrade P.S., Coletti T.M., Ferreira G.M., Silva C.A.M., Manuli E.R., Pereira R.H.M., Peixoto P.S., Kraemer M.U.G., Gaburo N. Jr., Camilo C.D.C., Hoeltgebaum H., Souza W.M., Rocha E.C., de Souza L.M., de Pinho M.C., Araujo L.J.T., Malta F.S.V., de Lima A.B., Silva J.D.P., Zauli D.A.G., Ferreira A.C.S., Schnekenberg R.P., Laydon D.J., Walker P.G.T., Schlüter H.M., Dos Santos A.L.P., Vidal M.S., Del Caro V.S., Filho R.M.F., Dos Santos H.M., Aguiar R.S., Proença-Modena J.L., Nelson B., Hay J.A., Monod M., Miscouridou X., Coupland H., Sonabend R., Vollmer M., Gandy A., Prete C.A. Jr., Nascimento V.H., Suchard M.A., Bowden T.A., Pond S.L.K., Wu C.H., Ratmann O., Ferguson N.M., Dye C., Loman N.J., Lemey P., Rambaut A., Fraiji N.A., Carvalho M.D.P.S.S., Pybus O.G., Flaxman S., Bhatt S., Sabino E.C. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science*. 2021; 372(6544):815–21. DOI: 10.1126/science.abb2644.
8. Tegally H., Wilkinson E., Giovanetti M., Iranzadeh A., Fonseca V., Giandhari J., Doolabh D., Pillay S., San E.J., Msomi N., Mlisana K., von Gottberg A., Walaza S., Allam M., Ismail A., Mohale T., Glass A.J., Engelbrecht S., Van Zyl G., Preiser W., Petruccione F., Sigal A., Hardie D., Marais G., Hsiao N.Y., Korsman S., Davies M.A., Tyers L., Mudau I., York D., Maslo C., Goedhals D., Abrahams S., Laguda-Akingba O., Alisoltani-Dehkordi A., Godzik A., Wibmer C.K., Sewell B.T., Lourenço J., Alcantara L.C.J., Kosakovsky Pond S.L., Weaver S., Martin D., Lessells R.J., Bhiman J.N., Williamson C., de Oliveira T. Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. *Nature*. 2021; 592(7854):438–43. DOI: 10.1038/s41586-021-03402-9.
9. Callaway E. Delta coronavirus variant: scientists brace for impact. *Nature*. 2021; 595(7865):17–8. DOI: 10.1038/d41586-021-01696-3.
10. Thakur V., Ratho R.K.OMICRON (B.1.1.529): A new SARS-CoV-2 variant of concern mounting worldwide fear. *J. Med. Virol.* 2021. DOI: 10.1002/jmv.27541.
11. Cascella M., Rajnik M., Aleem A., Dulebohn S.C., Napoli R.D. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19). (Cited 05 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776>.
12. Dudas G., Hong S.L., Potter B.I., Calvignac-Spencer S., Niatou-Singa F.S., Tombolomako T.B., Fuh-Neba T., Vicks U., Ulrich M., Leendertz F.H., Khan K., Huber C., Watts A., Olendraitė I., Snijder J., Wijnant K.N., Bonvin A.M.J.J., Martres P., Behillil S., Ayouba A., Maidadi M.F., Djomsi D.M., Godwe C., Butel C., Simaitis A., Gabrielaitė M., Katėnaitė M., Norvilas R., Raugaitė L., Koyaweda G.W., Kandou J.K., Jonikas R., Nasvytienė I., Zemeckienė Z., Gečys D., Tamušauskaitė K., Norkienė M., Vasiliūnaitė E., Ziogienė D., Timinskas A., Šukys M., Šarauskas M., Alzbutas G., Aziza A.A., Lusamaki E.K., Cigolo J.M., Mawete F.M., Lofiko E.L., Kingebeni P.M., Tamfum J.M., Belizaire M.R.D., Essomba R.G., Assoumou M.C.O., Mboringong A.B., Dieng A.B., Juozapaitė D., Hosch S., Obama J., Ayekaba M.O., Naumovas D., Pautieniūnas A., Rafai C.D., Vitkauskienė A., Ugenskienė R., Gedvilaitė A., Čereškevičius D., Lesauskaitė V., Žemaitis L., Griškevičius L., Baele G. Emergence and spread of SARS-CoV-2 lineage B.1.620 with variant of concern-like mutations and deletions. *Nat. Commun.* 2021; 12(1):5769. DOI: 10.1038/s41467-021-26055-8.
13. Leist S.R., Schäfer A., Martinez D.R. Cell and animal models of SARS-CoV-2 pathogenesis and immunity. *Dis. Model. Mech.* 2020; 13(9):dmm046581. DOI: 10.1242/dmm.046581.
14. Stelzer-Braid S., Walker G.J., Aggarwal A., Isaacs S.R., Yeang M., Naing Z., Ospina Stella A., Turville S.G., Rawlinson W.D. Virus isolation of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) for diagnostic and research purposes. *Pathology*. 2020; 52(7):760–3. DOI: 10.1016/j.pathol.2020.09.012.
15. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938; 27(3):493–7. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.
16. Twohig K.A., Nyberg T., Zaidi A., Thelwall S., Sinnathamby M.A., Aliabadi S., Seaman S.R., Harris R.J., Hope R., Lopez-Bernal J., Gallagher E., Charlett A., De Angelis D., Presanis A.M., Dabrera G., COVID-19 Genomics UK (COG-UK) Consortium. Hospital admission and emergency care attendance risk for SARS-CoV-2 delta (B.1.617.2) compared with alpha (B.1.1.7) variants of concern: a cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 2022; 22(1):35–42. DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00475-8.
17. Bartolini D., Stabile A.M., Bastianelli S., Giustarini D., Pierucci S., Busti C., Vacca C., Gidari A., Francisci D., Castronari R., Mencacci A., Di Cristina M., Fociaia R., Sabbatini S., Rende M., Gioiello A., Cruciani G., Rossi R., Galli F. SARS-CoV-2 infection impairs the metabolism and redox function of cellular glutathione. *Redox Biol.* 2021; 45:102041. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102041.
18. Kumar S., Thambiraja T.S., Karuppanan K., Subramaniam G. Omicron and Delta variant of SARS-CoV-2: A comparative computational study of spike protein. *J. Med. Virol.* 2021; 94(4):1641–9. DOI: 10.1002/jmv.27526.
19. Davies N.G., Abbott S., Barnard R.C., Jarvis C.I., Kucharski A.J., Munday J.D., Pearson C.A.B., Russell T.W., Tully D.C., Washburne A.D., Wenseleers T., Gimma A., Waites W., Wong K.L.M., van Zandvoort K., Silverman J.D., CMMID COVID-19 Working Group, COVID-19 Genomics UK (COG-UK) Consortium, Diaz-Ordaz K., Keogh R., Eggo R.M., Funk S., Jit M., Atkins K.E., Edmunds W.J. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science*. 2021; 372(6538):eabg3055. DOI: 10.1126/science.abg3055.
20. Altmann D.M., Boynton R.J., Beale R. Immunity to SARS-CoV-2 variants of concern. *Science*. 2021; 371(6534):1103–4. DOI: 10.1126/science.abg7404. PMID: 33707254.
21. Ferrareze P.A.G., Franceschi V.B., Mayer A.M., Caldana G.D., Zimmerman R.A., Thompson C.E. E484K as an innovative phylogenetic event for viral evolution: Genomic analysis of the E484K spike mutation in SARS-CoV-2 lineages from Brazil. *Infect. Genet. Evol.* 2021; 93:104941. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104941.

Authors:

Zaykovskaya A.V., Gladysheva A.V., Kartashov M.Yu., Taranov O.S., Ovchinnikova A.S., Shipovalov A.V., P'yankov O.V. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

Зайковская А.В., Гладышева А.В., Карташов М.Ю., Таранов О.С., Овчинникова А.С., Шиповалов А.В., Пьянков О.В. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Колцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-101-105

УДК 616.993(470.63)

О.А. Зайцева, О.А. Гнусарева, О.В. Васильева, А.С. Волынкина, Ю.В. Сирица, Ю.А. Алехина,
Т.И. Чишенюк, А.Ю. Газиева, У.М. Ашибокков, Н.А. Давыдова, Е.В. Лазаренко, Н.В. Ермолова,
А.Н. Куличенко

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКОГО МОНИТОРИНГА ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ТРАНСМИССИВНЫХ ИНФЕКЦИЙ В РЕГИОНЕ КАВКАЗСКИХ МИНЕРАЛЬНЫХ ВОД СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ В 2018–2020 гг.

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

Цель работы – оценка эпизоотологической ситуации по бактериальным трансмиссивным инфекциям в регионе Кавказских Минеральных Вод Ставропольского края в 2018–2020 гг. **Материалы и методы.** Исследовано 3494 экземпляра клещей (473 пула), 257 экземпляров мелких млекопитающих, 9 погадок хищных птиц и млекопитающих, 7 проб экскрементов мелких млекопитающих, 2 пробы воды. Исследование полевого материала осуществлялось молекулярно-генетическим, серологическим, биологическим методами. Статистический анализ результатов лабораторных исследований проводили с использованием программы Microsoft Excel 2010. Данные проанализированы картографическим методом, с применением программы QGIS 2.18. **Результаты и обсуждение.** Выявлена зараженность полевого материала (клещей) возбудителями иксодового клещевого боррелиоза (44,8 %), клещевых риккетсиозов (21,5 %), гранулоцитарного анаплазмоза человека (10,3 %), лихорадки Ку (2,7 %), туляремии (0,84 %). При этом отмечено увеличение процента проб, зараженных возбудителями боррелиоза (более чем в 3 раза), снижение данного показателя для гранулоцитарного анаплазмоза человека (в 1,5 раза) в сравнении с данными за 2010–2012 гг. Оценка зараженности клещей возбудителями лихорадки Ку и клещевых риккетсиозов в регионе ранее не проводилась. В анализируемый период установлено микст-заражение 19 пулов клещей, что свидетельствует о наличии на территории рекреационной зоны края сочетанных очагов бактериальных природно-очаговых инфекций с трансмиссивным механизмом передачи. Это обуславливает необходимость проведения профилактических мероприятий и регулярного эпизоотологического обследования региона Кавказских Минеральных Вод Ставропольского края.

Ключевые слова: трансмиссивные природно-очаговые инфекции, эпизоотологический мониторинг, иксодовый клещевой боррелиоз, лихорадка Ку, клещевые риккетсиозы, гранулоцитарный анаплазмоз человека, туляремия.

Корреспондирующий автор: Зайцева Ольга Александровна, e-mail: helga220886@mail.ru.

Для цитирования: Зайцева О.А., Гнусарева О.А., Васильева О.В., Волынкина А.С., Сирица Ю.В., Алехина Ю.А., Чишенюк Т.И., Газиева А.Ю., Ашибокков У.М., Давыдова Н.А., Лазаренко Е.В., Ермолова Н.В., Куличенко А.Н. Результаты эпизоотологического мониторинга природных очагов бактериальных трансмиссивных инфекций в регионе Кавказских Минеральных Вод Ставропольского края в 2018–2020 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 1:101–105. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-101-105

Поступила 02.08.2021. Отправлена на доработку 10.08.2021. Принята к публ. 23.08.2021.

О.А. Zaitseva, O.A. Gnusareva, O.V. Vasil'eva, A.S. Volynkina, Yu.V. Siritsa, Yu.A. Alekhina,
T.I. Chishenyuk, A.Yu. Gazieva, U.M. Ashibokov, N.A. Davydova, E.V. Lazarenko, N.V. Ermolova,
A.N. Kulichenko

Results of Epizootiological Monitoring of Natural Foci for Bacterial Vector-Borne Infections in Caucasian Mineral Waters Region of the Stavropol Territory in 2018–2020

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to assess the epizootiological situation on bacterial vector-borne infections in Caucasian Mineral Waters area of the Stavropol Territory over the period of 2018–2020. **Materials and methods.** 3494 specimens of ticks (473 pools), 257 specimens of small mammals, 9 regurgitates of birds of prey and mammals, 7 excreta samples of small mammals, and 2 water samples were tested. Laboratory research of the field material was carried out using molecular-genetic, serological, biological methods. Statistical analysis of laboratory results was conducted using Microsoft Excel 2010. The data were mapped using QGIS 2.18 software. **Results and discussion.** The study revealed that the 44.8 % of collected ticks were positive for tick-borne borreliosis, 21.5 % – for tick-borne rickettsiosis, 10.3% – for human granulocytic anaplasmosis, 2.7 % – for Q fever, 0.84 % – for tularemia. There has been an increase in the percentage of positives for tick-borne borreliosis agent samples (more than three times) and a decrease in this indicator for human granulocytic anaplasmosis (1.5 times) as compared with 2010–2012. Investigation of tick infection with the agents of Q fever and tick-borne rickettsioses has not been previously conducted in the region. During the period under review, 19 pools of ticks had mixed infection, which indicates that there are combined foci of bacterial natural-focal infections with vector-borne transmission in the recreation zone of the Stavropol Territory. This necessitates preventive measures and systematical epizootiological surveys in the Caucasian Mineral Waters region.

Key words: vector-borne natural-focal infections, epizootiological monitoring, Ixodidae tick-borne borreliosis, Q fever, tick-borne rickettsioses, human granulocytic anaplasmosis, tularemia.

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

Corresponding author: Olga A. Zaitseva, e-mail: helga220886@mail.ru.

Citation: Zaitseva O.A., Gnusareva O.A., Vasil'eva O.V., Volynkina A.S., Siritsa Yu.V., Alekhina Yu.A., Chishenyuk T.I., Gazieva A.Yu., Ashibokov U.M., Davydova N.A., Lazarenko E.V., Ermolova N.V., Kulichenko A.N. Results of Epizootiological Monitoring of Natural Foci for Bacterial Vector-Borne Infections in Caucasian Mineral Waters Region of the Stavropol Territory in 2018–2020. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:101–105. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-101-105

Received 02.08.2021. Revised 10.08.2021. Accepted 23.08.2021.

Gnusareva O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9044-1808>

Volynkina A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5554-5882>

Siritsa Yu.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9442-6966>

Gazieva A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8775-0087>

Ashibokov U.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9197-588X>

Kulichenko A.N. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Регион Кавказских Минеральных Вод (КМВ) расположен в южной части Ставропольского края. На территории КМВ находится популярный туристический район и всероссийская здравница, по своим природно-лечебным ресурсам не имеющая аналогов в России. Сочетание многообразия источников минеральных вод, наличие высококачественных лечебных грязей и уникального климата используются в лечении многих заболеваний и способствуют ежегодному росту числа людей, приезжающих для санаторно-курортного лечения из всех регионов страны и из-за рубежа. В регионе КМВ выделяют предгорную, равнинную, степную, низкогорную и среднегорную природные зоны. Разнообразие ландшафтов создает условия для формирования и поддержания природных очагов как вирусных, так и бактериальных инфекционных заболеваний, в том числе с трансмиссивным механизмом передачи. Результаты многолетних лабораторных исследований подтверждена циркуляция возбудителей таких трансмиссивных бактериальных инфекций, как иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ), туляремия [1].

На территории КМВ регистрируется спорадическая заболеваемость туляремией, лихорадкой Ку (кокциеллезом) [2]. За период с 2015 по 2019 год на рекреационную зону пришлось 60 % всех зарегистрированных в Ставропольском крае случаев ИКБ [3].

С целью мониторинга природных очагов на территории региона проводится регулярное эпизоотологическое обследование. На зараженность *Borrelia burgdorferi sensu lato* исследуются клещи рода *Ixodes*, представленные на территории КМВ видами *I. ricinus* и *I. redikorzevi*. Клещи данного рода являются основным переносчиком и резервуаром возбудителей ИКБ и широко распространены на территории лесной ландшафтной зоны стран северного полушария [4–6].

Основным резервуаром и источником *Coxiella burnetii* служат овцы, козы, крупный рогатый скот [7]. Дополнительным резервуаром и переносчиками лихорадки Ку являются иксодовые клещи родов *Ixodes*, *Dermacentor*, *Hyalomma* и др. [8, 9]. В связи с видовым многообразием переносчиков кокциеллеза на зараженность исследуются все иксодовые клещи, отбираемые в ходе эпизоотологического обследования.

Возбудителю туляремии свойственна экологическая пластичность, что обусловлено многообразием носителей и переносчиков *Francisella tularensis* и формированием стойких природных очагов [10, 11]. В связи с этим эпизоотологический мониторинг на

зараженность возбудителем туляремии включает сбор и исследование различного полевого материала (органы грызунов, погадки хищных птиц, помет млекопитающих, вода, иксодовые клещи).

Целью данной работы является оценка эпизоотологической ситуации по бактериальным природно-очаговым инфекциям с трансмиссивным механизмом передачи в регионе КМВ Ставропольского края в 2018–2020 гг.

Материалы и методы

Сбор материала осуществляли на территории Георгиевского, Минераловодского, Предгорного районов, городов Ессентуков, Железноводска, Кисловодска, Лермонтова, Пятигорска с марта по октябрь в 2018–2020 гг. Собрано 3494 экземпляра клещей (473 пула), следующих видов: *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*, *Boophilus annulatus*, *Haemaphysalis punctata*, *Hyalomma scupense*, *Ixodes redikorzevi*, *I. ricinus*, *Rhipicephalus rossicus*; 257 экземпляров мелких млекопитающих 11 видов: *Apodemus agrarius*, *Apodemus uralensis*, *Cricetulus migratorius*, *Crocidura suaveolens*, *Dryomys nitedula*, *Microtus arvalis*, *M. socialis*, *Mus musculus*, *Apodemus witherbyi*, *Ondatra zibethicus*, *Sorex volnuchini*; 5 погадок хищных птиц; 4 пробы помета хищных млекопитающих; 7 проб экскрементов мелких млекопитающих; 2 пробы воды.

Исследование клещей проводилось методом ПЦР с набором регентов ООО «ИнтерЛабСервис» (Москва). Пробы органов мелких млекопитающих исследовали биологическим методом, пробы окружающей среды – серологическим с использованием наборов реагентов: диагностикум эритроцитарный туляремийный антигенный жидкий («РНГА-Тул-Аг-СтавНИПЧИ»), диагностикум эритроцитарный туляремийный иммуноглобулиновый жидкий («РНГА-Тул-Иг-СтавНИПЧИ») производства Ставропольского противочумного института.

Статистический анализ данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2010. Картографический анализ проведен посредством программы QGIS 2.18.

Результаты и обсуждение

На зараженность возбудителями ИКБ, ГАЧ, моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ) исследовано 619 экземпляров клещей, объединенных в 87 пулов. Исследованию подлежали клещи видов

I. redikorzevi (5 пулов), *I. ricinus* (82 пула), собранные при обследовании Предгорного, Минераловодского, Георгиевского районов, городов Железноводска, Пятигорска, Кисловодска, Ессентуков.

Маркеры возбудителей ИКБ выявлены на территории Кисловодска (13), Пятигорска (9), Ессентуков (3), Железноводска (3), Лермонтова (1), Георгиевского (6), Предгорного (4) районов. Общая зараженность исследованных пулов составила 44,8 %. Клещи *I. ricinus* составили 94,9 % положительных проб, из них 78,4 % собраны на флаг, 10,8 % – с КРС, 5,4 % – с собаки, по 2,7 % – с человека и одежды, 5,1 % составили клещи *I. redikorzevi*, собранные с грызунов. Прокормителями зараженных возбудителями боррелиоза клещей являлись собака (50 %), *M. arvalis* (25 %), *A. witherbyi* (25 %).

Маркер возбудителей ГАЧ выявлен в клещах *I. ricinus* при обследовании территорий Пятигорска (6), Ессентуков (1), Георгиевского (1), Предгорного (1) районов. Зараженность пулов клещей составила 10,3 %. Из них на флаг собрано 88,9 % клещей, 11,1 % – сняты с крупного рогатого скота (КРС).

Зараженность клещей возбудителями МЭЧ в анализируемый период не установлена.

На зараженность возбудителями лихорадки Ку, клещевых риккетсиозов, туляремии исследованы все собранные в ходе обследования клещи.

Зараженность возбудителями клещевых риккетсиозов составила 21,5 %. Маркеры возбудителей выявлены при обследовании Предгорного (25), Минераловодского (22), Георгиевского (11) районов, городов Кисловодска (17), Ессентуков (10), Железноводска (9), Пятигорска (6), Лермонтова (2). Ежегодно положительные пробы выявляли на территории Железноводска, в течение двух лет при обследовании Минераловодского, Георгиевского, Предгорного районов, Кисловодска, Пятигорска, Ессентуков, однократно в г. Лермонтове. Большинство положительных проб составили пулы клещей *D. reticulatus* (47 %), 34,3 % составили пробы клещей *D. marginatus*, 12,7 % – *I. ricinus*, по 3 % – *H. punctata*, *H. scupense*. На флаг собраны 70,6 %, 20,6 % собраны с КРС, 4,9 % – с лошадей, 2,9 % – с собак, 1 % снят с одежды.

Маркеры возбудителя лихорадки Ку выявлены на территории Минераловодского (8), Предгорного (3) районов, Пятигорска (2). Общая зараженность проб клещей возбудителем лихорадки Ку составила 2,7 %. Установлена зараженность пулов клещей *D. marginatus*, *D. reticulatus* по 46,1 %, *I. ricinus* – 7,8 %. Прокормителями зараженных *C. burnetii* клещей являются КРС, собаки (по 15,4 %), 69,3% были собраны на флаг.

ДНК *F. tularensis* выявлена в 4 пробах клещей видов: *D. reticulatus* – 2 пула, *D. marginatus*, *I. redikorzevi* – по 1, собранных на территории Железноводска (2 пробы, по одной в 2018 и 2019 гг.), Кисловодска, Георгиевского района. Зараженность пу-

лов составила 0,84 %. На флаг собрано 75 % положительных проб, 1 проба (25 %) собрана с *M. socialis*.

Биологическим методом исследовано 257 экзemplяров мелких млекопитающих, возбудитель туляремии не выделен.

Методом РНГА-РНАт исследовано 18 проб окружающей среды (вода, погадки, экскременты), антиген возбудителя туляремии не выявлен.

Установлено микст-заражение 19 пулов клещей. Из них 42,2 % проб были одновременно заражены возбудителями ИКБ и клещевых риккетсиозов; 21 % – возбудителями ИКБ и ГАЧ; 15,8 % – лихорадки Ку и клещевых риккетсиозов; по 10,5 % – возбудителями ИКБ, ГАЧ, клещевых риккетсиозов и клещевых риккетсиозов, туляремии.

Таким образом, в регионе КМВ сохраняется циркуляция возбудителей трансмиссивных природно-очаговых инфекций. В сравнении с результатами исследований, проведенных в 2010–2012 гг., зараженность полевого материала *B. burgdorferi s.l.* увеличилась более чем в 3 раза (13,2 % – в 2010–2012 гг., 44,8 % – в 2018–2020 гг.), а *Anaplasma phagocytophilum*, напротив, снизилась в 1,5 раза (16,6 % – в 2010–2012 гг., 10,3 % – в 2018–2020 гг.). Оценка зараженности материала возбудителями клещевых риккетсиозов и лихорадки Ку в регионе КМВ ранее не проводилась [1]. Маркеры возбудителей ИКБ, ГАЧ, туляремии, клещевых риккетсиозов в течение анализируемого периода выявляли ежегодно. Наиболее высокая зараженность пулов клещей выявлена для возбудителей ИКБ (44,8 %) и клещевых риккетсиозов (20,5 %).

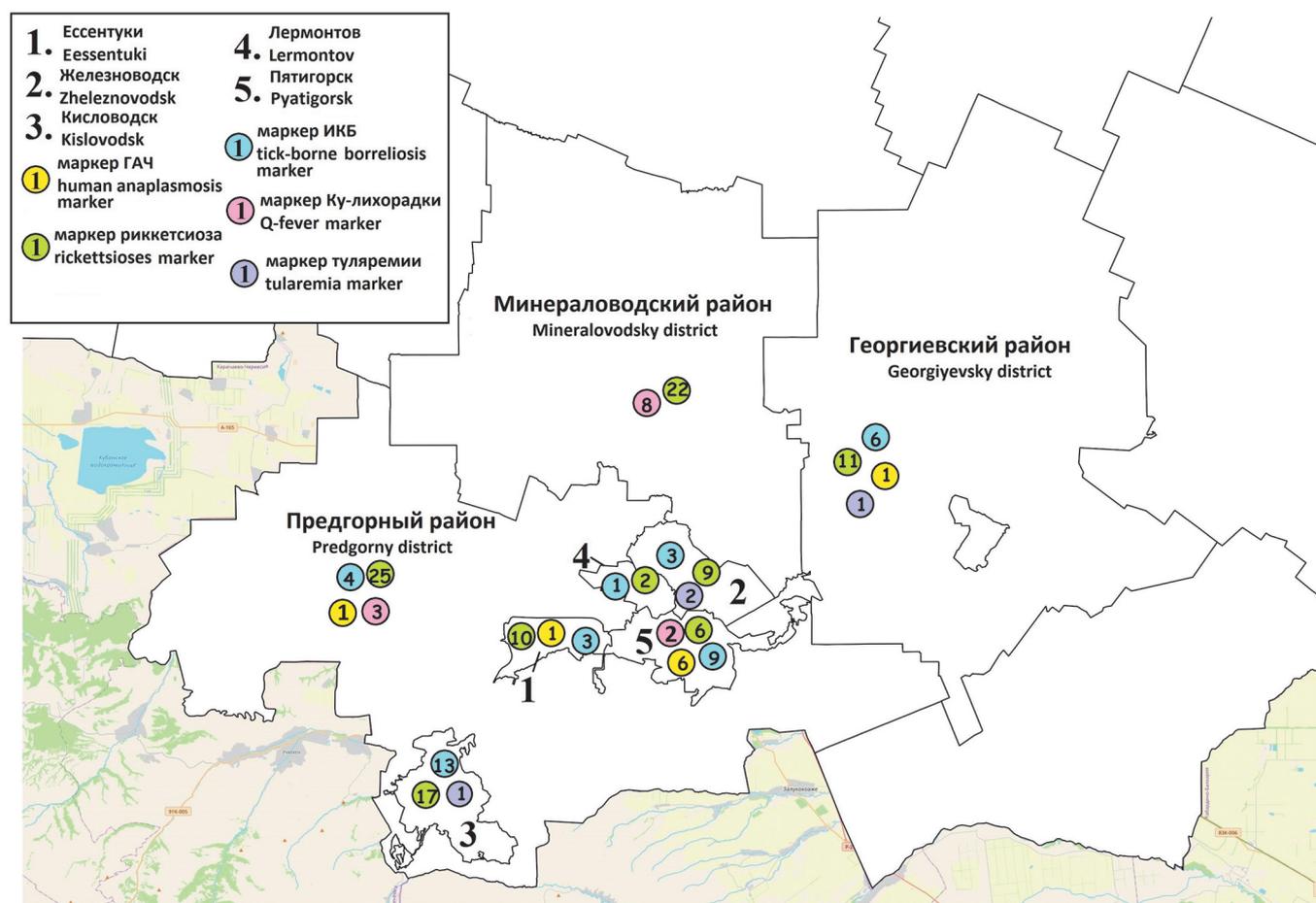
Выявленное в ходе мониторинга микст-заражение пулов клещей возбудителями инфекционных болезней свидетельствует о наличии на территории КМВ сочетанных природных очагов.

В ходе работы установлено, что возбудители инфекционных заболеваний на территории рекреационной зоны края распределены неравномерно. Наибольшее распространение, по данным исследования, получили возбудители риккетсиоза и ИКБ (рисунок).

Проведенный анализ зараженности полевого материала показал, что возбудителей ИКБ преимущественно выявляли в Кисловодске и Пятигорске, что совпадает с данными о заболеваемости людей ИКБ в регионе [3]; ГАЧ – в Пятигорске; клещевых риккетсиозов – в Предгорном, Минераловодском районах, Кисловодске; лихорадки Ку – в Минераловодском районе (таблица).

В качестве прокормителей зараженных клещей в регионе выступают КРС, лошади, собаки, мелкие мышевидные грызуны *M. arvalis*, *M. socialis*, *A. witherbyi*. Участие сельскохозяйственных животных в эпизоотическом процессе создает условия для заражения возбудителями природно-очаговых инфекций лиц, чья деятельность связана с животноводством.

Таким образом, проведенное эпизоотологическое обследование в регионе КМВ Ставропольского



Выявление маркеров возбудителей трансмиссивных природно-очаговых инфекций в регионе КМВ Ставропольского края
 Detection of agent markers of vector-borne natural-focal infections in the CMW region of the Stavropol Territory

Данные зараженности полевого материала возбудителями трансмиссивных природно-очаговых инфекций в регионе КМВ Ставропольского края (по административным территориям)

Data on the contamination of field material with pathogens of transmissible natural-focal infections in the CMW region of the Stavropol Territory (by administrative territories)

Административная территория Administrative territory	Зараженность полевого материала возбудителями природно-очаговых инфекций от общего числа положительных проб, % Infection of field material with pathogens of natural-focal infections out of the total number of positive samples, %				
	Иксодовый клещевой боррелиоз Tick-borne borreliosis	Гранулоцитарный анаплазмоз человека Human granulocytic anaplasmosis	Клещевой риккетсиоз Tick-borne rickettsiosis	Лихорадка Ку Q fever	Туляремия Tularemia
Ессентуки Essentuki	7,7	11,1	9,8	–	–
Железноводск Zheleznovodsk	7,7	–	8,8	–	50
Кисловодск Kislovodsk	33,3	–	16,7	–	25
Лермонтов Lermontov	2,6	–	2	–	–
Пятигорск Pyatigorsk	2,3	66,7	5,9	15,4	–
Георгиевский район Georgiyevsky district	15,4	11,1	10,8	–	25
Минераловодский район Mineralovodsky district	–	–	21,5	61,5	–
Предгорный район Predgorny district	10,3	11,1	24,5	23,1	–

края позволило установить циркуляцию следующих возбудителей бактериальных природно-очаговых трансмиссивных инфекций: клещевых риккетсиозов, лихорадки Ку, ИКБ, ГАЧ, туляремии, – а также отметить динамику к повышению зараженности клещей *B. burgdorferi s.l.*

Исходя из вышеизложенного, на территории курортного региона КМВ актуально проведение регулярного эпизоотологического мониторинга, а также профилактических мероприятий, направленных на снижение численности иксодовых клещей на территориях, массово посещаемых местными жителями и отдыхающими, повышение грамотности населения в вопросах профилактики инфекций, передающихся клещами.

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

Список литературы

1. Василенко Н.Ф., Ермаков А.В., Малецкая О.В., Семенко О.В., Куличенко А.Н. Циркуляция возбудителей трансмиссивных природно-очаговых инфекций в регионе Кавказских Минеральных Вод Ставропольского края. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2014; 25:66–8.
2. Василенко Н.Ф., Ермаков А.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая обстановка по трансмиссивным природно-очаговым инфекциям в регионе Кавказских Минеральных Вод. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; 3:16–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-3-16-19.
3. Зайцева О.А., Прислегина Д.А., Котенев Е.С., Дубянский В.М., Платонов А.Е., Куличенко А.Н. Эпидемическая ситуация по иксодовому клещевому боррелиозу на территории Кавказских Минеральных Вод Ставропольского края (2015–2019 гг.). *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2021; 11(1):12–7. DOI: 10.18565/epidem.2021.1.12-17.
4. Gray J.S., Kahl O., Lane R.S., Levin M.L., Tsao J.I. Diapause in ticks of the medically important *Ixodes ricinus* species complex. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016; 7(5):992–1003. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2016.05.006.
5. Steere A.C., Franc S., Wormser G.P., Hu L.T., Branda J.A., Hovius J.W.R., Li X., Mead P.S. Lyme borreliosis. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2017; 3:17062. DOI: 10.1038/nrdp.2017.62.
6. Pukhovskaya N.M., Morozova O.V., Vysochina N.P., Belozeroва N.B., Ivanov L.I. Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Borrelia miyamotoi* in ixodid ticks in the Far East of Russia. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl*. 2019; 8:192–202. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2019.01.005.
7. Eldin C., Mélenotte C., Mediannikov O., Ghigo E., Million M., Edouard S., Mege J.L., Maurin M., Raoult D. From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change. *Clin. Microbiol. Rev*. 2017; 30(1):115–90. DOI: 10.1128/CMR.00045-16.
8. Mediannikov O., Fenollar F., Socolovschi C., Diatta G., Bassene H., Molez J.F., Sokhna C., Trape J.F., Raoult D. *Coxiella burnetii* in humans and tick in rural Senegal. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2010; 4(4):e654. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000654.
9. Berri M., Souriau A., Crosby M., Rodolakis A. Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of *Coxiella* abortion in sheep flock. *Vet. Microbiol*. 2002; 85(1):55–60. DOI: 10.1016/s0378-1135(01)00480-1.
10. Кудрявцева Т.Ю., Мокриевич А.Н. Туляремия в мире. *Инфекция и иммунитет*. 2021; 11(2):249–64. DOI: 10.15789/2220-7619-TTW-1380.
11. Jones B.D., Faron M., Rasmussen J.A., Fletcher J.R. Uncovering the components of the *Francisella tularensis* virulence stealth strategy. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2014; 4:32. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00032.

References

1. Vasilenko N.F., Ermakov A.V., Maletskaya O.V., Semenko O.V., Kulichenko A.N. [Circulation of pathogens of transmissible natural-focal infections in Caucasian Mineral Waters of Stavropol Region]. *Dal'nevostochny Zhurnal Infektsionnoi Patologii [The Far Eastern Journal of Infectious Pathology]*. 2014; (25):66–8.
2. Vasilenko N.F., Ermakov A.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. [Epidemiological situation on vector-borne natural-focal infections in the territory of Caucasian Mineral Waters]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2014; (3):16–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-3-16-19.
3. Zaitseva O.A., Prislegina D.A., Kotenev E.S., Dubyansky V.M., Platonov A.E., Kulichenko A.N. [The epidemic situation on Ixodidae tick-borne borreliosis in the region of the Caucasian Mineral Waters of the Stavropol Territory (2015–2019)]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. Aktual'nye Voprosy [Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items]*. 2021; 11(1):12–17. DOI: 10.18565/epidem.2021.1.12-17.
4. Gray J.S., Kahl O., Lane R.S., Levin M.L., Tsao J.I. Diapause in ticks of the medically important *Ixodes ricinus* species complex. *Ticks Tick Borne Dis*. 2016; 7(5):992–1003. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2016.05.006.
5. Steere A.C., Franc S., Wormser G.P., Hu L.T., Branda J.A., Hovius J.W.R., Li X., Mead P.S. Lyme borreliosis. *Nat. Rev. Dis. Primers*. 2017; 3:17062. DOI: 10.1038/nrdp.2017.62.
6. Pukhovskaya N.M., Morozova O.V., Vysochina N.P., Belozeroва N.B., Ivanov L.I. Prevalence of *Borrelia burgdorferi sensu lato* and *Borrelia miyamotoi* in ixodid ticks in the Far East of Russia. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl*. 2019; 8:192–202. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2019.01.005.
7. Eldin C., Mélenotte C., Mediannikov O., Ghigo E., Million M., Edouard S., Mege J.L., Maurin M., Raoult D. From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change. *Clin. Microbiol. Rev*. 2017; 30(1):115–90. DOI: 10.1128/CMR.00045-16.
8. Mediannikov O., Fenollar F., Socolovschi C., Diatta G., Bassene H., Molez J.F., Sokhna C., Trape J.F., Raoult D. *Coxiella burnetii* in humans and tick in rural Senegal. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2010; 4(4):e654. DOI: 10.1371/journal.pntd.0000654.
9. Berri M., Souriau A., Crosby M., Rodolakis A. Shedding of *Coxiella burnetii* in ewes in two pregnancies following an episode of *Coxiella* abortion in sheep flock. *Vet. Microbiol*. 2002; 85(1):55–60. DOI: 10.1016/s0378-1135(01)00480-1.
10. Kudryavtseva T.Yu., Mokrievich A.N. [Tularemia around the world]. *Infektsiya i Immunitet [Infection and Immunity]*. 2021; 11(2):249–64. DOI: 10.15789/2220-7619-TTW-1380.
11. Jones B.D., Faron M., Rasmussen J.A., Fletcher J.R. Uncovering the components of the *Francisella tularensis* virulence stealth strategy. *Front. Cell. Infect. Microbiol*. 2014; 4:32. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00032.

Authors:

Zaitseva O.A., Gmusareva O.A., Vasil'eva O.V., Volynkina A.S., Siritsa Yu.V., Alekhina Yu.A., Chishenyuk T.I., Gazieva A.Yu., Ashibokov U.M., Davydova N.A., Lazarenko E.V., Ermolova N.V., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Зайцева О.А., Гнусарева О.А., Васильева О.В., Волынкина А.С., Сирица Ю.В., Алехина Ю.А., Чишениук Т.И., Газиева А.Ю., Ашибокоев У.М., Давыдова Н.А., Лазаренко Е.В., Ермолова Н.В., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт Российской Федерации, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-106-112

УДК 616.98:579.841.11

И.Б. Захарова, П.Р. Чирсков, Д.В. Устинов, А.Д. Викторов, И.М. Шпак, А.В. Топорков,
Д.В. Викторов**ВАРИАЦИИ АДАПТИВНОГО ОТВЕТА *BURKHOLDERIA PSEUDOMALLEI*
НА ХОЛОДОВОЙ СТРЕСС**

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация

Цель работы – анализ дифференциальной экспрессии генов у штаммов *Burkholderia pseudomallei* с различным уровнем выживаемости в условиях холодого стресса. **Материалы и методы.** В качестве модельных использованы три штамма *B. pseudomallei* сиквенс-типов ST 46, ST 70 и ST 85; РНК выделяли методом мембранных колонок, стабилизировали дегидратированием; кДНК секвенировали на платформе Illumina MiSeq; функции генов классифицировали в базе данных KEGG PATHWAY. **Результаты и обсуждение.** На основании анализа транскриптомов штаммов *B. pseudomallei* после длительного холодого стресса впервые описаны молекулярные механизмы адаптации *B. pseudomallei* к низким температурам. Показано, что адаптация *B. pseudomallei* к холодому стрессу связана с регуляторными процессами, приводящими к значительному снижению общей транскрипционной активности. Обнаружено две стратегии адаптации к низким температурам: 1) модуляция регуляторных процессов, приводящая к подавлению экспрессии генов основных путей метаболизма до минимального уровня, обеспечивающего жизнеспособность клетки, и активация минимально необходимого набора генов стрессового ответа; 2) менее выраженное подавление общего метаболизма в сочетании с активацией экспрессии расширенного спектра генов холодого и теплового шока, общего, осмотического и универсального стрессов. Оба механизма обеспечивают возбудителю мелиоидоза выживание в условиях длительного холодого стресса при низких положительных температурах. При отрицательных – первая стратегия показала большую эффективность, переход *B. pseudomallei* в жизнеспособное, но некультивируемое состояние происходит в долгосрочной перспективе (не менее 2 лет), при реализации второй – в течение 2 месяцев. Оценка потенциала и молекулярных механизмов адаптации этой бактерии к холодому стрессу необходима для понимания степени риска при возможном заносе *B. pseudomallei* в регионы с умеренным климатом и разработки эффективных мер обеспечения биобезопасности окружающей среды.

Ключевые слова: *Burkholderia pseudomallei*, ответ на холодого стресс, транскриптом.

Корреспондирующий автор: Захарова Ирина Борисовна, e-mail: zib279@gmail.com.

Для цитирования: Захарова И.Б., Чирсков П.Р., Устинов Д.В., Викторов А.Д., Шпак И.М., Топорков А.В., Викторов Д.В. Вариации адаптивного ответа *Burkholderia pseudomallei* на холодого стресс. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 1:106–112. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-106-112
Поступила 27.10.2021. Принята к публ. 11.01.2022.

I.B. Zakharova, P.R. Chirskov, D.V. Ustinov, A.D. Viktorov, I.M. Shpak, A.V. Toporkov,
D.V. Viktorov**Variations in the Adaptive Response of *Burkholderia pseudomallei* to Cold Stress**

Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to analyze differential gene expression in *Burkholderia pseudomallei* strains with different survival rates under cold stress conditions. **Materials and methods.** Three strains of *B. pseudomallei* (sequence types ST 46, ST 70, and ST 85) were used as model strains. The RNA was isolated using the membrane columns method and stabilized through dehydration. The cDNA was sequenced on the Illumina MiSeq platform. Gene functions were classified using the KEGG PATHWAY database. **Results and discussion.** Based on the analysis of transcriptomes of *B. pseudomallei* strains after prolonged exposure to cold stress, the molecular mechanisms of *B. pseudomallei* adaptation to low temperatures have been described for the first time ever. It was shown that adaptation of *B. pseudomallei* to cold stress is associated with regulatory processes leading to a significant decrease in the total transcriptional activity. Two strategies of adaptation to low temperatures have been found: 1) modulation of regulatory processes leading to suppression of gene expression of the main metabolic pathways to the minimum level that ensures cell viability and activation of the minimum required set of stress response genes, and 2) less noticeable suppression of general metabolism in combination with activation of expression of an extended range of genes for cold and heat shock, general, osmotic, and universal stresses. Both mechanisms provide the causative agent of melioidosis with survival under conditions of prolonged cold stress at low positive temperatures. The first strategy showed greater efficiency at negative temperatures. The transition of *B. pseudomallei* to a viable but uncultivated state occurs in the long term (at least 2 years). While with the second strategy, this happens within 2 months. Assessment of the potential and molecular mechanisms of adaptation of this bacterium to cold stress is necessary to understand the degree of risk in case of a possible introduction of *B. pseudomallei* into regions with a temperate climate and to develop effective measures to ensure the biosafety of the environment.

Key words: *Burkholderia pseudomallei*, cold stress response, transcriptome.

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

Corresponding author: Irina B. Zakharova, e-mail: zib279@gmail.com.

Citation: Zakharova I.B., Chirskov P.R., Ustinov D.V., Viktorov A.D., Shpak I.M., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Variations in the Adaptive Response of *Burkholderia pseudomallei* to Cold Stress. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:106–112. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-106-112

Received 27.10.2021. Revised Accepted 11.01.2022.

Zakharova I.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7808-7658>
Chirskov P.R., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2847-5177>
Ustinov D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4516-731X>
Viktorov A.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5193-6402>

Shpak I.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6446-0274>
Toporkov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3449-4657>
Viktorov D.V. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2722-7948>

Возбудитель мелиоидоза – *Burkholderia pseudomallei* – по своей природе является сапрофитом и отличается способностью быстрой адаптации к стрессовым условиям окружающей среды, что позволяет бактерии занимать разнообразные экологические ниши: от почвы, простейших, грибов и растений до представителей практически всех классов позвоночных, включая человека. В начале прошлого века считалось, что возбудитель встречается только в отдельных регионах Юго-Восточной Азии и на Цейлоне, а мелиоидоз прочно ассоциировался исключительно с жарким и влажным климатом. Но к настоящему времени установлено, что ареал *B. pseudomallei* значительно шире и охватывает регионы с тропическим и субтропическим климатом между 30-ми параллелями всех континентов [1]. Более того, в Австралии обнаружено эндемичное присутствие *B. pseudomallei* в зонах с пустынным и умеренным климатом [2, 3], а также зарегистрировано не менее чем десятилетнее присутствие возбудителя во внешней среде на территории Франции [4].

Ранее нами была показана способность *B. pseudomallei* выживать в условиях длительного воздействия низких, в том числе отрицательных, температур, что объясняет известные факты локального распространения и сохранения *B. pseudomallei* в зонах умеренного климата [5].

Бактериальный ответ на холодовой стресс включает глобальные изменения белкового профиля клетки. Первой реакцией на низкие температуры обычно является индукция РНК-связывающих белков и ферментов, таких как малые белки холодового шока (Csp), РНК-геликазы и рибонуклеазы, которые влияют на транскрипцию и, возможно, трансляцию при низкой температуре за счет своей функции шаперонирования РНК, предотвращая стабилизацию вторичных структур РНК и ДНК [6]. У *Escherichia coli* сразу после понижения температуры рост клеток временно полностью прекращается и экспрессируются белки холодового шока, способствующие адаптации, затем возобновляется синтез белков, не связанных с холодовым шоком, что позволяет клеткам расти при низкой температуре [6]. У некоторых психротолерантных бактерий с оптимумом роста в диапазоне 20–40 °С, таких как *Acinetobacter johnsonii*, при холодовом стрессе временное прекращение роста отсутствует и при низких температурах наблюдается замедление скорости роста [7]. Данных о молекулярных механизмах толерантности к низким температурам у патогенных представителей рода *Burkholderia* в доступной литературе не обнаружено. В связи с этим **цель** настоящего исследования состояла в ана-

лизе дифференциальной экспрессии генов у штаммов *B. pseudomallei* с различным уровнем выживаемости в условиях холодового стресса.

Материалы и методы

В качестве модельных использованы три штамма *B. pseudomallei* различных сиквенс-типов (ST): ST 46, ST 70 и ST 85, – имеющих широкую, среднюю и ограниченную распространенность в мировой популяции возбудителя мелиоидоза. РНК выделяли с использованием набора GeneJET RNA Purification Kit (Thermo Scientific, Литва) из бактериальных взвесей в 0,45 % растворе NaCl (CareFusion, Мексика) плотностью $3 \cdot 10^{10}$ КОЕ/мл, выдержанных 74 дня при температуре 1–5 °С; остаточную ДНК удаляли обработкой DNase I, RNase-free (Thermo Scientific, Литва); РНК стабилизировали дегидратированием с использованием набора RNastable (Biomatrix, США); кДНК и библиотеку для секвенирования транскриптомов получали по методике Moser [8]. Фрагментный анализ библиотеки проводили с помощью системы Experion Automated Electrophoresis System / Experion DNA 1K Analysis Kit (Bio-Rad, США). Фракции амплифицированных фрагментов в диапазоне от 700 до 1000 п.о. получали с использованием набора SPRiselect Reagent (Beckman Coulter, США). Адаптеры лигировали с использованием набора NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit (New England BioLabs, США). Секвенирование осуществляли на платформе Illumina MiSeq с набором MiSeq Reagent Kit v2 (Illumina, США) в режиме парноконцевого чтения. Данные анализировали с помощью программ MagicBlast, Cutadapt 2.9, Samtools 1.9, Bcftools 1.9, bwa 0.7.17-r1188 и ассемблера SPAdes v3.11.1 [9–12], объединенных в конвейеры, реализованные на языке программирования Python 3, в качестве референтных использовали последовательности хромосом 1 и 2 *B. pseudomallei* K96243 (GenBank NC006350 и NC006351). Функции генов классифицировали по базе данных KEGG PATHWAY Database (<https://www.genome.jp/kegg/pathway.html>). Статистический анализ проводили с использованием инструментов «парный двухвыборочный t-тест» и «регрессия» Microsoft Excel 2013.

Результаты и обсуждение

В настоящей работе проведен сравнительный анализ транскриптомов штаммов *B. pseudomallei* после длительного холодового стресса как продолжение проведенного ранее исследования выжива-

ния возбудителя мелиоидоза при низких температурах [5]. Вкратце: после постепенной адаптации к холоду штаммы, относящиеся к ST 46, ST 70 и ST 85, выжили как после 46-суточной инкубации при близких к нулевым положительным температурах, при статистически недостоверных ($p > 0,05$) изменениях численности, так и после пяти циклов замораживания до минус 18 °С с последующим оттаиванием при статистически достоверном ($p < 0,0001$) снижении численности. Выявлены выраженные межштаммовые отличия в уровне выживания при отрицательной температуре: наиболее низкий показал штамм ST 46, изначально формировавший на агаре Эшдауна два морфотипа, штамм ST 70 с выраженной морфологической диссоциацией – наиболее высокий, штамм ST 85, изначально росший в виде микроколоний (после ряда пересевов образовал однотипные колонии обычного размера в S-форме), – средний.

Анализ транскриптомов показал, что адаптация к длительному холодовому стрессу у всех исследованных штаммов *B. pseudomallei* связана с общим подавлением экспрессии генов, участвующих практически во всех аспектах клеточного гомеостаза. У штамма ST 46 экспрессировалось 1680 генов (~28 % генома), у штамма ST 85 – 720 генов (~12 %), наиболее устойчивый к холоду штамм ST 70 транскрибировал 475 генов – всего 8 % генома. Общий для всех штаммов пул транскриптов состоял из 424 генов (рис. 1). При этом между штаммами обнаружена разница в соотношении экспрессируемых генов, локализованных на 1-й и 2-й хромосомах: 1 к 0,55 – у ST 46; 1 к 0,5 – у ST 85 и 1 к 0,6 – у ST 70. Транскрибируемые гены штаммов ST 46, ST 85 и ST 70 распределились по четырем путям основных клеточных процессов: 09100 «Метаболизм» – 47,5, 38 и 30 % соответственно; 09184 «Белки сигнальных и клеточных процессов» – 28, 36 и 38 %; 09131 «Мембранный транспорт» – 23, 24 и 29 % и 09111 «Биодеградация ксенобиотиков и метаболизм» – 1,8, 1,4 и 1,9 % соответственно. То есть наблюдалась прямая зависимость выживаемости штаммов от величины доли генов семейств «Белки сигнальных и клеточных процессов» и «Мембранный транспорт» в пуле транскриптов и обратная – от общего количе-

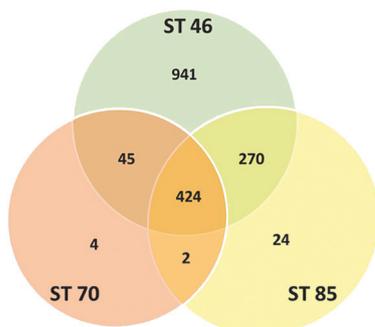


Рис. 1. Количество генов, транскрибируемых у исследованных штаммов в условиях холодового стресса

Fig. 1. The number of genes transcribed under cold stress conditions in the studied strains

ства экспрессируемых генов и величины доли генов семейства «Метаболизм» (рис. 2).

Поскольку все три штамма выжили после замораживания, но показали разный уровень толерантности к отрицательным температурам, оценено распределение пула транскриптов по семействам внутри путей основных клеточных процессов (рис. 3) и проведен поиск дифференциально экспрессирующихся генов.

Среди общих для исследованных штаммов экспрессирующихся генов семейства «Метаболизм» присутствовали гены энергетического метаболизма; катаболизма аминокислот, липидов, нуклеотидов и углеводов; биосинтеза аминокислот, гликана, липополисахаридов, поликетидов, ненасыщенных жирных кислот и фолата; поглощения/мобилизации железа; превращения пентозы и глюкуроната – т.е. основных путей метаболизма, обеспечивающих жизнеспособность клетки. У всех штаммов присутствовали транскрипты гена *glnA* глутаминсинтетазы, у ST 46 – гена ПИ уридилтрансферазы, активируемых в ответ на азотное голодание. Интересно, что у штамма ST 46 экспрессировались гены всех ключевых ферментов синтеза и деполимеризации поли-β-гидроксибутирата (ПГБ): *phbA*, *phbB*, *phaC*, *phaP*, *phaZ* – и двух ПГБ-дегидрогеназ (гомологи BPSS0017 и BPSS0354), а у штаммов ST 85 и ST 70 – только двух ферментов синтеза ПГБ: *phbA* и *phbB*. У штамма ST 46 наблюдалась экспрессия всех генов основного (гомологи BPSL2309 – BPSL2312) и дополнительного (BPSS1156 – BPSS1159) оперонов респираторной нитратредуктазы *narGHJI*, тогда как у двух других штаммов – только гена *narI* дополнительного оперона. У штаммов ST 85 и ST 70, в отличие от ST 46, экспрессировался ген периплазматической аспарагиназы (BPSS2060); только у ST 70 – протеин-метионин-сульфоксидредуктазы MsrP (BPSL3178).

Из семейства «Мембранный транспорт» у всех штаммов экспрессировались гены белков общего секреторного пути (*gspG*, *gspF*), ABC-транспортеров, эффлюкса катионов и сахаров, системы секреции 3-го типа, регуляторных белков двухкомпонентных систем, в том числе системы Quorum Sensing (QS), кластер генов биосинтеза и экспорта капсульного полисахарида и отдельные мембранные белки. Интересно, что у наиболее толерантного к холоду штамма ST 70 общий для всех трех штаммов набор экспрессируемых генов этого семейства дополняется всего двумя: MFS-транспортера (BPSS1215) и TroA-подобного белка (BPSS0242) – компонента ABC-транспортера сидерофоров трехвалентного железа. У штамма ST 46 дополнительно экспрессировались гены белков общего секреторного пути (*gspD*, *gspE*, *gspC*, *gspH*, *gspJ*, *gspK*, *gspL*, *gspM*, *gspN*), ABC-транспортеров аминокислот (BPSS1423–BPSS1426, *livM* и *livG*), фосфоната (*phnC* и *phnL*), дипептидов (*dppB*, *dppC*, *dppD* и *dppF*), сульфатов (*cysA*, *cysW*, *cyst*) и MFS-транспортеров (BPSL2737

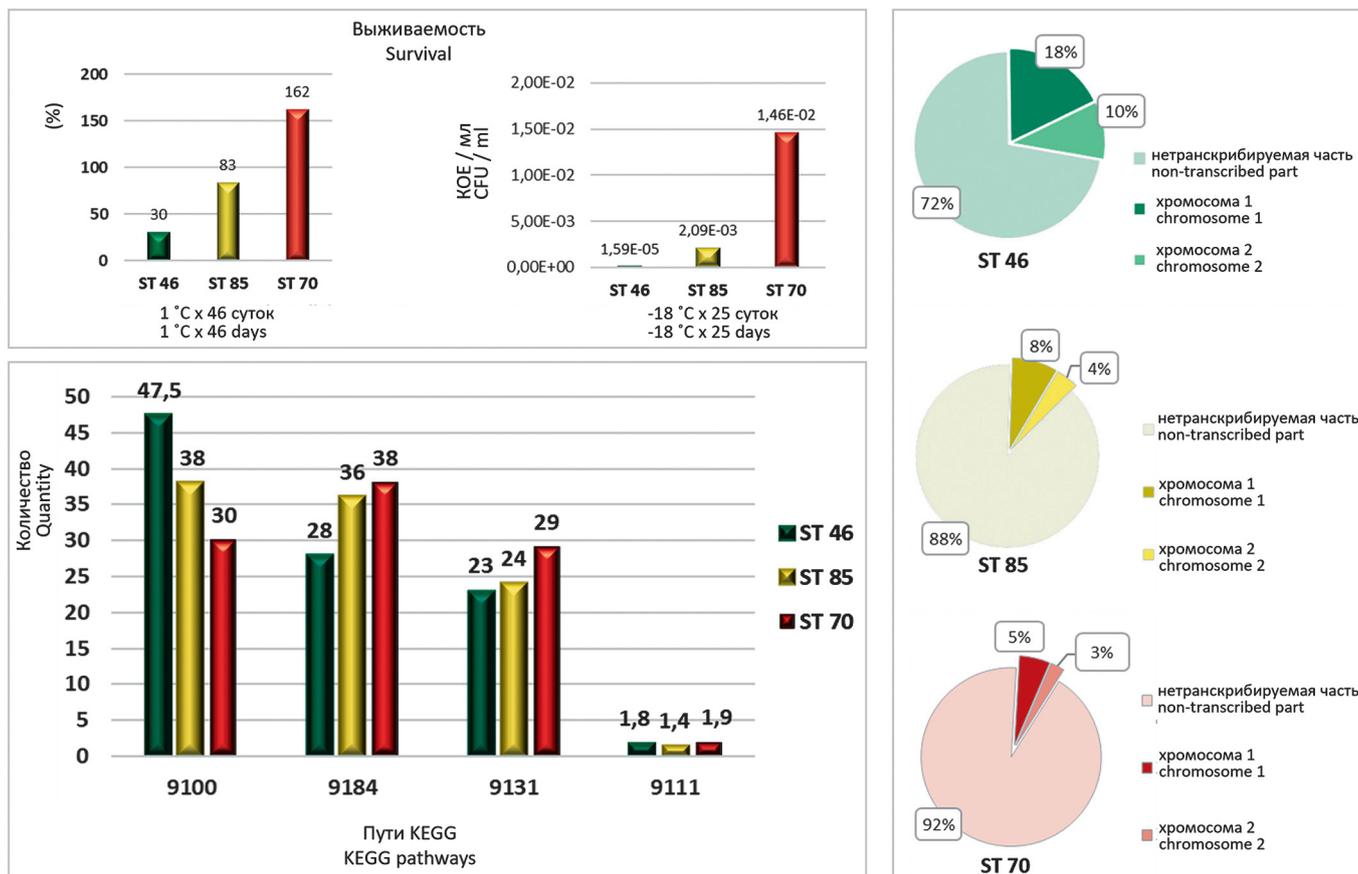


Рис. 2. Выживаемость штаммов *B. pseudomallei* при пониженных температурах в зависимости от распределения пула транскриптов по хромосомам и основным путям KEGG: 9100 «Метаболизм», 9184 «Сигнальные и клеточные процессы», 9131 «Мембранный транспорт», 9111 «Биодеградация антибиотиков и метаболизм»

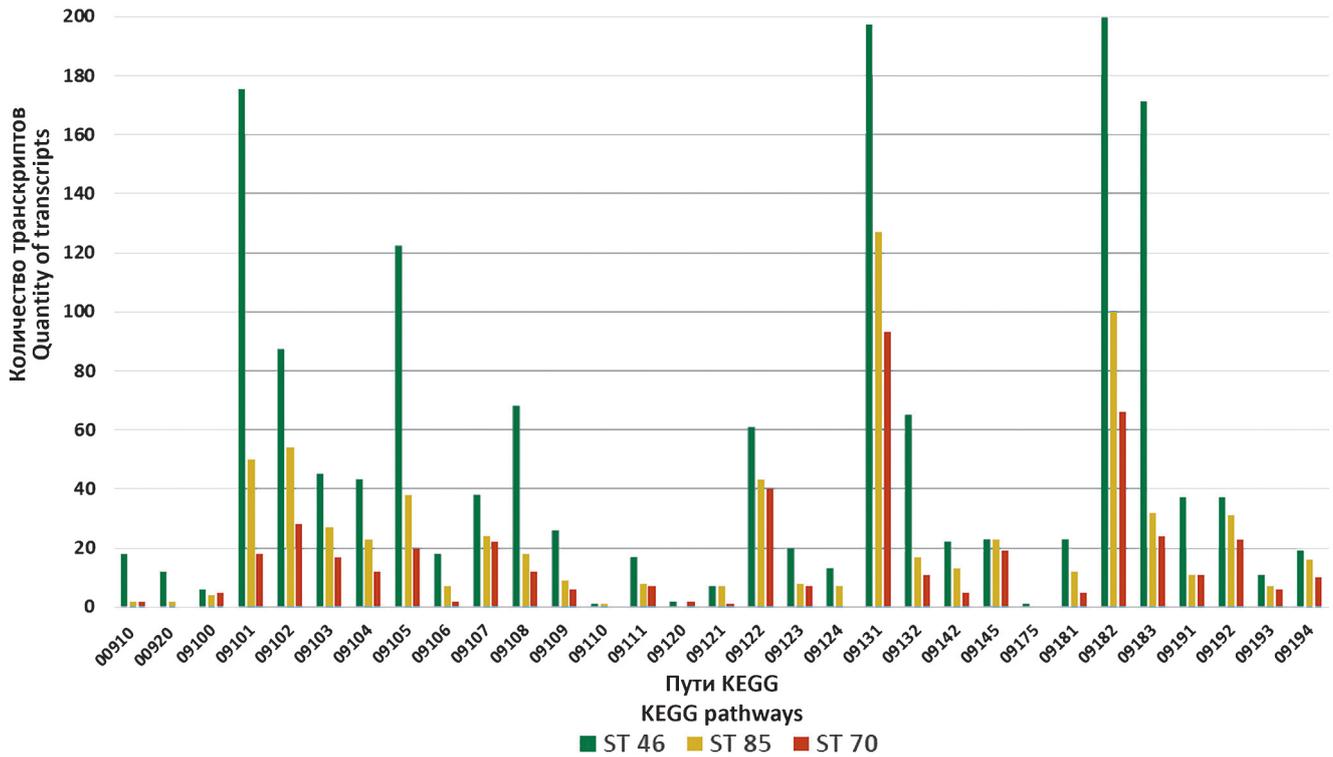
Fig. 2. Survivability of *B. pseudomallei* strains at low temperatures depending on the distribution of the transcript pool across chromosomes and main KEGG pathways: 9100 Metabolism, 9184 Signaling and cellular processes, 9131 Membrane transport, 9111 Antibiotics biodegradation and metabolism

и BPSL2620) и опероны эффлюкс-насосов семейства RND (AmrAB-OprA и BpeAB-OprB).

Среди семейства «Белки сигнальных и клеточных процессов» у всех трех штаммов экспрессировались белки репликации, транскрипции и отдельные белки, связанные с репарацией; белки холодового шока – РНК-шапероны CspA и CspD (BPSL0898, BPSL2557, BPSL3079, BPSS1364) и DEAD-бок РНК-хеликазы RhlE2, рибосомный фактор (*rbfA*), при низких температурах придающий рибосомам способность к трансляции мРНК, не связанных с холодовым шоком, HNS-подобные ДНК-связывающие белки, факторы инициации трансляции IF1, IF2 и IF3 (*infA*, *infB*, *infC*), RecA, триггер-фактор PPI (пептидилпролил-цис-транс-изомераза); белок теплового шока Hsp20 (BPSL2918); белки окислительного стресса (OxyR и BPSS1839); окислительного (BPSS1839) и общего стресса (BPSL0520, BPSL2189, гуанозинпирофосфогидролаза SpoT, белок, содержащий NUDIX-домен, фактор DksA, усиливающий эффект (p)ppGpp-зависимой регуляции транскрипции); транскрипционные регуляторы семейств GntR, LacI, MerR, AraC. У штаммов ST 46 и ST 85 дополнительно экспрессировались транскрипционные регуляторы семейств PadR и TetR, у ST 46 – транскрипционные регуляторы семейств AsnC, LuxR, LysR, Fis, Fur

и Csp/Fnr. Кроме того, у штамма ST 46 обнаружены транскрипты других белков холодового (NusA) и теплового шока – еще четырех Hsp20 (гомологи BPSL1322, BPSL1323, BPSL2917 и BPSS2288), HtpG, HslR, Hsp33, GrpE и HrcA, а также шаперонов ClpB, DnaK, GroEL и ко-шаперонина GroES; белков общего (BPSS0032, BPSS1140, GTP пирофосфокиназы RelA, NUDIX-гидролазы MutT) и осмотического (OsmC) (BPSS1361) стресса. Только у штамма ST 70 экспрессировался ДНК-связывающий белок HU (BPSL0004).

Необходимо отметить, что в условиях описываемого эксперимента бактерии, помимо холодового стресса, испытывали ограничения по питательным веществам, что отразилось в экспрессии всеми штаммами перечисленных выше белков общего стресса и глутаминсинтетазы. Штамм ST 46 дополнительно экспрессировал универсальные стрессовые белки UspA, RelA и MutT. Белки семейства UspA у *E. coli* увеличивают уровень выживаемости при пролонгированных стрессовых воздействиях различной природы [13]. RelA – это связанный с рибосомами белок, синтезирующий сигнальные молекулы строгого ответа гуанозинтетрафосфат и гуанозинпентафосфат ((p)ppGpp), накопление которых приводит к переключению клетки с режима роста и пролиферации на



00910 Nitrogen metabolism	09105 Amino acid metabolism	09122 Translation	09181 Protein families: metabolism
00920 Sulfur metabolism	09106 Metabolism of other amino acids	09123 Folding, sorting and degradation	09182 Protein families: genetic information processing
09100 Metabolism	09107 Glycan biosynthesis and metabolism	09124 Replication and repair	09183 Protein families: signaling and cellular processes
09101 Carbohydrate metabolism	09108 Metabolism of cofactors and vitamins	09131 Membrane transport	09191 Unclassified: metabolism
09102 Energy metabolism	09109 Metabolism of terpenoids and polyketides	09132 Signal transduction	09192 Unclassified: genetic information processing
09103 Lipid metabolism	09111 Xenobiotics biodegradation and metabolism	09142 Cell motility	09193 Unclassified: signaling and cellular processes
09104 Nucleotide metabolism	09120 Genetic Information Processing	09145 Cellular community - prokaryotes	09194 Poorly characterized
09105 Amino acid metabolism	09121 Transcription	09175 Drug resistance	

Рис. 3. Распределение пула транскриптов штаммов *B. pseudomallei* по семействам внутри путей KEGG

Fig. 3. Distribution of the pool of transcripts of *B. pseudomallei* strains by families within the KEGG pathways

режим выживания [14]. NUDIX-гидролаза MutT снижает концентрацию (p)ppGpp, что частично компенсирует эффект строгого ответа [15]. Вероятно, экспрессия штаммом ST 46 NUDIX-гидролазы MutT является одним из ключевых факторов, обуславливающих наиболее низкий среди исследованных штаммов уровень подавления транскрипционной активности.

Известно, что HrcA является репрессором индукции генов теплового шока, связываясь с CIRCE (controlling inverted repeat of chaperone expression), присутствующими в их промоторах [16]. Тем не менее у *B. pseudomallei* ST 46 наблюдалась одновременная экспрессия *hrcA* и широкого набора генов теплового шока, включая опероны *dnaK* и *groESL*. В условиях нормальной температуры подобный эффект – одновременное присутствие высоких уровней HrcA и GroEL – был отмечен у *B. pseudomallei* при солевом стрессе [17]. Можно предположить, что в этих двух случаях задействован механизм титрования шаперонов. При физиологических температурах шапероны удерживают большинство репрессоров транскрипции генов теплового шока в их активной конформации или секвестрируют сигма-факторы. В условиях пониженных температур или высокой

осмолярности не исключено появление в клетках денатурированных белков, титрующих шапероны. Как следствие, HrcA остается в неактивной конформации, а сигма-факторы связываются с кор-ферментом РНК-полимеразы.

У всех исследованных штаммов экспрессировались альтернативные сигма-факторы РНК-полимеразы: σ^{32} (RpoH), RpoS и RpoE, – но только у штамма ST 46 присутствовал транскрипт гена периплазматической сериновой эндопротеазы семейства DegQ (гомолог BPSL2433), необходимой для активации RpoE. Известно, что сигма-фактор RpoE играет важную роль в адаптации *B. pseudomallei* к осмолярному и тепловому стрессам, а также в формировании биопленок [18, 19]. Вероятно, экспрессия более широкого круга белков теплового шока у штамма ST 46 по сравнению с двумя другими исследованными штаммами обусловлена наличием активной формы RpoE. В пользу данного предположения свидетельствует недавно описанная модель регуляции экспрессии генов теплового шока у *Mycoboccus xanthus* за счет конкурентного связывания HrcA и RpoE с промоторной областью контролируемых генов [20], а также описанный факт неучастия системы HrcA-

CIRCE в индукции теплового шока у *Caulobacter crescentus* [21]. Роды *Caulobacter*, *Burkholderia* и *Mycoboccus*, хотя и относятся к разным классам протеобактерий (альфа, бета и дельта соответственно), имеют определенное сходство в биологических свойствах: являются сапрофитами, способны адаптироваться к широкому диапазону температур, имеют GC-богатые последовательности генома (~69, 68 и 67 % соответственно) и гипотетически могут иметь конвергентное сходство в регуляции ответа на температурный шок.

Из семейства «Биодеградация ксенобиотиков и метаболизм» у всех трех штаммов экспрессировались гены фолдаз (*ppiA*, *dsbA*, *dsbC*), эноил-коэнзим А гидратазы (*pacF*), флавинредуктаз (BPSL1645 и BPSL1646) и металлогидролазы (BPSL3277). У штаммов ST 46 и ST 70 дополнительно экспрессировалась металло-бета-лактамаза класса В (BPSS2119), только у ST 46 – CoA-трансфераза (*pcaI*), гены пенициллинсвязывающих белков (*mrdA*, *mrdA* и BPSL2104) и металлогидролаза (BPSL3277).

После 31 месяца хранения взвесей при температуре около 5 °С штаммы *B. pseudomallei* ST 46 и ST 70 остались жизнеспособными и культивируемыми. Высев хранившихся замороженных взвесей на триптиказосоевый агар с 4 % глицерина (ТСАГ) показал наличие роста у штамма ST 85 и его отсутствие у штаммов ST 46 и ST 70. При микроскопии препаратов раздавленной капли взвесей, не выросших на ТСАГ, наблюдали подвижные клетки, т.е. бактерии были живыми, но перешли в некультивируемую форму. Во всех случаях наблюдали изменение морфологии роста на агаре Эшдауна в сравнении с исходной (рис. 4).

Таким образом, общая тенденция адаптации *B. pseudomallei* к холодovому стрессу связана с регуляторными процессами, приводящими к значительному снижению общей транскрипционной активности при возрастании доли экспрессии генов второй хромосомы, отвечающей за адаптивные функции. При этом обнаружено две стратегии выживания: первая – это модуляция регуляторных процессов, приводящая к подавлению экспрессии генов основных путей метаболизма до минимального уровня, обеспечивающего жизнеспособность клетки, и активация минимально необходимого набора генов стрессового ответа, а вторая – менее выраженное подавление общего метаболизма в сочетании с активацией экспрессии расширенного спектра генов холодovого и теплового шока, общего, осмотического и универсального стрессов. При осуществлении второй стратегии *B. pseudomallei* под воздействием отрицательных температур переходит в жизнеспособное, но некультивируемое состояние быстрее, чем при первой. Тем не менее оба механизма адаптации обеспечивают возбудителю мелиоидоза выживание в условиях длительного холодovого стресса.

Еще в 1993 г. E. Yabuuchi *et al.* призывали переосмотреть точку зрения, что возбудитель мелиоидоза

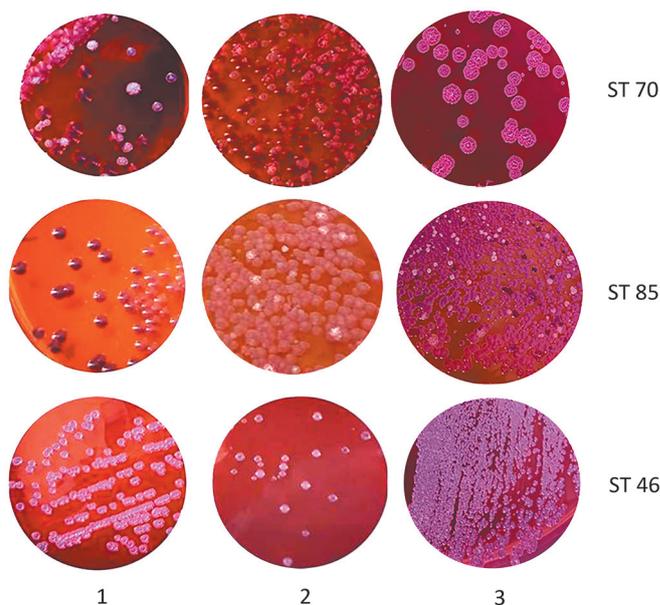


Рис. 4. Динамика изменения морфологии роста штаммов *B. pseudomallei* при воздействии низких температур:

вертикальные ряды: 1 – исходные культуры; 2 – после 25 суток при минус 18 °С и однократного размораживания; 3 – после 31 месяца холодovого стресса; агар Эшдауна, инкубация 4 суток при 37 °С

Fig. 4. Dynamics of changes in the growth morphology of *B. pseudomallei* strains when exposed to low temperatures:

vertical rows: 1 – initial cultures; 2 – after 25 days at minus 18 °C and a single defrosting; 3 – after 31 months of cold stress; Ashdown agar, incubation for 4 days at 37 °C

за является исключительно тропическим обитателем [22]. Проведенное исследование показало, что *B. pseudomallei* обладает высоким потенциалом выживания далеко за пределами известного ареала, что объясняет факты локального распространения и сохранения возбудителя в течение нескольких десятилетий во внешней среде регионов с умеренным климатом.

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

References / Список литературы

1. Limmathurotsakul D., Golding N., Dance D.A., Messina J.P., Pigott D.M., Moyes C.L., Rolim D.B., Bertherat E., Day N.P., Peacock S.J., Hay S.I. Predicted global distribution of *Burkholderia pseudomallei* and burden of melioidosis. *Nat. Microbiol.* 2016; 1(1):15008. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2015.8.
2. Yip T.W., Hewagama S., Mayo M., Price E.P., Sarovich D.S., Bastian I., Baird R.W., Spratt B.G., Currie B.J. Endemic melioidosis in residents of desert region after atypically intense rainfall in central Australia, 2011. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(6):1038–40. DOI: 10.3201/eid2106.141908.
3. Chapple S.N.J., Sarovich D.S., Holden M.T.G., Peacock S.J., Buller N., Gollidge C., Mayo M., Currie B.J., Price E.P. Whole-genome sequencing of a quarter-century melioidosis outbreak in temperate Australia uncovers a region of low-prevalence endemicity. *Microb. Genom.* 2016; 2(7):e000067. DOI: 10.1099/mgen.0.000067.
4. Mollaret H.H. “L’affaire du jardin des plantes” ou comment la mélioiidose fit son apparition en France. *Med. Mal. Infect.* 1988; 18(9):643–54. DOI: 10.1016/S0399-077X(88)80175-6.
5. Zakharova I., Chirskov P., Lopasteyskaya Ya., Bui T. Lan Anh, Toporkov A., Viktorov D. Can frozen *Burkholderia pseudomallei* come back to life? *EC Microbiology.* 2021; 17(4):58–63.
6. Phadtare S., Severinov K. RNA remodeling and gene regulation by cold shock proteins. *RNA Biol.* 2010; 7(6):788–95. DOI: 10.4161/rna.7.6.13482.

7. Su D., Hao L., Chen F., Li S., Abdelrahman A.M., Zhang Y., Yu H., Liu S., Li M. CspE is overproduced by temperature downshift in the *Acinetobacter johnsonii* DBP-3. *Curr. Microbiol.* 2016; 72(5):563–9. DOI: 10.1007/s00284-015-0979-3.
8. Moser L.A., Ramirez-Carvajal L., Puri V., Pauszek S.J., Matthews K., Dille K.A., Mullan C., McGraw J., Khayat M., Beeri K., Yee A., Dugan V., Heise M.T., Frieman M.B., Rodriguez L.L., Bernard K.A., Wentworth D.E., Stockwell T.B., Shabman R.S. A universal next-generation sequencing protocol to generate noninfectious barcoded cDNA libraries from high-containment RNA viruses. *mSystems.* 2016; 1(3):e00039-15. DOI: 10.1128/mSystems.00039-15.
9. Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet. J.* 2011; 17(1):10. DOI: 10.14806/ej.17.1.200.
10. Nurk S., Bankevich A., Antipov D., Gurevich A.A., Korobeynikov A., Lapidus A., Prjibelski A.D., Pyshkin A., Sirotkin A., Sirotkin Y., Stepanauskas R., Clingenpeel S.R., Woyke T., McLean J.S., Lasken R., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. Assembling single-cell genomes and mini-metagenomes from chimeric MDA products. *J. Comput. Biol.* 2013; 20(10):714–37. DOI: 10.1089/cmb.2013.0084.
11. Prjibelski A.D., Vasilinets I., Bankevich A., Gurevich A., Krivosheeva T., Nurk S., Pham S., Korobeynikov A., Lapidus A., Pevzner P.A. ExSPAnDer: a universal repeat resolver for DNA fragment assembly. *Bioinformatics.* 2014; 30(12):i293–301. DOI: org/10.1093/bioinformatics/btu266.
12. Vasilinets I., Prjibelski A.D., Gurevich A., Korobeynikov A., Pevzner P.A. Assembling short reads from jumping libraries with large insert sizes. *Bioinformatics.* 2015; 31(20):3262–8. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv337.
13. Nyström T., Neidhardt F.C. Expression and role of the universal stress protein, UspA, of *Escherichia coli* during growth arrest. *Mol. Microbiol.* 1994; 11(3):537–44. DOI: 10.1111/j.1365-2958.1994.tb00334.x.
14. Hauryliuk V., Atkinson G.C., Murakami K.S., Tenson T., Gerdes K. Recent functional insights into the role of (p)ppGpp in bacterial physiology. *Nat. Rev. Microbiol.* 2015; 13(5):298–309. DOI: 10.1038/nrmicro3448.
15. Sanyal R., Vimala A., Harinarayanan R. Studies on the regulation of (p)ppGpp metabolism and its perturbation through the over-expression of nudix hydrolases in *Escherichia coli*. *Front. Microbiol.* 2020; 11:562804. DOI: 10.3389/fmicb.2020.562804.
16. Schumann W. Regulation of bacterial heat shock stimulons. *Cell Stress Chaperones.* 2016; 21(6):959–68. DOI: 10.1007/s12192-016-0727-z.
17. Pumirat P., Saetun P., Sinchaikul S., Chen S.T., Korbsrisate S., Thongboonkerd V. Altered secretome of *Burkholderia pseudomallei* induced by salt stress. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009; 1794(6):898–904. DOI: 10.1016/j.bbapap.2009.01.011.
18. Korbsrisate S., Vanaporn M., Kerdsuk P., Kespichayawattana W., Vattanaviboon P., Kiatpapan P., Lertmemongkolchai G. The *Burkholderia pseudomallei* RpoE (AlgU) operon is involved in environmental stress tolerance and biofilm formation. *FEMS Microbiol. Lett.* 2005; 252(2):243–9. DOI: 10.1016/j.femsle.2005.09.002.
19. Vanaporn M., Vattanaviboon P., Thongboonkerd V., Korbsrisate S. The rpoE operon regulates heat stress response in *Burkholderia pseudomallei*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2008; 284(2):191–6. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2008.01216.x.
20. Zhuo L., Zhang Z., Pan Z., Sheng D.H., Hu W., Li Y.Z. CIRCE element evolved for the coordinated transcriptional regulation of bacterial duplicate groELs. *Biochim. Biophys. Acta Gene Regul. Mech.* 2018; 1861(10):928–37. DOI: 10.1016/j.bbagr.2018.08.003.
21. Susin M.F., Perez H.R., Baldini R.L., Gomes S.L. Functional and structural analysis of HrcA repressor protein from *Caulobacter crescentus*. *J. Bacteriol.* 2004; 186(20):6759–67. DOI: 10.1128/JB.186.20.6759-6767.2004.
22. Yabuuchi E., Wang L., Arakawa M., Yano I. Survival of *Pseudomonas pseudomallei* strains at 5 degrees C. *Kansenshogaku Zasshi.* 1993; 67(4):331–5. DOI: 10.11150/kansenshogakuzasshi1970.67.331.

Authors:

Zakharova I.B., Chirskov P.R., Ustinov D.V., Viktorov A.D., Shpak I.M., Toporkov A.V., Viktorov D.V. Volgograd Research Anti-Plague Institute. 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Об авторах:

Захарова И.Б., Чирсков П.Р., Устинов Д.В., Викторов А.Д., Шпак И.М., Топорков А.В., Викторов Д.В. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-113-121

УДК 616.98:578.834.1

В.А. Мищенко^{1,2}, М.В. Питерский¹, Т.А. Платонова³, С.С. Смирнова^{1,4}, И.В. Вялых¹, И.П. Быков¹,
Л.Г. Вяткина¹, Т.В. Махорина¹, А.М. Орлов⁵, Н.Г. Попкова⁵, А.В. Семенов^{1,6}

ОЦЕНКА СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТИ К SARS-CoV-2 В РАЗЛИЧНЫХ ГРУППАХ НАСЕЛЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ МОДЕЛЕЙ ЛОГИТ-РЕГРЕССИИ В НАЧАЛЬНЫЙ ПЕРИОД ФОРМИРОВАНИЯ КОЛЛЕКТИВНОГО ИММУНИТЕТА

¹Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», Екатеринбург, Российская Федерация; ²ФГБУН «Институт экологии растений и животных» Уральского отделения РАН, Екатеринбург, Российская Федерация; ³ООО «Европейский медицинский центр «УГМК-Здоровье», Екатеринбург, Российская Федерация; ⁴ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Екатеринбург, Российская Федерация; ⁵ГАУЗ СО «Областная станция переливания крови», Екатеринбург, Российская Федерация; ⁶ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Российская Федерация

Цель исследования – изучение и оценка динамики серопревалентности к SARS-CoV-2 в различных группах населения в начальный период формирования коллективного иммунитета на основе многофакторного анализа с помощью моделей логит-регрессии. **Материалы и методы.** Число участников исследования составило 1561 человек, представляющих три когорты: лица, живущие с ВИЧ/СПИД (ЛЖВС), доноры, медицинские работники. Наличие антител к SARS-CoV-2 определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов реагентов. Многофакторный анализ динамики серопревалентности к SARS-CoV-2 проводили с использованием моделей логистической регрессии. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что вероятность обнаружения IgG-антител к SARS-CoV-2 статистически значимо возрастает среди доноров и медицинских работников в ряду «весна – осень 2020 г.» ($p=0,005$ и $p<0,001$ соответственно), что согласуется с уровнем изменения серопревалентности в общей популяции. Группы доноров и медицинских работников можно рассматривать в качестве индикаторных групп, характеризующих коллективный иммунитет в отношении SARS-CoV-2, а также интенсивность эпидемического процесса распространения COVID-19. Серопревалентность к SARS-CoV-2 в группе ЛЖВС находилась на стабильно высоком уровне в течение всего периода наблюдений. Таким образом, сформированные модели логистической регрессии позволили определить тренды развития эпидемиологической ситуации на основе мультифакторного анализа динамики серопревалентности к SARS-CoV-2.

Ключевые слова: серопревалентность, SARS-CoV-2, новая коронавирусная инфекция, иммуноферментный анализ, индикаторные группы.

Корреспондирующий автор: Мищенко Владимир Алексеевич, e-mail: mischenko_va@eniivi.ru.

Для цитирования: Мищенко В.А., Питерский М.В., Платонова Т.А., Смирнова С.С., Вялых И.В., Быков И.П., Вяткина Л.Г., Махорина Т.В., Орлов А.М., Попкова Н.Г., Семенов А.В. Оценка серопревалентности к SARS-CoV-2 в различных группах населения с помощью моделей логит-регрессии в начальный период формирования коллективного иммунитета. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:113–121. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-113-121
Поступила 14.09.2021. Отправлена на доработку 14.10.2021. Принята к публ. 07.02.2022.

V.A. Mishchenko^{1,2}, M.V. Pitersky¹, T.A. Platonova³, S.S. Smirnova^{1,4}, I.V. Vyalykh¹, I.P. Bykov¹,
L.G. Vyatkin¹, T.V. Makhorina¹, A.M. Orlov⁵, N.G. Popkova⁵, A.V. Semenov^{1,6}

Assessment of Seroprevalence to SARS-CoV-2 in Various Population Cohorts Using Logit Regression Models During Initial Period of Herd Immunity Formation

¹Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections of the SSC VB “Vector”, Yekaterinburg, Russian Federation;

²Institute of Plant and Animal Ecology, Ural branch of RAS, Yekaterinburg, Russian Federation;

³European Medical Center “UMMC-Health”, Yekaterinburg, Russian Federation;

⁴Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Yekaterinburg, Russian Federation;

⁵Regional Blood Transfusion Station, Yekaterinburg, Russian Federation;

⁶Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to assess the dynamics of seroprevalence to SARS-CoV-2 in various population groups during the initial period of herd immunity formation based on multivariate analysis using logit regression models. **Materials and methods.** The study involved 1561 individuals divided into three population cohorts: people living with HIV/AIDS (PLHA), healthy blood donors, medical workers. The presence of antibodies to SARS-CoV-2 was determined in blood serum through ELISA using commercial reagent kits. Multivariate analysis of the dynamics of seroprevalence to SARS-CoV-2 was carried out using logistic regression models. **Results and discussion.** It has been revealed that probability of detecting IgG antibodies to SARS-CoV-2 significantly increased among the donors and medical workers in the spring-autumn 2020 series ($p=0.005$ and $p<0.001$, respectively), which corresponds to seroprevalence shift in the general population. Groups of donors and medical workers can be considered as indicator groups that characterize the herd immunity in reference to SARS-CoV-2, as well as the intensity of COVID-19 epidemic process. Seroprevalence to SARS-CoV-2 in PLHA group was at a consistently high level throughout the observation period. The generated logistic regression models made it possible to determine the trends in the development of the epidemic situation based on multi-factorial analysis of the dynamics of seroprevalence to SARS-CoV-2.

Key words: seroprevalence, SARS-CoV-2, new coronavirus infection, enzyme-linked immunosorbent assay, indicator groups.

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

Corresponding author: Vladimir A. Mishchenko, e-mail: mischenko_va@eniivi.ru.

Citation: Mishchenko V.A., Pitersky M.V., Platonova T.A., Smirnova S.S., Vyalykh I.V., Bykov I.P., Vyatkina L.G., Makhorina T.V., Orlov A.M., Popkova N.G., Semenov A.V. Assessment of Seroprevalence to SARS-CoV-2 in Various Population Cohorts Using Logit Regression Models During Initial Period of Herd Immunity Formation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:113–121. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-113-121

Received 14.09.2021. *Revised* 14.10.2021. *Accepted* 07.02.2022.

Mishchenko V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4280-283X>
 Pitersky M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5506-2389>
 Platonova T.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5441-854X>
 Smirnova S.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9749-4611>
 Vyalykh I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3123-8359>
 Bykov I.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5157-646X>

Vyatkina L.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1944-3827>
 Makhorina T.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6126-9706>
 Orlov A.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8610-0226>
 Popkova N.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8969-0452>
 Semenov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

С начала 2020 г. продолжается распространение инфекции, вызванной бета-коронавирусом SARS-CoV-2. По состоянию на 01.09.2021 в мире зарегистрировано более 218 млн заразившихся, из которых 195 млн выздоровели, а 4,5 млн погибли. На долю Российской Федерации пришлось 6,9 млн заболевших и 184 тыс. смертей [1]. В Свердловской области подтверждено 124,1 тыс. случаев заболевания, 5,2 тыс. из которых закончились летальным исходом [2].

Накопление в крови специфических антител в результате инфицирования различными возбудителями позволяет применять серомониторинг для ретроспективной диагностики как клинических (манифестных), так и субклинических или инаппарантных случаев инфекции, которые в обычных обстоятельствах не выявляются. Особенно это актуально для новых инфекций в начальный период формирования коллективного иммунитета. Данные по серопревалентности к SARS-CoV-2 могут быть использованы для реальной оценки эпидемического процесса распространения COVID-19. Статистические данные по заболеваемости и коэффициенту летальности при COVID-19 значительно различаются в странах с разными стратегиями тестирования: при всесторонних лабораторных исследованиях выявляют большое количество легких форм инфекции, соответственно сообщают о более высокой заболеваемости и низкой летальности [3]. Кроме того, серологические исследования, в особенности среди доноров крови, способствуют выявлению реконвалесцентов с высокими титрами вируснейтрализующих антител, плазма которых может быть использована при лечении пациентов с тяжелыми формами COVID-19 [4].

Для разработки эффективных мер противодействия пандемии важным направлением является исследование уровня коллективного иммунитета среди населения региона. Ключевым показателем при этом является уровень серопревалентности к SARS-CoV-2, при котором COVID-19 перестает распространяться. Учитывая высокое значение базового репродуктивного числа для SARS-CoV-2, определяющего количество вторичных заражений, вызванных присутствием одного инфицированного человека в полностью восприимчивой однородной по чувствительности к SARS-CoV-2 популяции, доля лиц с защитными антителами к вирусу, по расчетам разных авторов, должна составлять от 70 до 82,5 % [5]. При этом основным методом серологической диагностики остается иммуноферментный анализ (ИФА),

позволяющий выявить специфические антитела к антигенам SARS-CoV-2: спайк-белку (S-белку) или к рецептор-связывающему домену (RBD-домену) S-белка нового коронавируса.

Изучение динамики увеличения серопревалентности к SARS-CoV-2 в начальный период формирования коллективного иммунитета в различных группах населения представляет значительный интерес и необходимо для разработки прогноза развития эпидемиологической ситуации, а также планирования мероприятий по специфической и неспецифической профилактике COVID-19.

Цель исследования заключалась в изучении и оценке динамики серопревалентности к SARS-CoV-2 в различных группах населения в начальный период формирования коллективного иммунитета на основе многофакторного анализа с помощью моделей логит-регрессии.

Материалы и методы

Данные о заболеваемости COVID-19 получены с сайта официальной информации о коронавирусе в России (<https://стопкоронавирус.рф>).

Для оценки динамики уровня коллективного иммунитета в различных группах населения изучаемого региона организовано обследование 617 сотрудников медицинских организаций, 830 доноров и 114 лиц, живущих с ВИЧ/СПИД (ЛЖВС). Общее число участников когортного исследования составило 1561 человек.

Результаты обследования доноров отражали специфику распространения новой коронавирусной инфекции среди здоровых лиц в крупном промышленном регионе. Результаты обследования сотрудников медицинских организаций соответствовали вовлеченности в эпидемический процесс COVID-19 профессиональных групп населения, связанных с высоким риском инфицирования, а ЛЖВС – вовлеченности в эпидемический процесс групп риска заражения COVID-19 и развития тяжелых форм инфекции.

Для обследования доноров и ЛЖВС использовали пробы крови, полученные в рамках исследования популяционного иммунитета. У всех участников исследования было получено информированное согласие о проведении исследований. Исследования выполняли на базе лабораторий ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора,

ООО «УГМК-Здоровье» и ГАУЗ СО «Областная станция переливания крови».

Пробы крови отбирали в вакуумные пробирки с K_2 -ЭДТА в количестве 5 мл, отделяли плазму от клеточных элементов с помощью центрифугирования. Плазму переносили в пластиковые пробирки и хранили до проведения исследований при температуре минус 70 °С. Для ИФА использовали «Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к SARS-CoV-2» («SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ», ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия), позволяющий выявлять специфические антитела (IgG) к спайковому (S) белку согласно инструкции производителя. Результаты ИФА регистрировали на планшетных иммуноферментных анализаторах MULTISKAN ASCENT (Thermo Electron Corporation, США) и StatFax 4300 (Awareness Technology Inc., США) с компьютерным обеспечением учета полученных данных. Наличие IgG-иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 определяли путем расчета коэффициента позитивности (КП). Результат анализа считали положительным при $KП \geq 1,1$, отрицательным – при $KП < 0,8$, сомнительным или пограничным – если $0,8 \leq KП < 1,1$.

Статистический анализ. Для изучения проявлений эпидемического процесса COVID-19 в Свердловской области данные по еженедельному числу заболевших логарифмировали, а затем проводили сглаживание с помощью многокомпонентного гармонического колебания, используя аддитивные модели вида:

$$y = \ln(N) = \mu_i + \sum[\alpha_i \sin(\omega t + \varphi_i)] + e_i, \quad (1)$$

где N – число заболевших COVID-19 (еженедельные данные); μ – стационарное состояние (среднее число заболевших COVID-19 за наблюдаемый период); α – амплитуда гармонических колебаний; ω – циклическая частота (период $T = 2\pi/\omega$, недели); φ – начальная фаза i -й гармоники; t (номер отсчета) = первая неделя наблюдений (6–14 апреля 2020 г.) или нулевая точка отсчета; e_i – отклонение ожидаемых от наблюдаемых значений.

Логарифмирование позволяет сделать колебание более симметричным и избежать абсурдных отрицательных предсказанных значений.

Для оценки возможных различий временных трендов проведен ковариационный анализ (ANCOVA) для полученных предсказанных значений по подъемам и спадам заболеваемости COVID-19 во время первой и второй волн пандемии с использованием временного ряда (выраженного в неделях) в качестве ковариаты. Для сравнения линейных трендов (угловых коэффициентов – b) применяли тест Тьюки (Tukey's HSD test).

С целью количественной оценки влияния факторов (период, пол, возрастная группа) на серопревалентность к SARS-CoV-2 рассчитывали шансы обнаружить антитела у лиц, относящихся к различ-

ным индикаторным группам населения. Шансы рассчитывались как отношение числа серопозитивных респондентов (N_1) к числу серонегативных (N_0).

Это позволило использовать стандартный аппарат теории обобщенных линейных моделей (GLM) [6] – логит-регрессию. Оценивали эффекты следующих предикторов (X_i): индикаторные группы («доноры», «медицинские работники», «люди, живущие с ВИЧ/СПИД – ЛЖВС»), период (весна, лето, осень), пол, возрастные группы (18–29, 30–39, 40–49, 50 лет и старше). Для сравнения и ранжирования моделей логит-регрессии использовали вес (относительное правдоподобие – w_i) каждой модели, рассчитанный на основе *состоятельного критерия Акаике (CAIC)*:

$$CAIC = -2LL + k[1 + \ln(m)], \quad (2)$$

$$w_i = \exp(-0,5\Delta CAIC_i) / \sum \exp(-0,5\Delta CAIC_i), \quad (3)$$

где LL – логарифм максимума функции правдоподобия; k – число параметров; m – число наблюдений [7].

Представленный вес интерпретировали как вероятность того, что i -я модель лучше, чем любая другая, при множестве прочих моделей-претендентов. Если вес отличается менее чем на 10 % от w_{max} , считали, что эти модели идентичны по качеству наилучшей [8].

Данные выборки представлены как предсказанные вероятности – $P(X)$, с указанием доверительного интервала (95 % ДИ). Апостериорные (post-hoc) множественные сравнения (после дисперсионного анализа – ANOVA) проводили с помощью теста Тьюки.

Статистическая обработка результатов и их визуализация проведены с использованием пакета прикладных программ Statistica v. 12.0 (StatSoft Inc.) и статистической среды R (v. 3.4.4).

Результаты и обсуждение

Первые случаи COVID-19 в Свердловской области были выявлены на 12–14-й неделях 2020 г. и связаны с заносами из Европейского региона и центральных районов России. Массовое распространение инфекции началось с 16-й недели 2020 г. и имело в 2020 г. двухволновое течение: первый подъем заболеваемости – с 22-й по 33-ю неделю 2020 г., второй подъем – с 40-й недели 2020 г. по 7-ю неделю 2021 г. (рис. 1). В эпидемический процесс COVID-19 были вовлечены все возрастные и социальные группы населения.

Первая волна заболеваемости COVID-19 в Свердловской области характеризовалась более резким подъемом (различие углов наклона трендов (b): 0,06; $p < 0,0001$) и менее резким спадом (различие углов наклона трендов (b): 0,07; $p < 0,0001$), чем вторая волна, при этом вторая волна продолжалась 21 неделю, что в 1,75 раза дольше первой волны, и

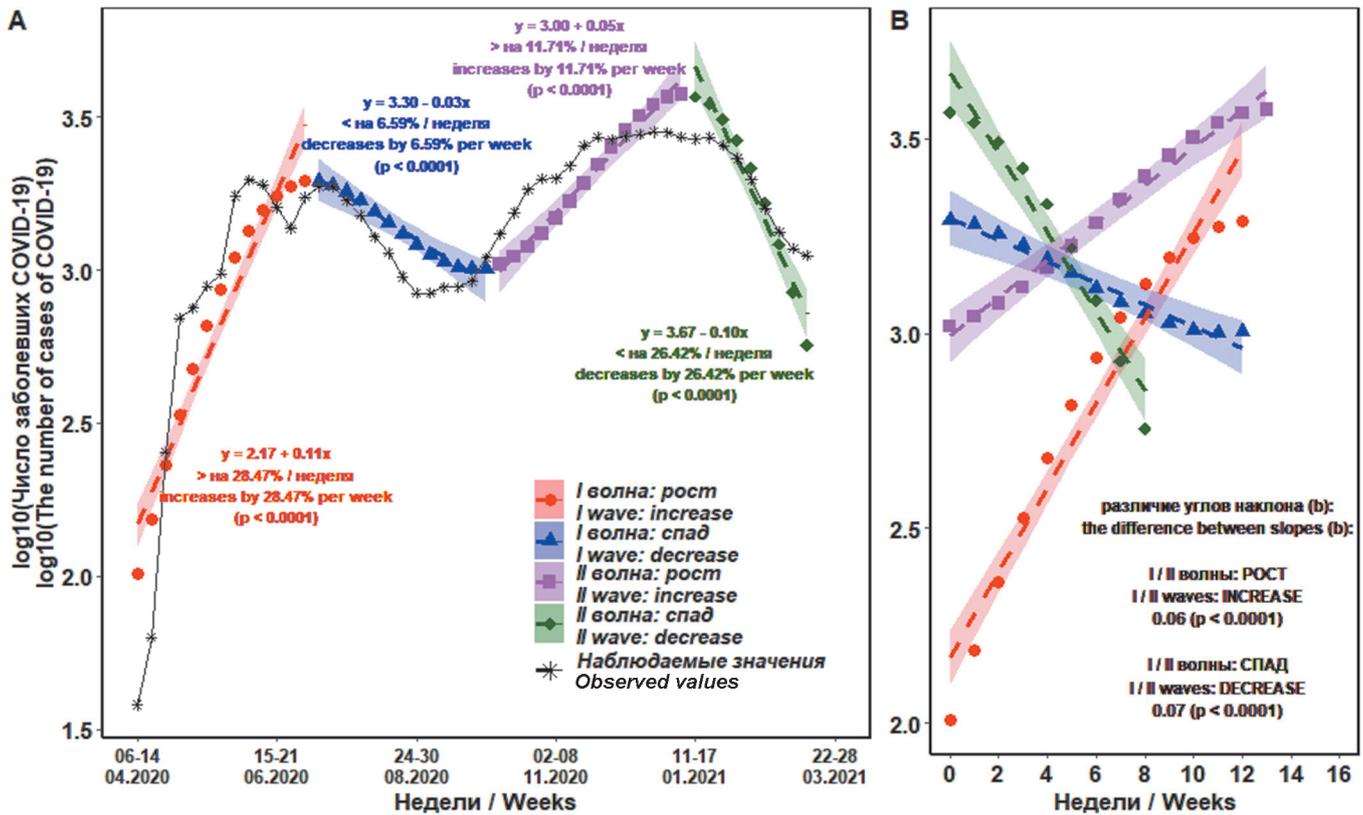


Рис. 1. Динамика заболеваемости COVID-19 в Свердловской области (число заболевших – логарифмированные значения): **A** – линейные тренды для предсказанных значений заболеваемости; **B** – сравнение углов наклона (*b*) для линейной регрессии с помощью критерия Тьюки; недели отсчитываются для каждого роста и спада I и II волн пандемии (0 – начало роста/спада)

Fig. 1. Dynamics of COVID-19 incidence in the Sverdlovsk Region (the number of cases in logarithmic scale): **A** – linear trends for predicted incidence values; **B** – comparison of slope angles (*b*) for linear regression using Tukey’s test; weeks are counted for each growth and decline of the I and II waves of the pandemic (0 – the onset of growth/decline)

достигла максимума в 2834 случая в неделю, что в 1,4 раза выше максимума первой волны.

Установлено статистически значимое различие между отношениями шансов заражения COVID-19 жителей Свердловской области в трех периодах: «Весна» – период до начала первой волны: с 12-й по 21-ю неделю; «Лето» – период первой волны: с 22-й по 33-ю неделю; «Осень» – период начала второй волны: с 40-й по 44-ю неделю. Относительный шанс (*OR*) перенести COVID-19 к завершению первой волны (период «Лето») составил 6,35 (95 % ДИ [6,1–6,6]) по сравнению с периодом «Весна», к 44-й неделе – (период «Осень») *OR*=9,93 (95 % ДИ [9,6–10,3]).

Для описания динамики серопревалентности к SARS-CoV-2 сформировано 16 моделей логит-регрессии с различным составом и комбинациями предикторов: группа наблюдения (доноры, медицинские работники, ЛЖВС); временной период (весна 2020 г. – период до первой волны, лето 2020 г. – первая волна, осень 2020 г. – вторая волна); возрастная группа (18–29, 30–39, 40–49, 50 лет и старше) и пол участников исследования (табл. 1).

Статистическое моделирование с помощью множественной логит-регрессии позволило оценить влияние категориальных факторов. Выявлено статистически значимое ($p < 0,05$) изменение динамики

серопревалентности к SARS-CoV-2, что обусловлено как различиями в группах наблюдения, так и периодом наблюдений. Такие предикторы, как возраст, пол и их комбинации, не оказывали существенного влияния на динамику серопревалентности, что соответствует исследованиям в отношении возрастных групп в диапазоне от 18 до 70 лет, проведенным в Иркутской, Ленинградской, Тюменской областях, г. Санкт-Петербурге, Республике Татарстан, Хабаровском крае [9–14].

Анализ динамики серопревалентности с использованием модели логит-регрессии № 3 показал, что как у доноров, так и медработников динамика шансов выявления антител к SARS-CoV-2 одинаково возрастает от весны к лету ($p=0,20$) и от весны к осени ($p=0,08$). Весной 2020 г. шанс обнаружить антитела к SARS-CoV-2 в группе медицинских работников был выше в 4,6 раза относительно шансов сероконверсии в группе доноров. Летом, в период первой волны, в группе доноров отмечалось резкое увеличение шансов обнаружить антитела к SARS-CoV-2 (в 16,12 раза относительно весны), у медицинских работников – в 17,73 раза. Осенью шанс сероконверсии у доноров стал выше в 45,71 раза относительно весеннего периода, у медицинских работников – в 33 раза, что также положительно коррелирует с интенсивностью эпидемического процесса распростра-

Таблица 1 / Table 1

Отбор оптимальных (min CAIC) моделей логит-регрессии для описания динамики серопревалентности к SARS-CoV-2
Selection of optimum (min CAIC) logit regression models for describing the dynamics of seroprevalence to SARS-CoV-2

№ мод. No. mod.	Предикторы / Predictors	<i>K</i>	<i>CAIC</i>	Δ_{CAIC}	w_i	<i>D</i>	<i>p</i>
	Наличие антител ($N_i=1$), отсутствие антител ($N_i=0$) к SARS-CoV-2; $\text{Ln}(N_i/N_0)=b_0+\sum b_i X_i+\varepsilon$; логит-регрессия, $n=1561$ Presence of antibodies ($N_i=1$), absence of antibodies ($N_i=0$) to SARS-CoV-2; $\text{Ln}(N_i/N_0)=b_0+\sum b_i X_i+\varepsilon$; logit regression, $n=1561$						
16	Группа×Период×Пол×Возраст (четырёхфакторное взаимодействие) Group×Period×Gender×Age (four-factor interaction)	71	33392,8	0,0	~ 0	1383,0	–
15	– Группа×Период×Пол×Возраст – Group×Period×Gender×Age	60	1883,8	14,4	~ 0	1385,3	0,84
14	– Период×Пол×Возраст – Period×Gender×Age	54	1836,3	32,2	~ 0	1389,1	0,71
13	– Группа×Пол×Возраст – Group×Gender×Age	48	1790,0	40,2	~ 0	1394,6	0,24
12	– Группа×Период×Пол – Group×Period×Gender	44	1762,1	51,9	~ 0	1396,4	0,41
11	– Группа×Пол – Group×Gender	42	1747,2	75,2	~ 0	1399,0	0,45
10	– Пол×Возраст – Gender×Age	39	1724,8	112,4	~ 0	1417,0	0,12
9	– Группа×Период×Возраст – Group×Period×Age	27	1642,5	120,6	~ 0	1422,0	0,54
8	Группа+Период+Пол+Возраст+Группа×Период+Период×Пол+Группа×Возраст Group+Period+Gender+Age+Group×Period+Period×Gender+Group×Age	21	1597,4	165,7	~ 0	1426,8	0,57
6	Группа+Период+Пол+Возраст+Группа×Период+Период×Пол Group+Period+Gender+Age+Group×Period+Period×Gender	15	1552,1	247,9	$4,6 \cdot 10^{-17}$	1428,5	0,63
5	Группа+Период+Пол+Группа×Период+Период×Пол Group+Period+Gender+Group×Period+Period×Gender	12	1528,8	270,3	$5,3 \cdot 10^{-12}$	1433,5	0,08
4	Группа+Период+Пол+Группа×Период Group+Period+Gender+Group×Period	10	1517,1	285,3	$1,9 \cdot 10^{-9}$	1433,9	0,52
3	Группа+Период+Группа×Период Group+Period+Group×Period	9	1509,1	313,1	$10,0 \cdot 10^{-8}$	1449,5	0,004
2	Группа+Период Group+Period	5	1491,3	359,5	0,001	1451,8	0,31
1	Период Period	3	1476,9	406,9	0,999	1580,9	<0,0001
7	H_0 – нулевая модель* H_0 – null model*	1	1589,3	31915,9	~ 0	–	–

Примечание: *CAIC* – состоятельный критерий Акаике; Δ_{CAIC} – разность *CAIC*; w_i – относительное правдоподобие (вес) *i*-й модели; *K* – число параметров; *D* – остаточная девианса – мера различия двух сравниваемых моделей (оценка разницы логарифмов правдоподобий); знак «–» – удаление предикторов (факторов и их взаимодействий) из моделей; * – только один параметр, b_0 ; b_0 – свободный член (базовый уровень) – доноры, весенний период наблюдений; № мод. – номер (ранг) лучшей модели.

Note: *CAIC* is a consistent Akaike criterion; Δ_{CAIC} is the difference of *CAIC*; w_i is the relative likelihood (weight) of the *i*th model; *K* is the number of parameters; *D* is the residual deviation – a measure of the difference between the two compared models (estimation of the difference in logarithms of likelihood); the “–” sign is the removal of predictors (factors and their interactions) from the models; * is only one parameter, b_0 ; b_0 is the free term (baseline) – donors, the spring observation period; No. mod. – the number (rank) of the best model.

нения COVID-19 (табл. 2, рис. 2). Таким образом, как для доноров, так и для медработников характерно монотонное нарастание вероятности обнаружения антител к SARS-CoV-2 от весны к осени, а рост шансов сероконверсии не имеет статистически значимой разницы с ростом шансов переболеть COVID-19 в основной популяции (точный критерий Фишера $p=0,35$ и $p=0,76$ соответственно). Данные результаты позволяют считать группы доноров и медицинских работников индикаторными группами населения.

Для ЛЖВС характерна иная динамика серопревалентности: шанс сероконверсии оставался на высоком уровне в течение всего периода наблюдений, в отличие от монотонного роста как в группе доноров, так и в группе медицинских работников ($p=0,04$ и $p=0,002$ соответственно).

Поскольку в регрессионном анализе все коэффициенты сравниваются попарно с базовым уровнем, необходима коррекция уровня значимости, чтобы избежать проблемы множественных сравнений.

Таблица 2 / Table 2

Серопревалентность к SARS-CoV-2 в различных индикаторных группах населения
(модель № 3 логит-регрессии, LR $\chi^2=146,99$; $df=8$; $p<0,0001$)

Seroprevalence to SARS-CoV-2 in various indicator groups of the population (logit regression model No. 3, LR $\chi^2=146,99$; $df=8$; $p<0,0001$)

Регрессионный анализ / Regression analysis								
Группы Groups	Предикторы Predictors	нескор. InOR uncorrec. InOR	p -значение p -level	скор. InOR correc. InOR	скор. OR correc. OR	ln шансов (ln odds)	Шансы (Odds)	P(X)
Дон*Весна Donors*Spring	b_0	-4,60	<0,0001	-4,60	-	-4,60	0,01	1,00
Мед*Весна Medics*Spring	Группа [Мед] Group [Medics]	1,52	0,15	1,52	4,59	-3,07	0,05	4,43
ЛЖВС*Весна PLHA*Spring	Группа [ЛЖВС] Group [PLHA]	3,03	0,01	3,03	20,63	-1,57	0,21	17,24
Дон*Лето Donors*Summer	Период [Лето] Period [Summer]	2,78	0,01	2,78	16,12	-1,82	0,16	14,00
Дон*Осень Donors*Autumn	Период [Осень] Period [Autumn]	3,82	0,0002	3,82	45,71	-0,77	0,46	31,59
Мед*Лето Medics*Summer	Группа [Мед]×Период [Лето] Group [Medics]×Period [Summer]	-1,43	0,20	2,88	17,73	-1,72	0,18	15,19
ЛЖВС*Лето PLHA*Summer	Группа [ЛЖВС]×Период [Лето] Group [PLHA]×Period [Summer]	-2,50	0,04	3,30	27,23	-1,29	0,28	21,57
Мед*Осень Medics*Autumn	Группа [Мед]×Период [Осень] Group [Medics]×Period [Autumn]	-1,85	0,08	3,50	33,00	-1,10	0,33	25,00
ЛЖВС*Осень PLHA*Autumn	Группа [ЛЖВС]×Период [Осень] Group [PLHA]×Period [Autumn]	-3,79	0,002	3,05	21,21	-1,54	0,21	17,65
Дисперсионный анализ (ANOVA) / Analysis of Variance (ANOVA)								
Факторы Factors	LR χ^2	df	p -значение p -level					
Группа / Group	2,31	2	0,31					
Период / Period	97,13	2	<0,0001					
Группа×Период / Group×Period	15,56	4	0,004					

Примечание: b – параметры логит-регрессии (нескорректированные логарифмы отношения шансов); b_0 – свободный член: доноры, весенний период наблюдений; OR – odds ratio – отношение шансов; LR(df) – тест отношения правдоподобий с количеством степеней свободы; P(X) – вероятности; LR χ^2 – отношение правдоподобий, тест хи-квадрат; Дон – «доноры», Мед – «медицинские работники», ЛЖВС – «люди, живущие с ВИЧ/СПИД».

Note: b – logit regression parameters (uncorrected logarithms of the odds ratio); b_0 – free term: donors, spring observation period; OR – odds ratio; LR(df) – likelihood ratio test with degrees of freedom; P(X) – probabilities; LR χ^2 – likelihood ratio, chi-square test; Donors – “donors”; Medics – “medical workers”; PLHA – “people living with HIV/AIDS”.

В связи с этим модель № 3 логит-регрессии уместно рассмотреть как двухфакторный дисперсионный анализ с взаимодействием факторов (см. табл. 2). Для конкретизации различий между группами проводили множественные сравнения с помощью критерия Тьюки с коррекцией уровня значимости (рис. 2, В).

Вероятность обнаружения антител к SARS-CoV-2 статистически значимо возрастает в группе доноров в ряду «весна – осень» ($p=0,005$). Для группы медработников отмечали аналогичные результаты, за исключением статистически незначимых различий между медработниками в летний и осенний периоды при сохранении положительной тенденции. Для группы ЛЖВС отсутствуют статистически значимые различия по вероятностям выявления антител на протяжении всего периода наблюдений ($p=0,99$). Следовательно, для группы ЛЖВС характерна ста-

бильно высокая вероятность обнаружения антител на протяжении всего периода наблюдений. В то же время в этой группе отмечена тенденция к большей вероятности обнаружения антител в весенний период в сравнении с группами доноров и медработников.

Таким образом, изучение серопревалентности ко вновь возникающим инфекциям, безусловно, имеет большое эпидемиологическое значение. Однако в начале развития пандемии такие исследования носят глобальный, всеобъемлющий характер и связаны со значительными организационными трудностями и высокой стоимостью.

Для инфекций с преимущественно аэрогенным механизмом передачи, к которым относится новая коронавирусная инфекция, оптимальными индикаторными группами по изучению серопревалентности являются доноры и сотрудники медицинских ор-

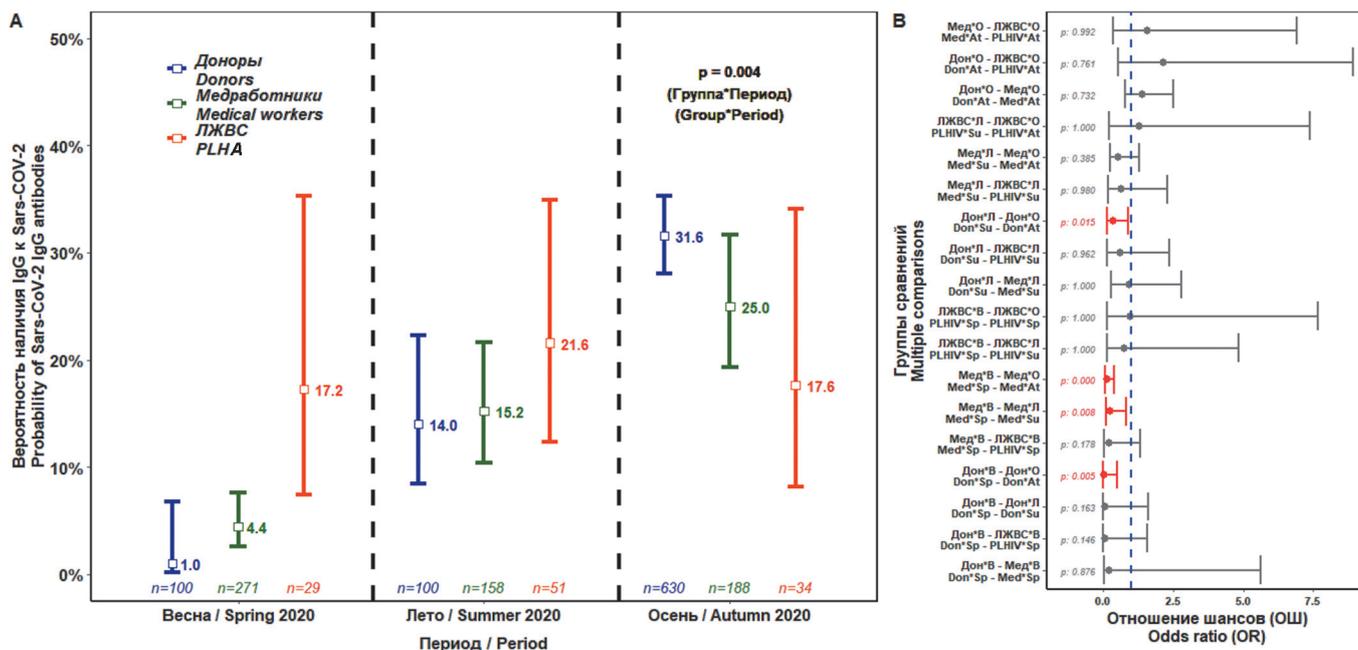


Рис. 2. Сравнение различных индикаторных групп населения в динамике наблюдений по серопревалентности к SARS-CoV-2: **A** – индикаторные группы и период наблюдений (взаимодействие факторов): данные представлены в виде предсказанных вероятностей (P(X)) с указанием 95 % доверительных интервалов; **B** – апостериорные множественные сравнения с помощью критерия Тьюки; *Дон* – «доноры», *Мед* – «медицинские работники», *ЛЖВС* – «люди, живущие с ВИЧ/СПИД»; *В* – Весна, *Л* – Лето, *О* – Осень

Fig. 2. Comparison of various indicator groups of the population in the dynamics of observations on seroprevalence to SARS-CoV-2: **A** – indicator groups and observation period (interaction of factors): data are presented in the form of predicted probabilities (P(X)) with 95 % confidence intervals; **B** – a posteriori multiple comparisons using Tukey’s test; *Don* – “donors”, *Med* – “medical workers”, *PLHA* – “people living with HIV/AIDS”; *Sp* – Spring, *Su* – Summer, *At* – Autumn

ганизаций. Включение ЛЖВС в индикаторную группу является перспективным для более масштабных исследований. Дальнейшее эпидемиологическое наблюдение требует разработки тактики выборочных исследований в индикаторных группах населения.

Использование моделей логистической регрессии является наглядным инструментом, позволяющим определить тренды развития эпидемиологической ситуации на основе мультифакторного анализа динамики серопревалентности к SARS-CoV-2.

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

Источник финансирования. Финансирование исследования осуществлялось в рамках выполнения НИР: «Изучение эпидемического процесса и профилактика вирусных инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (на примере ветряной оспы, норо-, ротавирусной инфекции и др.)» (регистрационный номер в ЕГИСУ НИОКТР 121040500099-5) и «Риск-ориентированный подход к профилактике ВИЧ-инфекции в отдельных группах населения» (регистрационный номер в ЕГИСУ НИОКТР 121041500042-8) отраслевой программы Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней».

Список литературы

- COVID-19. Coronavirus Pandemic. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.worldometers.info/coronavirus> (дата обращения 01.09.2021).
- Официальная информация о коронавирусе в России. Ситуация с COVID-19 в регионе. Свердловская область. [Электронный ресурс]. URL: <https://стопкоронавирус.рф/information> (дата обращения 01.09.2021).
- Erikstrup C., Hother C.E., Pedersen O.B.V., Mølbak K., Skov R.L., Holm D.K., Sækmose S.G., Nilsson A.C., Brooks P.T., Boldsen J.K., Mikkelsen C., Gybel-Brask M., Sørensen E., Dinh K.M., Mikkelsen S., Møller B.K., Haunstrup T., Harritshøj L., Jensen B.A., Hjalgrim H., Lillevang S.T., Ullum H. Estimation of SARS-CoV-2 infection fatality rate by real-time antibody screening of blood donors. *Clin. Infect. Dis.* 2021; 72(2):249–53. DOI: 10.1093/cid/ciaa849.
- Смирнов В.С., Тотолян Арег А. Некоторые возможности иммуноterapiи при коронавирусной инфекции. *Инфекция и иммунитет.* 2020; 10(3):446–58. DOI: 10.15789/2220-7619-SPO-1470.
- Попова А.Ю., Андреева Е.Е., Бабура Е.А., Балахонov С.В., Башкетова Н.С., Буланов М.В., Валеуллина Н.Н., Горяев Д.В., Детковская Н.Н., Ежлова Е.Б., Зайцева Н.Н., Историк О.А., Ковальчук И.В., Козловских Д.Н., Комбарова С.В., Курганова О.П., Кутырев В.В., Ломовцев А.Э., Лукичева Л.А., Лялина Л.В., Мельникова А.А., Микаилова О.М., Носков А.К., Носкова Л.Н., Оглезнева Е.Е., Осмоловская Т.П., Паташина М.А., Пеньковская Н.А., Самойлова Л.В., Смирнов В.С., Степанова Т.Ф., Троценко О.Е., Тотолян А.А. Особенности формирования серопревалентности населения Российской Федерации к нуклеокапсиду SARS-CoV-2 в первую волну эпидемии COVID-19. *Инфекция и иммунитет.* 2021; 11(2):297–323. DOI: 10.15789/2220-7619-FOD-1684.
- McCulloch C.E. Generalized linear models. *J. Am. Stat. Assoc.* 2000; 95:1320–24.
- Akaike H. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.* 1974; 19:716–23. DOI: 10.1109/TAC.1974.1100705.
- Burnham K.P., Anderson D.R. Model Selection and Multi-Model Inference: a Practical Information-Theoretic Approach. New York: Springer; 2002. 488 p.
- Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Балахонov С.В., Чеснокова М.В., Дубровина В.И., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Трухина А.Г., Пережогин А.Н., Пятидесятникова А.Б., Брюхова Д.Д., Киселева Н.О., Gefan H.G., Гаврилова О.В.,

Гаврилова Т.А., Ломоносова В.И., Тотолян А.А. Опыт исследования серопревалентности к вирусу SARS-CoV-2 населения Иркутской области в период вспышки COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 3:106–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-106-113.

10. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Историк О.А., Мосевич О.С., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Черный М.А., Балабышева Н.С., Логинова И.С., Владимиров О.С., Самогладова И.С., Васев Н.А., Румянцев С.В., Чупалова Е.Ю., Селиванова Г.В., Муравьева М.В., Тимофеева Л.В., Ханкишиева Э.Н., Тылчевская В.Д., Никитенко Н.Д., Костеницкая Т.И., Виркунен Н.В., Климкина И.М., Кузьмина Т.М., Дегтяренко Н.В., Базунова А.И., Филиппова Л.А., Пальчикова Н.А., Кукушкин А.В., Арсентьева Н.А., Бацунов О.К., Богумильчик Е.А., Воскресенская Е.А., Дробышевская В.Г., Зуева Е.В., Кокорина Г.И., Курова Н.Н., Любимова Н.Е., Ферман Р.С., Хамдулаева Г.Н., Хамитова И.В., Хорькова Е.В., Миличкина А.М., Дедков В.Г., Тотолян А.А. Оценка популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 среди населения Ленинградской области в период эпидемии COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 3:114–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-114-123.

11. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Башкетова Н.С., Фридман Р.К., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Чхинджерия И.Г., Гречанинова Т.А., Агапов К.А., Арсентьева Н.А., Баженова Н.А., Бацунов О.К., Данилова Е.М., Зуева Е.В., Комкова Д.В., Кузнецова Р.Н., Любимова Н.Е., Маркова А.Н., Хамитова И.В., Ломоносова В.И., Ветров В.В., Миличкина А.М., Дедков В.Г., Тотолян А.А. Популяционный иммунитет к SARS-CoV-2 среди населения Санкт-Петербурга в период эпидемии COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 3:124–30. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.

12. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Патышина М.А., Сизова Е.П., Юзлибаева Л.Р., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Бадамшина Г.Г., Гончарова А.В., Арбузова Т.В., Ломоносова В.И., Тотолян А.А. Характеристика серопревалентности к SARS-CoV-2 среди населения Республики Татарстан на фоне COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2020; 97(6):518–28. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-2.

13. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Троценко О.Е., Зайцева Т.А., Лялина Л.В., Гарбуз Ю.А., Смирнов В.С., Ломоносова В.И., Балахонцева Л.А., Котова В.О., Базыкина Е.А., Бутакова Л.В., Сапег Е.Ю., Алейникова Н.В., Бебенина Л.А., Лосева С.М., Каравьянская Т.Н., Тотолян А.А. Уровень серопревалентности к SARS-CoV-2 среди жителей Хабаровского края на фоне эпидемии COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2021; 98(1):7–17. DOI: 10.36233/0372-9311-92.

14. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Степанова Т.Ф., Шарух Г.В., Летушев А.Н., Фольмер А.Я., Шепоткова А.А., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Степанова К.Б., Панина Ц.А., Сидоренко О.Н., Иванова Н.А., Смирнова С.С., Мальченко И.Н., Охотникова Е.В., Стахова Е.Г., Тотолян А.А. Распределение серопревалентности к SARS-CoV-2 среди жителей Тюменской области в эпидемическом периоде COVID-19. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2020; 97(5):392–400. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-1.

References

1. Worldometer COVID-19. Coronavirus Pandemic. (Cited 01 Sept 2021). [Internet]. Available from: <https://www.worldometers.info/coronavirus>.
2. Official data on the coronavirus in Russia. The situation on COVID-19 in the regions. Sverdlovsk Region. (Cited 01 Sept 2021). [Internet]. Available from: <https://стопкоронавирус.рф/information>.
3. Erikstrup C., Hother C.E., Pedersen O.B.V., Mølbak K., Skov R.L., Holm D.K., Sækmose S.G., Nilsson A.C., Brooks P.T., Boldsen J.K., Mikkelsen C., Gybel-Brask M., Sørensen E., Dinh K.M., Mikkelsen S., Møller B.K., Haunstrup T., Harritshøj L., Jensen B.A., Hjalgrim H., Lillevang S.T., Ullum H. Estimation of SARS-CoV-2 infection fatality rate by real-time antibody screening of blood donors. *Clin. Infect. Dis.* 2021; 72(2):249–53. DOI: 10.1093/cid/ciaa849.
4. Smirnov V.S., Totolyan Areg A. [Some opportunities for immunotherapy in coronavirus infection]. *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2020; 10(3):446–58. DOI: 10.15789/2220-7619-SPO-1470.
5. Popova A.Yu., Andreeva E.E., Babura E.A., Balakhonov S.V., Bashketova N.S., Bulanov M.V., Valeullina N.N., Goryaev D.V., Detkovskaya N.N., Ezhlova E.B., Zaitseva N.N., Istoric O.A., Kovalchuk I.V., Kozlovskikh D.N., Kombarova S.V., Kurganova O.P., Kutuyev V.V., Lomovtsev A.E., Lukicheva L.A., Lyalina L.V., Melnikova A.A., Mikailova O.M., Noskov A.K., Noskova L.N., Oglezneva E.E., Osmolovskiy T.P., Patyashina M.A., Penkovskaya N.A., Samoilova L.V., Smirnov V.S., Stepanova T.F., Trotsenko O.E., Totolyan A.A. [Features of developing SARS-CoV-2 nucleocapsid protein population-based seroprevalence during the first wave of the COVID-19 epidemic in the Russian Federation]. *Infektsiya*

i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]. 2021; 11(2):297–323. DOI: 10.15789/2220-7619-FOD-1684.

6. McCulloch C.E. Generalized linear models. *J. Am. Stat. Assoc.* 2000; 95:1320–24.

7. Akaike H. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr.* 1974; 19:716–23. DOI: 10.1109/TAC.1974.1100705.

8. Burnham K.P., Anderson D.R. Model Selection and Multi-Model Inference: a Practical Information-Theoretic Approach. New York: Springer; 2002. 488 p.

9. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Balakhonov S.V., Chesnokova M.V., Dubrovina V.I., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Trukhina A.G., Perezhogin A.N., Pyatidesyatnikova A.S., Bryukhova D.D., Kiseleva N.O., Gefan N.G., Gavrilova O.V., Gavrilova T.A., Lomonosova V.I., Totolyan A.A. [Experience in studying seroprevalence to SARS-CoV-2 virus in the population of the Irkutsk Region during COVID-19 outbreak]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):106–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-106-113.

10. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Historik O.A., Mosevich O.S., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Cherny M.A., Balabyshova N.S., Loginova I.S., Vladimirova O.S., Samoglyadova I.S., Vasev N.A., Rummyantseva S.V., Chupalova E.Yu., Selivanova G.V., Muraviova M.V., Timofeeva L.V., Khankishieva E.N., Tychevskaya V.D., Nikitenko N.D., Kostenitskaya T.I., Virkunen N.V., Klimkina I.M., Kuzmina T.M., Degtyarenko N.V., Bazunova A.I., Filippova L.A., Palchikova N.A., Kukshkin A.V., Arsentieva N.A., Batsunov O.K., Bogumilchik E.A., Voskresenskaya E.A., Drobyshevskaya V.G., Zueva E.V., Kokorina G.I., Kurova N.N., Lyubimova N.E., Ferman R.S., Khamdulaeva G.N., Khamitova I.V., Khorokva E.V., Milichkina A.A., Dedkov V.G., Totolian A.A. [Assessment of the herd immunity to SARS-CoV-2 among the population of the Leningrad Region during the COVID-19 epidemic]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):114–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-114-123.

11. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Bashketova N.S., Fridman R.K., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Chkhindzheriya I.G., Grechaninova T.A., Agapov K.A., Arsent'eva N.A., Bazhenova N.A., Batsunov O.K., Danilova E.M., Zueva E.V., Komkova D.V., Kuznetsova R.N., Lyubimova N.E., Markova A.N., Khamitova I.V., Lomonosova V.I., Vetrov V.V., Milichkina A.M., Dedkov V.G., Totolyan A.A. [Herd Immunity to SARS-CoV-2 among the population in Saint-Petersburg during the COVID-19 epidemic]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):124–30. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-124-130.

12. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Patyashina M.A., Sizova E.P., Yuzlibaeva L.R., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Badamshina G.G., Goncharova A.V., Arbuзова T.V., Lomonosova V.I., Totolian A.A. [Distribution of SARS-CoV-2 seroprevalence among residents of the Republic of Tatarstan during the COVID-19 epidemic period]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2020; 97(6):518–28. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-2.

13. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Trotsenko O.E., Zaitseva T.A., Lyalina L.V., Garbuz Yu.A., Smirnov V.S., Lomonosova V.I., Balakhontseva L.A., Kotova V.O., Bazykina E.A., Butakova L.V., Sapega E.Yu., Aleinikova N.V., Bebenina L.A., Loseva S.M., Karavyanskaya T.N., Totolyan A.A. [The seroprevalence of SARS-CoV-2 among residents of the Khabarovsk Territory during the COVID-19 epidemic]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2021; 98(1):7–17. DOI: 10.36233/0372-9311-92.

14. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Melnikova A.A., Stepanova T.F., Sharukho G.V., Letyushev A.N., Følmer A. Ya., Shepotkova A.A., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Stepanova K.B., Pанина Ts.A., Sidorenko O.N., Ivanova N.A., Smirnova S.S., Malchenko I.N., Okhotnikova E.V., Stakhova E.G., Totolian A.A. Distribution of SARS-CoV-2 seroprevalence among residents of the Tyumen Region during the COVID-19 epidemic period. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2020; 97(5):392–400. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-5-1.

Authors:

Mishchenko V.A. Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections of the SSC VB "Vector"; 23, Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences; 202, March 8th St., Yekaterinburg, 620144, Russian Federation. E-mail: mischenko_va@eniivi.ru.

Pitersky M.V., Vyalykh I.V., Bykov I.P., Vyatkina L.G., Makhorina T.V. Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections of the SSC VB "Vector". 23, Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation.

Platonova T.A. European Medical Center "UMMC-Health". 113, Sheinkman St., Yekaterinburg, 620144, Russian Federation.

Smirnova S.S. Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections of the SSC VB "Vector"; 23, Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. Ural State Medical University of the Ministry of Health of Russia; 3, Repin St., Yekaterinburg, 620028, Russian Federation.

Orlov A.M., Popkova N.G. Regional Blood Transfusion Station. 8, Palmiro Togliatti St., Yekaterinburg, 620102, Russian Federation.

Semenov A.V. Yekaterinburg Research Institute of Viral Infections of the SSC VB "Vector"; 23, Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin; 19, Mira St., Yekaterinburg, 620002, Russian Federation.

Об авторах:

Мищенко В.А. Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»; Российская Федерация, 620030, Екатеринбург, ул. Летняя, 23. Институт экологии растений и животных Уральского отделения РАН; Российская Федерация, 620144, Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202. E-mail: mischenko_va@eniivi.ru.

Путерский М.В., Вялых И.В., Быков И.П., Вяткина Л.Г., Махорина Т.В. Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор». Российская Федерация, 620030, Екатеринбург, ул. Летняя, 23.

Платонова Т.А. Европейский медицинский центр «УГМК-Здоровье». Российская Федерация, 620144, Екатеринбург, ул. Шейнкмана, 113.

Смирнова С.С. Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»; Российская Федерация, 620030, Екатеринбург, ул. Летняя, 23. Уральский государственный медицинский университет Минздрава России. Российская Федерация, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3.

Орлов А.М., Попкова Н.Г. Областная станция переливания крови. Российская Федерация, 620102, Екатеринбург, ул. Пальмиро Тольятти, 8.

Семенов А.В. Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»; Российская Федерация, 620030, Екатеринбург, ул. Летняя, 23. Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина; Российская Федерация, 620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-122-129

УДК 616.98:579.842.23

К.А. Никифоров¹, О.А. Морозов¹, Г.А. Ерошенко¹, Е.Г. Оглодин¹, Л.М. Куклева¹, Е.А. Нарышкина¹,
Я.М. Краснов¹, В.М. Корзун², С.В. Балахонов², В.В. Кутырев¹

АНАЛИЗ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ *YERSINIA PESTIS* АЛТАЙСКОГО БИОВАРА ЦЕНТРАЛЬНОАЗИАТСКОГО ПОДВИДА ПО ДАННЫМ ПОЛНОГЕНОМНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

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

²ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация

Цель работы – филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis* алтайского биовара центральноазиатского подвида, выделенных в 1965–2020 гг. в Горно-Алтайском высокогорном и Сайлюгемском природном очагах чумы на территории России и Монголии, по данным полногеномного секвенирования. **Материалы и методы.** Для определения популяционной структуры алтайского биовара центральноазиатского подвида были использованы 34 полногеномные последовательности (включая 20 штаммов *Y. pestis* алтайского биовара, 18 из которых секвенированы нами). Для выделения ДНК штаммов *Y. pestis* использовали набор реагентов PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, США). Секвенирование нуклеотидных последовательностей штаммов *Y. pestis* проводили в Ion PGM system Lifetechnologies. Анализ и обработку полученных данных выполняли в Newblergs Assembler 2.6 и IonTorrent Suite software package, 3.4.2. Поиск SNPs проводили, используя программу Wombac 2.0. Дендрограмму Maximum Likelihood строили с помощью программ PhyML 3.1. Визуализацию дендрограммы проводили с помощью программы FigTree 1.4.3. **Результаты и обсуждение.** По данным полногеномного анализа с учетом 1871 выявленного полиморфного нуклеотида определена пространственная структура алтайского биовара центральноазиатского подвида, включающая несколько филогеографических ветвей: Курайско-Тархатинскую (кластер 0.PE4a-1) и Уландрыкско-Монгольскую (0.PE4a-2), что находится в согласовании с географическими регионами выделения штаммов, образующих эти ветви в Горном Алтае. Курайско-Тархатинская ветвь делится с формированием Курайской (субкластер 0.PE4a-1-1, образованный штаммами 2009–2018 гг.) и Тархатинской (субкластер 0.PE4a-1-2, образованный штаммами 2012–2020 гг.) подветвей, а Уландрыкско-Монгольская ветвь эволюции делится на подветви, представленные штаммами из Уландрыкского мезоочага (субкластер 0.PE4a-2-2, штаммы 1965–2010 гг.) и Сайлюгемского очага Монголии (субкластер 0.PE4a-2-1, штаммы 1964–1990 гг.).

Ключевые слова: возбудитель чумы, природные очаги, алтайский биовар центральноазиатского подвида, филогенетический анализ.

Корреспондирующий автор: Никифоров Константин Алексеевич, e-mail: rusrap@microbe.ru.

Для цитирования: Никифоров К.А., Морозов О.А., Ерошенко Г.А., Оглодин Е.Г., Куклева Л.М., Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Корзун В.М., Балахонов С.В., Кутырев В.В. Анализ пространственной структуры популяции *Yersinia pestis* алтайского биовара центральноазиатского подвида по данным полногеномного секвенирования. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 1:122–129. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-122-129

Поступила 09.07.2021. Отправлена на доработку 04.08.2021. Принята к публ. 23.12.2021.

K.A. Nikiforov¹, O.A. Morozov¹, G.A. Eroshenko¹, E.G. Oglochin¹, L.M. Kukleva¹, E.A. Naryshkina¹,
Ya.M. Krasnov¹, V.M. Korzun², S.V. Balakhonov², V.V. Kutyrav¹

Spatial Structure of *Yersinia pestis* Population Belonging to Altai Biovar, Subspecies *central asiatica* According to Genome-Wide Sequencing Data

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

²Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to conduct phylogenetic analysis of *Y. pestis* strains, biovar altaica ssp. *central asiatica*, isolated in Gorno-Altai high-mountain and Sailyugem natural plague foci on the territory of Russia and Mongolia in 1965–2020, by full-genome sequencing data. **Materials and methods.** To determine the population structure of the biovar altaica ssp. *central asiatica*, 34 whole genome sequences were used (including 20 *Y. pestis* strains of the biovar altaica, 18 of which were sequenced by us). To isolate DNA from the *Y. pestis* strains, a PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, USA) was applied. Sequencing of the nucleotide sequences of *Y. pestis* strains was carried out in Ion PGM system Lifetechnologies. The analysis and processing of the obtained data were performed with the help of Newblergs Assembler 2.6 and IonTorrent Suite software package, 3.4.2. The search for SNPs was performed using the Wombac 2.0 program. The Maximum Likelihood dendrogram was built in the PhyML 3.1. The dendrogram was visualized using the FigTree 1.4.3 software. **Results and discussion.** Based on the data of whole genome analysis, taking into account the 1871 revealed polymorphic nucleotides, the spatial structure of the biovar altaica ssp. *central asiatica* has been determined. It includes several phylogeographic branches: the Kurai-Tarkhatinskaya (cluster 0.PE4a-1) and the Ulandryk-Mongolian (0.PE4a-2), which is in agreement with the geographical regions of the isolation of strains forming these branches in the Altai Mountains. The Kurai-Tarkhatinskaya branch is further divided into the Kurai (sub-cluster 0.PE4a-1-1, formed by the strains of 2009–2018) and Tarkhatinskaya (subcluster 0.PE4a-1-2, formed by the strains of 2012–2020) sub-branches, while the Ulandryk-Mongolian branch of evolution is split into sub-branches represented by strains from the Ulandryk meso focus (sub-cluster 0.PE4a-2-2, strains 1965–2010) and the Sailyugem focus of Mongolia (sub-cluster 0.PE4a-2-1, strains 1964–1990).

Key words: plague agent, natural foci, biovar altaica ssp. central asiatica, phylogenetic analysis.

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

Corresponding author: Konstantin A. Nikiforov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Nikiforov K.A., Morozov O.A., Eroshenko G.A., Oglodin E.G., Kukleva L.M., Naryshkina E.A., Krasnov Ya.M., Korzun V.M., Balakhonov S.V., Kutyrev V.V. Spatial Structure of *Yersinia pestis* Population Belonging to Altai Biovar, Subspecies *central asiatica* According to Genome-Wide Sequencing Data. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*, 2022; 1:122–129. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-122-129

Received 09.07.2021. Revised 04.08.2021. Accepted 23.12.2021.

Nikiforov K.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4115-9486>
 Eroshenko G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-989X>
 Oglodin E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2955-3034>
 Kukleva L.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-8364>
 Naryshkina E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9190-099X>

Krasnov Ya.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>
 Korzun V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1947-5252>
 Balakhonov S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>
 Kutyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Чума – зооантропонозная особо опасная инфекция, природные очаги которой расположены на всех континентах, кроме Австралии и Антарктиды, в горных, степных, полупустынных и пустынных типах географического ландшафта [1]. Чума представляет угрозу общественному здравоохранению и в настоящее время, вызывая каждый год спорадические вспышки в очагах всего мира. В Российской Федерации и в странах бывшего СССР действуют 45 очагов чумы, расположенных в Прикаспии, Сибири, на Кавказе и в Центральной Азии [2, 3]. Ландшафтное и климатическое многообразие этих территорий послужило причиной существования различных популяций возбудителя чумы.

На севере центральноазиатской зоны природной очаговости чумы расположены Горно-Алтайский высокогорный очаг в Российской Федерации (представляет собой северную российскую часть Сайлюгемского природного очага) и Сайлюгемский природный очаг в Монголии. Площадь этих очагов составляет около 28600 кв. км. Эпизоотическая активность по чуме в монгольской части очага впервые зарегистрирована в 1953 г., в российской – позднее, в 1961 г. [2]. Выделенные здесь штаммы *Yersinia pestis* были отнесены к алтайскому подвиду *Y. pestis* subspecies (ssp.) *altaica* в соответствии с использовавшейся классификацией возбудителя чумы [4]. По разработанной зарубежными исследователями генетической номенклатуре ветвей эволюции алтайский подвид относят к филогенетической ветви 0.PE4 [5–7]. По новой усовершенствованной классификации возбудителя чумы алтайский подвид получил обозначение алтайского биовара центральноазиатского подвида – *Y. pestis* ssp. *central asiatica* biovar (bv.) *altaica* и отнесен к филогенетической ветви 0.PE4a [8, 9]. Кроме алтайского биовара в центральноазиатский подвид включены также три других биовара: гиссарский (0.PE4h), таласский (0.PE4t) и *microtus* (0.PE4m). Популяции биоваров центральноазиатского подвида распространены в центральноазиатской зоне природной очаговости чумы на территории таких стран, как Россия, Монголия, Китай, Киргизия, Таджикистан. Ареал алтайского биовара находится на территории Горно-Алтайского высокогорного очага (представляющего собой северную российскую часть Сайлюгемского природного очага), Сайлюгемского природного очага в Монголии [2, 4, 10] и ряда других природных очагов Монголии [7, 11, 12]. Штаммы алтайского биовара

имеют свои отличительные биохимические свойства, общие с тремя другими биоварами центральноазиатского подвида. Они, как и другие неосновные подвиды, утилизируют дисахариды рамнозу и мелибиозу, но не ферментируют дисахарид арабинозу и не редуцируют нитраты, что связано с мутациями в генах, кодирующих эти признаки [13, 14]. Эти отличия используются для дифференциации центральноазиатского от других подвидов *Y. pestis*. В 2012 г. в Горно-Алтайском высокогорном очаге впервые за всю историю наблюдения выделен штамм *Y. pestis* ssp. *pestis* античного биовара филогенетической ветви 4.ANT. Ранее штаммы 4.ANT выделяли только в Тувинском горном очаге в России и природных очагах Монгольского Алтая. В результате расширения ареала популяции 4.ANT в 2014–2016 гг. в Республике Алтай произошли случаи заболевания чумой человека [15]. По этой причине Горно-Алтайский высокогорный очаг был отнесен к сочетанным очагам с одновременной циркуляцией основного и алтайского биовара центральноазиатского подвида с повышением эпидемической значимости очага [9]. Основным носителем *Y. pestis* ssp. *central asiatica* bv. *altaica* в очаге является монгольская пищуха (*Ochotona pallasi*); в нем выделено три мезоочага, пространственно соответствующих популяциям этого животного [4]. Основным носителем *Y. pestis* ssp. *pestis* является серый сурок (*Marmota baibacina*) [16].

Популяционная структура алтайского биовара до сих пор была исследована в основном с помощью метода мультилокусного VNTR-анализа (от англ. variable number tandem repeats) по 25 локусам переменных тандемных повторов – MLVA25 [4, 16]. Этот метод обладает высокой разрешающей способностью для разделения штаммов *Y. pestis*, но имеет ограниченное применение для реконструкции долговременной эволюции и анализа филогенетического родства штаммов. Более эффективным методом для решения этих задач является анализ полиморфизма единичных нуклеотидов (SNP) в полногеномных последовательностях штаммов. Точность филогенетической реконструкции зависит от набора штаммов, использованного для анализа исследуемой популяции.

Цель работы – филогенетический анализ штаммов *Y. pestis* алтайского биовара центральноазиатского подвида, выделенных с 1964 по 2020 год на территории России и Монголии, по данным полногеномного секвенирования.

Материалы и методы

Штаммы *Y. pestis*, условия культивирования, биохимический анализ. Используемые в работе штаммы *Y. pestis* получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб» (табл. 1). Штаммы выращивали на LB агаре и в LB

бульоне (рН 7,2) при 28 °С в течение 24–48 ч. Анализ биохимических свойств штаммов проводили общепринятыми методами, используемыми в лабораторной диагностике чумы [17].

Определение нуклеотидных последовательностей, выявление SNPs и филогенетический анализ. Для выделения ДНК штаммов *Y. pestis* использова-

Таблица 1 / Table 1

Штаммы *Y. pestis* алтайского биоара, полногеномные последовательности которых использованы в работе
Strains of *Y. pestis* of the biovar altaica, whose genome-wide sequences were used in the work

Штамм Strain	Место выделения Site of isolation	Год, объект выделения Year, object of isolation
912-914	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Центральная часть Курайского хребта Republic of Altai, Kosh-Agach district, Central part of Kuraisky range	2018 г., монгольская пищуха <i>Ochotona pallasi</i> 2018, Mongolian pika, <i>Ochotona pallasi</i>
И-3531	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Восточная часть Курайского хребта Republic of Altai, Kosh-Agach district, Eastern part of Kuraisky range	2009 г., блохи <i>Amphalius runatus</i> 2009, <i>Amphalius runatus</i> fleas
И-3705	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Восточная часть Курайского хребта Republic of Altai, Kosh-Agach district, Eastern part of Kuraisky range	2019 г., блохи <i>Ctenophyllus hirticrus</i> 2019, <i>Ctenophyllus hirticrus</i> fleas
И-3704	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Восточная часть Курайского хребта Republic of Altai, Kosh-Agach district, Eastern part of Kuraisky range	2019 г., блохи <i>Paramonopsyllus scalonae</i> 2019, <i>Paramonopsyllus scalonae</i> fleas
1313	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Сербисту Republic of Altai, Kosh-Agach district, Serbistu plot	2014 г., блохи <i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i> 2014, <i>Paradoxopsyllus scorodumovi</i> fleas
1139	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Восточная часть Курайского хребта Republic of Altai, Kosh-Agach district, Eastern part of Kuraisky range	2018 г., блохи <i>P. scorodumovi</i> 2018, <i>P. scorodumovi</i> fleas
М-1948 (2751-55)	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Кок-Озёк Republic of Altai, Kosh-Agach district, Kok-Ozek plot	2012 г., монгольская пищуха <i>O. pallasi</i> 2012, Mongolian pika <i>O. pallasi</i>
2183(И-1023)	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Стационар Republic of Altai, Kosh-Agach district, Stasionar plot	1965 г., серый сурок <i>Marmota baibacina</i> 1965, gray marmot <i>Marmota baibacina</i>
И-1031	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Стационар Republic of Altai, Kosh-Agach district, Stasionar plot	1965 г., длиннохвостый суслик <i>Spermophilus undulates</i> 1965, long-tailed souslik <i>Spermophilus undulates</i>
И-2998	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Стационар, лог Кызыл-Тас Republic of Altai, Kosh-Agach district, Stasionar plot, Kyzyl-Tas ravine	1982 г., монгольская пищуха <i>O. pallasi</i> 1982, Mongolian pika <i>O. pallasi</i>
М-1912	Республика Алтай, Кош-Агачский район, Уландрыкский мезоочаг Republic of Altai, Kosh-Agach district, Ulandryksky meso focus	2010 г., блохи <i>C. hirticrus</i> 2010, <i>C. hirticrus</i> fleas
И-971	МНР, Завханский аймак, Шилуустэй сомон, местность Дуутын ор Хонхор Mongolian People's Republic (MPR), Shiluustey sum, Duutyn or Khonkhor area	1964 г., полевка Брандта <i>Lasiopodomys brandti</i> 1964, Brandt's vole <i>Lasiopodomys brandti</i>
И-2795	МНР, Баян-Улгийский аймак, Ногоон нуур сомон, участок Дурбет-Даба MPR, Bayan-Ulgi aimak, Nogoon nuur sum, Durbet-Daba plot	1978 г., длиннохвостый суслик <i>S. undulates</i> 1978, long-tailed souslik <i>S. undulates</i>
И-2637	МНР, Баян-Улгийский аймак, Ногоон нуур сомон, участок Ортен-Булаг MPR, Bayan-Ulgi aimak, Nogoon nuur sum, Orten-Bulag plot	1977 г., серый сурок <i>M. baibacina</i> 1977, gray marmot <i>M. baibacina</i>
И-3281	МНР, Баян-Улгийский аймак, Улаанхус сомон, участок Худак MPR, Bayan-Ulgi aimak, Ulaankhus sum, Khudag plot	1990 г., блохи <i>P. scorodumovi</i> 1990, <i>P. scorodumovi</i> fleas
И-3280	МНР, Баян-Улгий аймак, Улаанхус сомон, участок Худак MPR, Bayan-Ulgi aimak, Ulaankhus sum, Khudag plot	1990 г., монгольская пищуха <i>O. pallasi</i> 1990, Mongolian pika <i>O. pallasi</i>
И-3727	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Середина реки Чаган-Узун Republic of Altai, Kosh-Agach district, mid-stream of the river Chagan-Uzun	2020 г., блохи <i>P. scalonae</i> 2020, <i>P. scalonae</i> fleas
И-3724	Республика Алтай, Кош-Агачский район, участок Середина реки Чаган-Узун Republic of Altai, Kosh-Agach district, mid-stream of the river Chagan-Uzun	2020 г. блохи <i>C. hirticrus</i> 2020, <i>C. hirticrus</i> fleas
Pestoides A*	Неизвестно Unknown	Неизвестно Unknown
Pestoides B*	Неизвестно Unknown	Неизвестно Unknown

Примечание: * – штаммы взяты из GenBank; МНР – Монгольская Народная Республика.

Note: * – strains obtained from GenBank. MPR – Mongolian People's Republic.

ли набор реагентов PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen, США). Секвенирование нуклеотидных последовательностей штаммов *Y. pestis* проводили в Ion PGM system Lifetechnologies. Анализ и обработку полученных данных выполняли в Newblergs Assembler 2.6 и IonTorrent Suite soft warepackage, 3.4.2. Для поиска SNPs применяли Wombac 2.0 (<https://github.com/tseemann/wombac>), затем удаляли единичные нуклеотидные замены, находящиеся в областях гомоплазии генома [7]. Дендрограмму Maximum Likelihood получали с помощью программы PhyML 3.1 (<http://www.atgc-montpellier.fr/phyml>), используя модель НКУ85. Визуализацию дендрограммы проводили с помощью программы FigTree 1.4.3 (<http://influenza.bio.ed.ac.uk/software/figtree>).

Результаты и обсуждение

Для филогенетического анализа и определения популяционной структуры *Y. pestis* алтайского биовара нами использовано 34 полногеномных последовательности штаммов *Y. pestis*, 20 из которых принадлежали к алтайскому биовару центральноазиатского подвида (18 секвенировано нами), выделенных в период с 1964 по 2020 год в России и Монголии от различных носителей и переносчиков.

Филогенетический анализ и построение дендрограммы по алгоритму Maximum Likelihood осуществ-

ляли на основе обнаруженной 1871 коровой SNPs в нуклеотидных последовательностях 34 штаммов *Y. pestis* (рис. 1). На дендрограмме штаммы центральноазиатского подвида образовали отдельную филогенетическую ветвь 0. PE4, делящуюся на четыре подветви: 0. PE4m (биовар microtus), 0. PE4h (гиссарский биовар), 0. PE4t (таласский биовар) и 0. PE4a (алтайский биовар). Все 20 штаммов алтайского биовара вошли в состав подветви 0. PE4a, расположенной изолированно в составе центральноазиатского подвида. У штаммов, входящих в состав подветви 0. PE4a, выявлено 23 общих уникальных SNPs (преимущественно в кодирующих последовательностях), отделяющих их от других штаммов *Y. pestis* (табл. 2).

Различия между штаммами внутри подветви 0. PE4a составляют от 1 до 11 SNPs. На дендрограмме подветвь 0. PE4a делится на два кластера. Первый кластер 0. PE4a-1 (9 штаммов) имеет 4 уникальных SNPs (две – в кодирующих последовательностях). У второго кластера 0. PE4a-2 (11 штаммов) присутствуют 11 уникальных SNPs (9 – в кодирующих последовательностях) (табл. 2). Кластер 0. PE4a-1 образован штаммами, выделенными на территории Курайского и Тархатинского мезоочагов Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы, представляющего собой российскую часть трансграничного Сайлюгемского очага. Штаммы, вы-

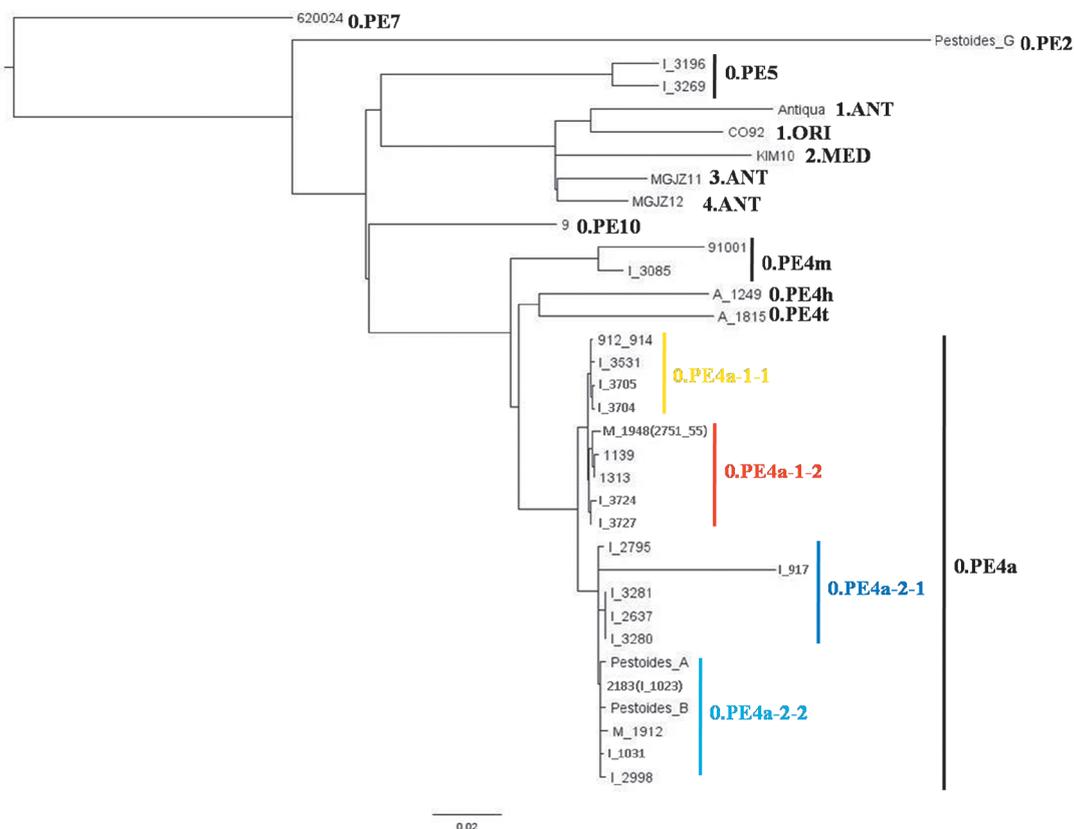


Рис. 1. Филогенетический анализ штаммов *Y. pestis* алтайского биовара центральноазиатского подвида на основе выявленной 1871 коровой SNPs 34 штаммов из природных очагов России, Монголии, а также штаммов из других регионов мира. Алгоритм Maximum Likelihood, программа PhyML 3.1, модель НКУ85

Fig. 1. Phylogenetic analysis of *Y. pestis* strains, biovar altaica, subspecies central asiatica, based on identified 1871 core SNPs of 34 strains from natural foci in Russia, Mongolia, as well as strains from other regions of the world. Maximum Likelihood algorithm, PhyML 3.1, model НКУ85

Таблица 2 / Table 2

SNPs, уникальные для штаммов *Y. pestis* алтайского биоэара центральноазиатского подвида
SNPs unique to *Y. pestis* strains of the altaica biovar, subspecies *central asiatica*

Позиция SNP от начала генома* Position of the SNP from the beginning of the genome*	Мутация Mutation	Замена аминокислоты Amino acid substitution	Ген, локус, межгенное пространство Gene, locus, intergenic space	Филогенетическая ветвь Phylogenetic branch
96740	G → A	–	<i>tri</i>	0.PE4a
101221	G → A	–	<i>glpK</i>	
469276	A → G	–	<i>YPO0496, b4391</i>	
794121	A → C	Valine→Glycine	<i>YPO0763</i>	
1224618	G → T	–	<i>YPO1076 – YPO1077</i>	
1280052	T → C	Tryptophan→Arginine	<i>aroG</i>	
1715235	G → A	–	<i>mglC – sanA</i>	
1763809	G → A	Proline→Serine	<i>hisD</i>	
1798946	G → T	–	<i>YPO1576 – YPO1577</i>	
2162210	A → T	–	<i>irp2 – ybtA</i>	
2184227	C → T	Glutamic acid→Glycine	<i>YPO1926</i>	
2095334	G → A	Alanine→Valine	<i>poaA</i>	
2276678	C → T	–	<i>YPO2774 – YPO2475</i>	
2349205	C → T	Leucine→Phenylalanine	<i>YPO2068</i>	
3106018	T → G	Valine→Glycine	<i>cvpA</i>	
3219815	A → T	–	<i>ndk</i>	
3355215	C → A	Glycine→Cysteine	<i>YPO3002</i>	
4064027	A → C	Leucine→Arginine	<i>YPO3641</i>	
4308402	G → T	–	<i>YPO3839</i>	
4412614	G → A	–	<i>argC – argE</i>	
4431907	G → T	Proline→Glutamine	<i>glgB</i>	
4464500	G → T	Aspartic acid→Tyrosine	<i>YPO3965</i>	
4638911	A → T	–	<i>pstS – glmS</i>	
330713	G → A	–	<i>tyrB – YPO0323</i>	
1393685	T → C	–	<i>YPO1223 – YPO1234</i>	
1784361	C → T	Leucine→Proline	<i>YPO1563</i>	
3771762	G → T	Glycine→Valine	<i>barA</i>	
959824	C → A	Arginine→Leucine	<i>YPO0873</i>	
493535	A → G	Asparagine→Serine	<i>YPO0465</i>	
41536	C → T	Histidine→Tyrosine	<i>fabY</i>	
721592	G → C	Threonine→Arginine	<i>YPO_RS04280</i>	
774000	G → T	–	<i>glbD</i>	
1864073	A → C	–	<i>asuE</i>	
1966375	G → A	Glutamine→Nonsense Mutation	<i>YPO1712</i>	
2246161	G → A	–	<i>YPO1976 – YPO1977</i>	
2306367	C → T	Arginine→Cysteine	<i>YPO3799</i>	
2666347	C → T	–	<i>pep</i>	
3761271	G → A	Serine→Leucine	<i>cysG</i>	
3810544	C → T	–	<i>speD</i>	
4052890	A → G	–	<i>YPO3632 – YPO3633</i>	
3178225	G → T	Arginine→Leucine	<i>YPO2846</i>	
				0.PE4a-2

Примечание: * – указана позиция по геному референтного штамма *Y. pestis* CO92 (номер доступа в NCBI Genbank № NC_003143.1).

Note: * – indicates the position across the genome of the reference strain, *Y. pestis* CO92 (access number in NCBI Genbank no. NC_003143.1).

деленные на территории Уландрыкского мезочага Горно-Алтайского высокогорного очага чумы и монгольской части Сайлюгемского очага, а также один штамм с территории аймака Завхан в Монголии вошел в кластер 0.PE4a-2.

В свою очередь кластер 0.PE4a-1 делится на два субкластера. Субкластер 0.PE4a-1-1, включаю-

щий четыре штамма: 912-914, И-3531, И-3705 и И-3704 (2009–2019 гг.), – имеет одну общую SNP в кодирующей последовательности. Штаммы, входящие в состав этого субкластера, выделены в период с 2009 по 2019 год на территории Курайского мезочага на участках Восточной и Центральной частей Курайского хребта (рис. 2). Второй субкластер

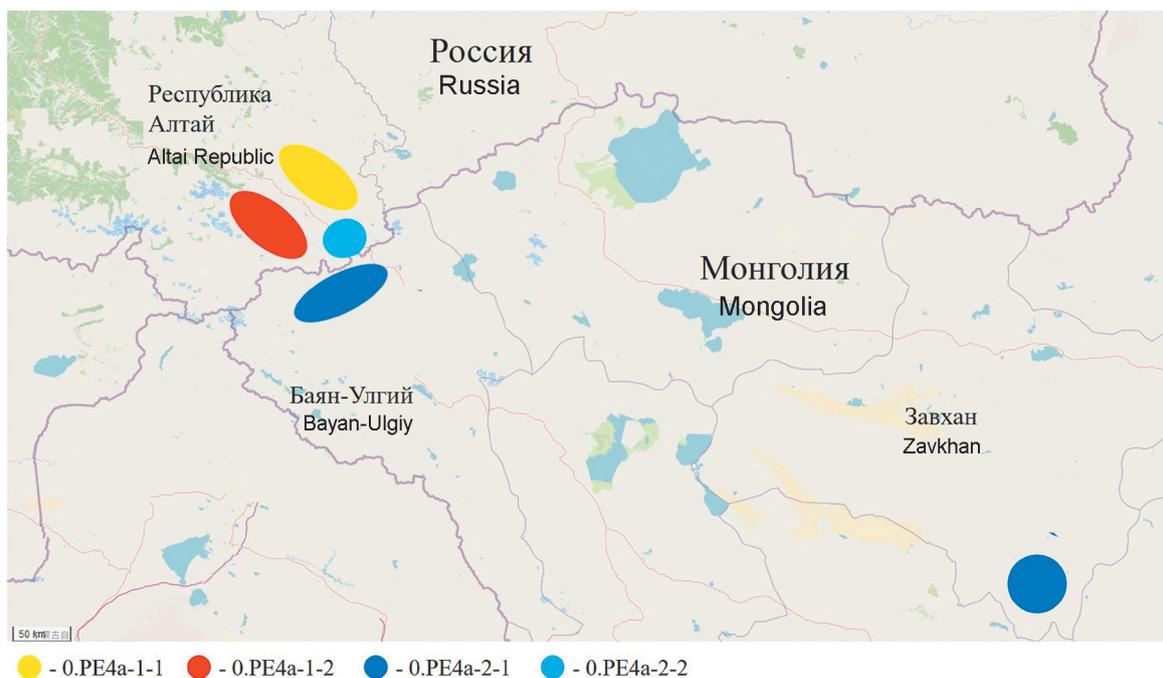


Рис. 2. Географическое распространение различных популяций *Y. pestis* алтайского биовара центральноазиатского подвида филогенетической ветви 0. PE4a. Для рисунка использована карта с сайта OpenStreetMap (www.openstreetmap.org/copyright)

Fig. 2. Geographical distribution of different populations of *Y. pestis*, biovar altaica subspecies central asiatica, of the 0. PE4a phylogenetic branch. The map used in this figure is downloaded from the OpenStreetMap website (www.openstreetmap.org/copyright)

0. PE4a-1-2, образованный пятью штаммами: М-1948 (2751-55), 1139, 1313, И-3724 и И-3727, – отличается одной SNP, тоже расположенной в кодирующей последовательности. Штаммы, которые вошли в состав этого субкластера, выделены в период с 2012 по 2020 год на территории Тархатинского мезоочага. Исключение составил штамм 1139, полученный в Курайском мезоочаге, но, возможно, занесенный сюда из Тархатинского мезоочага.

Второй кластер 0. PE4a-2 объединяет штаммы, нуклеотидные последовательности которых имеют 11 общих SNPs. В составе этого кластера штаммы И-2795, И-3281, И-2637, И-3280 и И-971 образовали субкластер 0. PE4a-2-1. Эти штаммы выделены в Монголии на территории Баян-Улгийского и Завханского аймаков в период с 1964 по 1990 год. Штаммы 2183 (И-1023), И-1031, И-2998 и М-1912, полученные в Уландрыкском мезоочаге в период с 1965 по 2010 год, вместе со штаммами Pestoides A и Pestoides B (NCBI GenBank) (скорее всего, они выделены в том же мезоочаге) образовали другой субкластер 0. PE4a-2-2 (1 SNP) в составе кластера 0. PE4a-2 (рис. 1). Штаммы, циркулирующие в Уландрыкском мезоочаге, имеют наименьшее количество единичных нуклеотидных замен среди всего кластера алтайского биовара, что позволяет предположить, что они более близки к предковым формам алтайского биовара. Эти данные согласуются с гипотезой, высказанной на основании анализа популяционно-экологических закономерностей распространения *Y. pestis* алтайского биовара центральноазиатского подвида в Юго-Восточном Алтае, о вероятном заносе возбудителя из Северо-Западной Монголии в

Уландрыкскую популяцию монгольской пищухи, а затем из нее в Тархатинскую и Курайскую популяции основного носителя [18].

Полученные нами данные полногеномного секвенирования и молекулярно-генетического анализа штаммов алтайского биовара центральноазиатского подвида свидетельствуют о существовании двух основных ветвей эволюции: Курайско-Тархатинской (кластер 0. PE4a-1) и Уландрыкско-Монгольской (0. PE4a-2), что согласуется с географическими регионами выделения этих штаммов в Горном Алтае. В свою очередь Курайско-Тархатинская ветвь делится на Курайскую (субкластер 0. PE4a-1-1, штаммы 2009–2018 гг.) и Тархатинскую (субкластер 0. PE4a-1-2, штаммы 2012–2020 гг.) подветви, а Уландрыкско-Монгольская ветвь эволюции делится на подветви из Уландрыкского мезоочага (субкластер 0. PE4a-2-2, штаммы 1965–2010 гг.) и Сайлюгемского очага Монголии (субкластер 0. PE4a-2-1, штаммы 1964–1990 гг.). Эти результаты хорошо согласуются с ранее полученными данными, показывающими, что в каждом из трех мезоочагов Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы (Уландрыкском, Тархатинском и Курайском) циркулирует чумной микроб, характеризующийся генотипическим своеобразием [4, 18–20].

Таким образом, нами проведен филогенетический анализ штаммов *Y. pestis* алтайского биовара центральноазиатского подвида за период наблюдения с 1965 по 2020 год, в том числе штаммов, выделенных в последнее время на территории России и Монголии. С помощью полногеномного SNP-анализа показано наличие нескольких ветвей эволюции (Курайская,

Тархатинская, Уландрыкская и Монгольская), соответствующих территориям их распространения в мезоочагах Горно-Алтайского высокогорного очага чумы, являющегося северной частью Сайлюгемского природного очага, в Сайлюгемском природном очаге и Завханском аймаке Монголии. Проведен анализ количества и локализации в геноме специфических для основных ветвей эволюции алтайского биовара полиморфных нуклеотидов. Показана относительная генетическая однородность штаммов алтайского биовара центральноазиатского подвида, что, вероятно, обусловлено достаточно стабильными условиями существования в местах циркуляции штаммов алтайского биовара.

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

Список литературы

1. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 192 с.
2. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Кадастр эпидемических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и стран ближнего зарубежья (с 1876 по 2016 год). Саратов: ООО «Амирит»; 2016. 248 с.
3. Anisimov A.P., Lindler L.E., Pier G.B. Intraspecific diversity of *Yersinia pestis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17(2):434–64. DOI: 10.1128/CMR.17.2.434-464.2004.
4. Балахонов С.В., Корзун В.М., редакторы. Горно-Алтайский природный очаг чумы: ретроспективный анализ, эпизоотологический мониторинг, современное состояние. Новосибирск: Наука-Центр; 2014. 272 с.
5. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiyoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1999; 96(24):14043–8. DOI: 10.1073/pnas.96.24.14043.
6. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.
7. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variation in mutational rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.
8. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Z.V., Ogolodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.
9. Попов Н.В., Ерошенко Г.А., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Иванова А.В., Поршаков А.М., Ляпин М.Н., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Аязбаев Т.З., Лопатин А.А., Ашибаков У.М., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпидемиологическая и эпизоотическая обстановка по чуме в Российской Федерации и прогноз ее развития на 2020–2025 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 1:43–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-43-50.
10. Никифоров К.А., Морозов О.А., Носов Н.Ю., Куклева Л.М., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Популяционная структура, таксономия и генетические особенности штаммов *Yersinia pestis* центральноазиатского подвида. *Генетика.* 2018; 54(10):1125–35. DOI: 10.1134/S0016675818100107.
11. Riehm J.M., Vergnaud G., Kiefer D., Damdindorj T., Dashdavaa O., Khurelsukh T., Zoller L., Wölfel R., Le Fleche P., Scholz H.C. *Yersinia pestis* lineages in Mongolia. *PLoS One.* 2012; 7(2):e30624. DOI: 10.1371/journal.pone.0030624.
12. Платонов М.Е., Евсеева В.В., Ефременко Д.В., Афанасьев М.В., Вержуцкий Д.Б., Кузнецова И.В., Шестопалов М.Ю., Дентовская С.В., Куличенко А.Н., Балахонов С.В., Анисимов А.П. Внутривидовая принадлежность рамнозопозитивных штаммов *Yersinia pestis* из природных очагов чумы Монголии. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2015; 33(1):23–28.
13. Zhou D., Tong Z., Song Y., Han Y., Pei D., Pang X., Zhai J., Li M., Cui B., Qi Z., Jin L., Dai R., Du Z., Wang J., Guo Z., Wang J., Huang P., Yang R. Genetics of metabolic variations between *Yersinia pestis* biovars and proposal of a new biovar, microtus. *J. Bacteriol.* 2004; 186(15):5147–52. DOI: 10.1128/JB.186.15.5147-5152.2004.
14. Ерошенко Г.А., Одинокоев Г.Н., Куклева Л.М., Шавина Н.Ю., Гусева Н.П., Кутырев В.В. Генетические основы вариабельности признака редукции нитратов у штаммов *Yersinia pestis*. *Генетика.* 2014; 50(5):522–30. DOI: 10.7868/S001667581405004X.
15. Балахонов С.В., Афанасьев М.В., Шестопалов М.Ю., Остяк А.С., Витязева С.А., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Ивченко Н.И., Рождественский Е.Н., Висков Е.Н., Фомина Л.А. Первый случай выделения *Yersinia pestis* subsp. *pestis* в Алтайском горном природном очаге чумы. Сообщение I. Микробиологическая характеристика, молекулярно-генетическая и масс-спектрометрическая идентификация изолята. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2013; 1:60–65. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-60-65.
16. Корзун В.М., Балахонов С.В., Денисов А.В., Чипанин Е.В., Косилок С.А., Рождественский Е.Н., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Базарова Г.Х., Ярыгина М.Б. Интродукция возбудителя чумы основного подвида в поселения серого сурка в Юго-Восточном Алтае. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* 2017; 4:20–9.
17. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
18. Корзун В.М., Чипанин Е.В., Балахонов С.В., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Михайлов Е.П., Ярыгина М.Б., Косилок С.А. Изменение ареала *Yersinia pestis* в Горно-Алтайском природном очаге чумы. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни.* 2014; 4:11–9.
19. Балахонов С.В., Шестопалов М.Ю., Романова И.Ф. Результаты VNTR-анализа по локусу (5'-CAAA-3')_n штаммов *Yersinia pestis* из активных природных очагов чумы Сибири. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2009; 3:14–6.
20. Ярыгина М.Б., Корзун В.М., Балахонов С.В. Генотипическая структурированность *Yersinia pestis* ssp. *altaiica* в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы. *Дальневосточный журнал инфекционной патологии.* 2019; 37:86–7.

References

1. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Natural Plague Foci in the Territory of Caucasus, Caspian Sea Region, Central Asia and Siberia]. Moscow: "Medicine"; 2004. 192 p.
2. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Cadastre of Epidemic and Epizootic Manifestations of Plague in the Territory of the Russian Federation and Former Soviet Union (1876–2016)]. Saratov: "Amirit" LLC; 2016. 248 p.
3. Anisimov A.P., Lindler L.E., Pier G.B. Intraspecific diversity of *Yersinia pestis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17(2):434–64. DOI: 10.1128/CMR.17.2.434-464.2004.
4. Balakhonov S.V., Korzun V.M., editors. [Gorno-Altai Natural Plague Focus: Retrospective Analysis, Epizootiological Monitoring, Current State]. Novosibirsk: "Nauka Tsentr"; 2014. 272 p.
5. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiyoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1999; 96(24):14043–8. DOI: 10.1073/pnas.96.24.14043.
6. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.
7. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variation in mutational rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.
8. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Z.V., Ogolodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.

9. Popov N.V., Eroshenko G.A., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Ivanova A.V., Porshakov A.M., Lyapin M.N., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Ayazbaev T.Z., Lopatin A.A., Ashibokov U.M., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutuyev V.V. [Epidemiological and epizootic situation on plague in the Russian Federation and forecast for its development for 2020–2025]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (1):43–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-43-50.
10. Nikiforov K.A., Morozov O.A., Nosov N.Yu., Kukleva L.M., Eroshenko G.A., Kutuyev V.V. [Population structure, taxonomy and genetic features of *Yersinia pestis* strains of the subspecies *central asiatica*]. *Genetika [Genetics]*. 2018; 54(10):1125–35. DOI: 10.1134/S0016675818100107.
11. Riehm J.M., Vergnaud G., Kiefer D., Damdindorj T., Dashdavaa O., Khurelsukh T., Zoller L., Wölfel R., Le Fleche P., Scholz H.C. *Yersinia pestis* lineages in Mongolia. *PLoS One*. 2012; 7(2):e30624. DOI: 10.1371/journal.pone.0030624.
12. Platonov M.E., Evseeva V.V., Efremenko D.V., Afanasiev M.V., Verzhutsky D.B., Kuznetsova I.V., Shestopalov M.Yu., Dentovskaya S.V., Kulichenko A.N., Balakhonov S.V., Anisimov A.P. [Intraspecific appurtenance of rhamnose-positive *Yersinia pestis* strains from natural plague foci in Mongolia]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2015; 33(1):23–8.
13. Zhou D., Tong Z., Song Y., Han Y., Pei D., Pang X., Zhai J., Li M., Cui B., Qi Z., Jin L., Dai R., Du Z., Wang J., Guo Z., Wang J., Huang P., Yang R. Genetics of metabolic variations between *Yersinia pestis* biovars and proposal of a new biovar, microtus. *J. Bacteriol.* 2004; 186(15):5147–52. DOI: 10.1128/JB.186.15.5147-5152.2004.
14. Eroshenko G.A., Odinokov G.N., Kukleva L.M., Shavina N.Yu., Guseva N.P., Kutuyev V.V. [Genetic basis of the nitrate reduction variability in *Yersinia pestis* strains]. *Genetika [Genetics]*. 2014; 50(5):522–30. DOI: 10.7868/S001667581405004X.
15. Balakhonov S.V., Afanas'ev M.V., Shestopalov M.Yu., Ostyak A.S., Vityazeva S.A., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Ivzhenko N.I., Rozhdestvensky E.N., Viskov E.N., Fomina L.A. [The first case of *Yersinia pestis* subsp. *pestis* isolation in the territory of Altai Mountain natural plague focus. Communication 1. Microbiological characteristics, molecular-genetic and mass-spectrometric identification of the isolate]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (1):60–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-1-60-65.
16. Korzun V.M., Balakhonov S.V., Denisov A.V., Chipanin E.V., Kosilko S.A., Rozhdestvensky E.N., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Bazarova G.Kh., Yarygina M.B. [Introduction of the plague agent of the main subspecies into the gray marmot settlements in the South-Eastern Altai]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 2017; (4):20–9.
17. Onishchenko G.G., Kutuyev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. Moscow: “Shiko”; 2013. 560 p.
18. Korzun V.M., Chipanin E.V., Balakhonov S.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Mikhailov E.P., Yarygina M.B., Kosilko S.A. [Changes in the range of *Yersinia pestis* in the Gorno-Altai natural plague focus]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 2014; (4):11–719.
19. Balakhonov S.V., Shestopalov M.Yu., Romanova I.F. [Results of VNTR analysis by the (5'-CAAA-3')ⁿ locus of *Yersinia pestis* strains from active natural foci of plague in Siberia]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2009; (3):14–6.
20. Yarygina M.B., Korzun V.M., Balakhonov S.V. [Genotypic structuring of *Yersinia pestis* ssp. *altaica* in the Gorno-Altai high-mountain natural plague focus]. *Dal'nevostochny Zhurnal Infektsionnoy Patologii [Far East Journal of Infectious Pathology]*. 2019; 37:86–7.

Authors:

Nikiforov K.A., Morozov O.A., Eroshenko G.A., Oglodin E.G., Kukleva L.M., Naryshkina E.A., Krasnov Ya.M., Kutuyev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Korzun V.M., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Об авторах:

Никифоров К.А., Морозов О.А., Ерошенко Г.А., Оглодин Е.Г., Куклева Л.М., Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Корзун В.М., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-130-136

УДК 616.98:578.834.1+614.2

А.К. Носков¹, В.Д. Кругликов¹, О.С. Чемисова¹, Н.Е. Гаевская¹, Е.В. Ковалев², Г.В. Карпущенко³,
А.А. Лопатин⁴, С.М. Иванова⁴, С.Н. Тихонов⁵

ОРГАНИЗАЦИОННО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ПЕРЕПРОФИЛИРОВАНИЕ НАУЧНОЙ ПРОТИВОЧУМНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ РОСПОТРЕБНАДЗОРА В УСЛОВИЯХ ПАНДЕМИИ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

¹ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

²Управление Роспотребнадзора по Ростовской области, Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области», Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация; ⁵ФГКУЗ «Противочумная станция Республики Крым», Симферополь, Российская Федерация

Цель работы – обобщение опыта Ростовского-на-Дону противочумного института по организационно-функциональному реагированию, направленному на обеспечение проведения комплекса оперативных и плановых противозидемических (профилактических) мероприятий на разных территориальных уровнях в условиях пандемии COVID-19. Своевременно проведено поэтапное перепрофилирование части научных и оперативных подразделений в гибком режиме для оперативного реагирования в условиях эпидемического распространения новой коронавирусной инфекции на территории Российской Федерации. Это позволило осуществить эффективный маневр сил и средств организации без ущерба для профильного функционирования по основным направлениям научно-практической деятельности. Обеспечено эффективное внутриведомственное взаимодействие с научными и территориальными практическими учреждениями Роспотребнадзора и профильными медицинскими организациями (МО). Оказана практическая, методическая и консультативная помощь специалистам специализированных МО в рамках перепрофилирования стационаров под госпитали для лечения больных COVID-19. Проведены приоритетные научные исследования уровня гуморального и клеточного иммунного ответа на SARS-CoV-2 среди населения Ростовской области, этиологического спектра возбудителей внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19. Силами специалистов оперативных формирований осуществлено кадровое усиление отдельных лабораторных баз в Москве, Республике Крым и Ростовской области. Реализована комплексная задача по эффективному функционированию: в оперативном режиме – участие в проведении противозидемических мероприятий в условиях изменения динамики и интенсивности эпидемического проявления новой коронавирусной инфекции; в плановом режиме – выполнение мероприятий, предусмотренных основными направлениями деятельности научной организации.

Ключевые слова: пандемия, COVID-19, лабораторная диагностика, ПЦР, организационно-функциональное перепрофилирование, противочумный институт, популяционный иммунитет, внебольничные пневмонии.

Корреспондирующий автор: Кругликов Владимир Дмитриевич, e-mail: vdkru58@mail.ru.

Для цитирования: Носков А.К., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., Гаевская Н.Е., Ковалев Е.В., Карпущенко Г.В., Лопатин А.А., Иванова С.М., Тихонов С.Н. Организационно-функциональное перепрофилирование научной противочумной организации Роспотребнадзора в условиях пандемии коронавирусной инфекции. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 1:130–136. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-130-136

Поступила 31.05.2021. Принята к публ. 13.06.2021.

**A.K. Noskov¹, V.D. Kruglikov¹, O.S. Chemisova¹, N.E. Gaevskaya¹, E.V. Kovalev²,
G.V. Karpushchenko³, A.A. Lopatin⁴, S.M. Ivanova⁴, S.N. Tikhonov⁵**

Organizational and Functional Reassignment of a Scientific Plague Control Institution of the Rospotrebnadzor under Conditions of Coronavirus Infection Pandemic

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

²Rospotrebnadzor Administration in the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russian Federation;

³Center of Hygiene and Epidemiology in the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russian Federation;

⁴Plague Control Center, Moscow, Russian Federation;

⁵Plague Control Station of the Republic of Crimea, Simferopol, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to summarize the experience of the Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute in the organizational and functional response aimed at ensuring the implementation of a complex of on-going and scheduled anti-epidemic (preventive) measures at different territorial levels in the context of COVID-19 pandemic. Stage-wise reassignment of scientific and operational subdivisions of the facility was carried out in a timely manner in a flexible mode for a prompt response to the challenges that arose from community transmission of the new coronavirus infection in the territory of the Russian Federation. It allowed an effective distribution of the forces and assets without damage for specialized functioning in the main areas of scientific and practical activities. Realized was an effective interdepartmental interaction with territorial scientific and practical institutions of the Rospotrebnadzor and specialized medical organizations. Practical, methodological and advisory assistance was provided to personnel of specialized medical institutions within the framework of conversing in-patient facilities into hospitals for the treatment of patients with COVID-19. Priority research to study the level of the humoral and cellular immune response to SARS-CoV-2 among the population of the Rostov Region, the etiological spectrum of the causative agents of community-acquired pneumonia associated with COVID-19, full genome sequencing of SARS-CoV-2 isolates was carried out. Specialists of the task forces reinforced human resources of individual laboratory facilities in Moscow city, the Republic of Crimea and the Rostov Region. Complex objective of effective functioning has been implemented: in an operational mode – participation in

anti-epidemic (preventive) measures in the face of changes in the dynamics and intensity of the epidemic manifestations of new coronavirus infection; in scheduled mode – the implementation of activities in the main areas of the scientific work of the organization.

Key words: pandemic, COVID-19, laboratory diagnostics, PCR, organizational and functional reassignment, anti-plague institute, herd immunity, community-acquired pneumonia.

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

Corresponding author: Vladimir D. Kruglikov, e-mail: vdkru58@mail.ru.

Citation: Noskov A.K., Kruglikov V.D., Chemisova O.S., Gaevskaya N.E., Kovalev E.V., Karpushchenko G.V., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Tikhonov S.N. Organizational and Functional Reassignment of a Scientific Plague Control Institution of the Rospotrebnadzor under Conditions of Coronavirus Infection Pandemic. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:130–136. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-130-136

Received 31.05.2021. Accepted 13.06.2021.

Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>
Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>
Chemisova O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>
Gaevskaya N.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0762-3628>
Kovalev E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0840-4638>

Karpushchenko G.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4672-8753>
Lopatin A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5426-3311>
Ivanova S.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-1875>
Tikhonov S.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3924-5817>

С началом регистрации первых случаев новой коронавирусной инфекции (COVID-19) [1, 2] Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) на территории Российской Федерации введена опережающая модель национального реагирования. Стратегия оперативного реагирования направлена на системный подход к введению ограничительных мероприятий, экстренное выявление больных, их изоляцию, обследование контактных, консолидацию и координацию внутри- и межведомственного взаимодействия, анализ и прогноз развития эпидемиологической ситуации [3, 4]. Эффективность ее реализации основана на базовой подготовке специалистов научных и практических организаций Роспотребнадзора по вопросам санитарной охраны территории РФ от завоза и распространения болезней, представляющих опасность для населения [5]; опыте работы в эпидемических очагах особо опасных инфекций [6, 7]; высоком уровне готовности специалистов по вопросам обеспечения требований биологической безопасности (ББ) при работе с возбудителями I–II групп патогенности; приобретенных специалистами практических навыков организации и проведения противоэпидемических (профилактических) мероприятий в условиях чрезвычайных ситуаций (ЧС) природного характера [8], а также при предупреждении ЧС санитарно-эпидемиологического характера в условиях массовых мероприятий с международным участием [9–10].

В сложившейся эпидемиологической обстановке, связанной с пандемией новой коронавирусной инфекции [11–13], перед научными организациями Роспотребнадзора, в том числе перед Ростовским-на-Дону противочумным институтом, встала сочетанная задача по организации эффективного функционирования на федеральном, субъектовом (региональном) и учрежденческом (территориальном) уровнях. В оперативном режиме это предусматривает участие в проведении противоэпидемических (профилактических) мероприятий по санитарной охране территории в условиях эпидемического проявления болезни, в плановом режиме – выполнение мероприятий, предусмотренных основными направ-

лениями деятельности научной организации.

Оперативная работа института по реализации задач, поставленных руководителем Роспотребнадзора, по борьбе с COVID-19 на федеральном уровне проводилась в тесном взаимодействии с ФКУЗ «Противочумный центр», ФГКУЗ «Противочумная станция Республики Крым», на региональном уровне – с Управлением Роспотребнадзора по Ростовской области (РО), ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области».

Основой своевременного реагирования Ростовского-на-Дону противочумного института явилось оперативное проведение мероприятий по организационно-функциональной адаптации института к сложившейся ситуации. Организационные мероприятия выражались в гибком и поэтапном репрофилировании части подразделений без ущерба профильному функционированию по основным направлениям научно-практической работы; обеспечении усиленных мер ББ; расширении сферы деятельности и научно-практической интеграции с организациями Роспотребнадзора и другими заинтересованными ведомствами.

Опыт реализации организационно-функционального гибкого подхода в работе противочумного учреждения в ситуации эпидемиологического «криза» находится в резонансе с системным концептуальным подходом к деятельности противочумных организаций.

Цель работы – обобщение опыта Ростовского-на-Дону противочумного института по организационно-функциональному реагированию, направленному на обеспечение комплекса оперативных и плановых противоэпидемических (профилактических) мероприятий в условиях пандемии COVID-19.

Функции противочумного института, соответствующие реализации задач на федеральном, субъектовом и учрежденческом уровнях

В режиме повседневной деятельности (в условиях потенциальных эпидемиологических рисков) основными функциями являлись:

на федеральном уровне:

- обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения РФ по холере;

- поддержание постоянной готовности специализированной противоэпидемической бригады (СПЭБ) к решению задач по предназначению;

на субъектовом уровне:

- оказание консультативно-методической и практической помощи МО по вопросам профилактики инфекционной патологии, по оценке готовности госпитальной и лабораторной баз, биологической безопасности, по организации и проведению первичных противоэпидемических (профилактических) мероприятий;

- обеспечение постоянной готовности Центра индикации к выполнению задач по предназначению;

- осуществление эпизоотологического мониторинга и лабораторной диагностики актуальных природно-очаговых инфекций;

на учрежденческом уровне:

- выполнение плановых научно-исследовательских работ (НИР);

- подготовка специалистов института по программам постдипломного образования в соответствии с существующими образовательными стандартами.

Для реализации поэтапного структурно-функционального перепрофилирования части подразделений института, маневренности кадрового состава (с созданием резерва) и обеспечения мер по усилению требований биологической безопасности, в соответствии с изменениями эпидемиологической ситуации по COVID-19 в РФ, в институте в январе 2020 г. создан оперативный штаб. Разработаны стратегические направления деятельности института по снижению рисков распространения новой коронавирусной инфекции, повышению готовности специалистов стационарных лабораторий и оперативных формирований к осуществлению масштабных лабораторных исследований и комплекса санитарно-противоэпидемических мероприятий.

В режиме ЧС, связанной с осложнением эпидемиологической ситуации по новой коронавирусной инфекции (в условиях реализации эпидемиологических рисков по коронавирусной инфекции), на федеральном уровне работа противочумного института проводилась в соответствии с приказами Роспотребнадзора.

Силами специалистов оперативных формирований института осуществлено кадровое усиление ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора (далее – ПЧЦ). Сотрудники института участвовали в перепрофилировании лабораторной базы для обеспечения массового тестирования материала на SARS-CoV-2 в Москве. С 18.03.2020 осуществлялась посменная работа вахтовым методом на всех этапах поточности исследования материала (10 смен, от 7 до 18 сотрудников института в каждой смене, 2020 г.). Всего в 2020 г. отработано 3720 человеко-дней. Функционирование на базе ПЧЦ проходило в тесном взаимодействии с привлеченными специалистами научных организаций Роспотребнадзора: Российско-

го научно-исследовательского противочумного института «Микроб», Волгоградского, Ставропольского научно-исследовательских противочумных институтов, МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, ЦНИИ эпидемиологии [4]. Эффективность проведенной работы выражалась в общих показателях: всего исследовано 254167 проб биоматериала, выявлено 80257 положительных результатов, в том числе 208221 проба клинического материала (56616 положительных) и 45946 проб секционного материала (23641 положительная). Всего в 2020 г. на базе ПЧЦ выполнено 287491 исследование.

Кроме того, специалистами СПЭБ института усилена лаборатория бактериологии Противочумной станции Республики Крым (далее – ПЧС) с целью увеличения объема тестирования материала на SARS-CoV-2 и достижения индикативных показателей по охвату ПЦР-исследованиями населения Республики Крым и г. Севастополя. Это позволило высвободить кадровые ресурсы ПЧС для осуществления деятельности по заданию Роспотребнадзора. На территорию Южного берега Крыма специалистами ПЧС выдвинута мобильная лаборатория на базе автошасси с целью проведения лабораторных исследований на новую коронавирусную инфекцию и оказания практической помощи Федеральной службе охраны РФ в Республике Крым в рамках межведомственного взаимодействия. С 16.05.2020 семь смен по шесть специалистов Ростовского-на-Дону противочумного института отработали в круглосуточном режиме 1360 человеко-дней (данные на 31.12.2020), проведено более 93 тыс. диагностических исследований на COVID-19. За период работы в круглосуточном режиме мобильной лаборатории ПЧС с 25.06.2020 по 31.12.2020 выполнено 39856 исследований. Всего в Республике Крым и г. Севастополе за 2020 г. на новую коронавирусную инфекцию выполнено 126024 диагностических исследования от 102207 лиц. Обработано 102922 пробы. В результате исследований получено 6562 положительных результата. В таком же режиме работа продолжена и в 2021 г.

В рамках задач Роспотребнадзора по научно-практическому изучению новых, сформировавшихся в условиях пандемии COVID-19 рисков для общественного здравоохранения проведены приоритетные научные исследования по изучению популяционного иммунитета (гуморального и клеточного) в РО. Показана динамика нарастания уровня популяционного иммунитета в субъекте (по показателям в %). Так, в июне 2020 г. определен показатель – 16,5 %, в сентябре – 16,8 %, в декабре – 32,1 %, а в марте 2021 г. – 77,6 %. Выявлены особенности этиологии и течения внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19, а именно: более высокая частота микст-инфекций как вирусной, так и бактериальной этиологии; высокий риск развития микотических поражений легких; возможность присоединения нозокомиальных инфекций у пациен-

тов, проходящих лечение в стационарах Ростова-на-Дону. Проведено полногеномное секвенирование и биоинформационный анализ 271 образца биологического материала с положительным результатом на SARS-CoV-2, доставленного из Орловской (декабрь 2020 г.) и Ростовской областей, Республики Крым, г. Севастополя (февраль – май 2021 г.). Геномы депонированы в Российскую платформу агрегации информации о геномах вирусов (проект VGARus, [https:// genome.crie.ru](https://genome.crie.ru)).

В качестве особенностей функционирования института необходимо отметить, что за анализируемый период мобильный комплекс СПЭБ (МК СПЭБ) не был задействован, но проведен комплекс мероприятий по материально-технической и кадровой готовности (по принципу взаимозаменяемости). Тренировочные занятия по отработке различных методов исследований, включая методы индикации неизвестного возбудителя, проводятся на постоянной основе.

Параллельно институт проводил работу в рамках задач, стоящих перед Референс-центром по мониторингу за холерой. В 2020 г. в семи субъектах РФ из объектов окружающей среды (ООС) выделено 25 нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1, что соразмерно с абсолютными показателями в предыдущие годы. Оказывалась консультативно-методическая и практическая помощь организациям Роспотребнадзора и Министерства здравоохранения РФ, в том числе осуществлен выезд в Республику Калмыкия с целью анализа причин отсутствия выделения в 2020 г. нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1. Установлено, что причинами явились неиспользование в рекреационных целях водоемов, в которых ранее выделялись холерные вибрионы O1-серогруппы, снижение заболеваемости острыми кишечными инфекциями, в том числе с неустановленной этиологией. Кроме того, в 2020 г. из республики не было выездов паломников. Отмечено, что введение ограничительных мероприятий не повлияло на интенсивность и результативность мониторинговых исследований в субъектах РФ в рамках эпидемиологического надзора за холерой. На территории России на фоне пандемии COVID-19 обеспечено поддержание стабильной эпидемиологической ситуации по холере. Оценка филогенетических связей нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, изолированных из ООС в субъектах РФ, позволила прогнозировать стабильность эпидемиологической обстановки по холере в нашей стране на 2021 г., не исключая, однако, риски завоза инфекции из эндемичных стран.

На субъектовом уровне деятельность строилась в аспекте усиления специалистами института лаборатории особо опасных инфекций (ООИ) Центра гигиены и эпидемиологии в Ростовской области (далее – ЦГиЭ) с целью увеличения объемов лабораторной диагностики SARS-CoV-2 (март – август 2020 г.). Наряду с этим в Ростовском-на-Дону

противочумном институте на базе четырех лабораторий экстренно сформирована резервная лабораторная база с расчетной мощностью 500–700 анализов в сутки. В последующем проведено частичное репрофилирование еще одной лаборатории (всего пяти) для проведения исследований биоматериала на SARS-CoV-2 методом ПЦР.

Институт стал выполнять функции регионально-го Референс-центра по исследованию на COVID-19. В рамках этой деятельности за май 2020 г. – февраль 2021 г. проведено ретестирование более 10 тыс. проб биологического материала, положительные результаты на SARS-CoV-2 подтверждены в 61,7 % проб. Оказывалась консультативная помощь как с выездом специалистов в региональные лаборатории, так и в телефонном режиме. Еженедельно предоставлялась информация о заболеваемости новой коронавирусной инфекцией населения РО в Роспотребнадзор и Управление Роспотребнадзора по РО, в которое также был направлен прогноз развития эпидемического процесса по COVID-19 в РО на 2021 г.

Специалисты института приняли участие в работе комиссии по оценке готовности инфекционных госпиталей и развертыванию крупных инфекционных госпиталей в Ростове-на-Дону и других муниципальных образованиях РО. Проведены пять семинаров для специалистов медицинских организаций РО по вопросам эпидемиологии и профилактики заболевания COVID-19, а также комплексная проверка готовности госпитальной базы и оценка возможностей репрофилирования МО с обеспечением биологической безопасности (28 выездов). Проведена оценка готовности 17 лабораторий МО к диагностике SARS-CoV-2, 12 из них начали работу. Разработаны алгоритмы организации функционирования МО РО в условиях существующих рисков, предложен порядок развертывания и организации работы инфекционного госпиталя для лиц с сочетанной инфекционной патологией COVID-19 на фоне туберкулеза. Проведена оценка использования учреждений немедицинского профиля (общезитий, выставочного зала и др.) для развертывания временных обсерваторов.

Маневр сил и средств в условиях пандемии позволил реализовать задачу комплексного эпизоотологического мониторинга в природных очагах актуальных для РО инфекций вирусной и бактериальной этиологии. В 2020 г. обследованы территории 13 районов РО и 3 городов, площадь обследовательских мероприятий составила 280,66 км². От мышевидных грызунов выделено 6 культур туляремийного микроба (Ремонтненский район – 6, Сальский район – 4). В результате тестирования 285 проб полевого материала выявлены маркеры туляремии в 47 (16,5 %). При исследовании 168 сывороток крови жителей вышеуказанных районов антитела выявлены в 76 случаях. Таким образом, в 2020 г. отмечена активизация природных очагов туляремии в юго-восточных районах РО.

В итоге исследования 1186 проб от носителей и переносчиков на антигены и маркеры Крымской геморрагической лихорадки, лихорадки Западного Нила, геморрагической лихорадки с почечным синдромом и иксодового боррелиоза выявлены положительные результаты (в диапазоне от 6,8 до 2,4 % от общего количества проб на каждую из указанных инфекций). Отмечено, что на территории РО природные очаги инфекций вирусной и бактериальной этиологии продолжают оставаться в активном состоянии.

На *учрежденческом уровне* проведено частичное репрофилирование пяти научных лабораторий, осуществлена организация трех подразделений: лаборатории для проведения исследований биоматериала на SARS-CoV-2 методом ПЦР, референсной лаборатории и резервной. В дальнейшем, в связи с запланированной возможностью реверсии и уменьшением потока материала для скрининга, задействованы отдельные помещения четырех структурных подразделений. Проведен комплекс мероприятий по материально-технической и кадровой готовности МК СПЭБ, усилению мер по обеспечению биологической безопасности персонала и окружающей среды. С 01.06.2020 начато проведение диагностики биоматериала на SARS-CoV-2 методом ПЦР, проведено исследование более 57 тыс. (данные на 31.12.2020) проб от людей (таблица). Основной пик

пришелся на июнь 2020 г., когда количество исследований составляло от 1700 до 2700 проб в сутки. С 01.06.2020 весь секционный материал РО исследуется на коронавирус только в институте – областном референс-центре. В настоящее время семь вновь открытых клинических лабораторий РО доставляют в институт материал на ретестирование (таблица). Обеспечены постоянство и результативность профильного функционирования института, в том числе выполнение плановых НИР, расширение спектра научных исследований по вопросам эпидемиологии и диагностики возбудителя COVID-19.

В результате комплекс опережающих последовательных мероприятий оперативного реагирования, осуществленных на *учрежденческом уровне*, позволил:

- провести гибкое поэтапное оперативное репрофилирование части подразделений (с возможностью быстрой реверсии) для проведения исследований биоматериала на SARS-CoV-2 без ущерба в обеспечении функционирования научно-практической работы института;

- на основе базовой и постоянно проводимой подготовки кадрового состава по ББ и работе с возбудителями ООИ реализовать принципы универсальности и маневренности в использовании специалистов в соответствии с разносторонностью

Количество проб и результаты исследований, проведенных Ростовским-на-Дону противочумным институтом, на SARS-CoV-2 методом ПЦР

The number of samples and the results of studies carried out by the Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute on SARS-CoV-2 using PCR

Месяц, год Month, year	Количество проб материала от людей The number of samples from patients		Из них количество ретестированных проб Of these, the number of retested samples		Из них количество исследованных образцов секционного материала Of these, the number of examined autopsy samples	
	всего in total	из них положительных positive	всего in total	из них положительных positive	всего in total	из них положительных positive
Май, 2020 May, 2020	39	19	25	16	0	0
Июнь, 2020 June, 2020	23749	4197	1194	611	126	64
Июль, 2020 July, 2020	1471	857	908	689	222	137
Август, 2020 August, 2020	1567	989	618	465	306	222
Сентябрь, 2020 September, 2020	3643	2033	2840	1719	467	275
Октябрь, 2020 October, 2020	3476	1219	147	134	1268	856
Ноябрь, 2020 November, 2020	4178	916	6	5	981	516
Декабрь, 2020 December, 2020	9267	4185	4667	2781	1116	663
Январь, 2021 January, 2021	5671	2167	1694	1044	1192	735
Февраль, 2021 February, 2021	4225	1271	1229	715	757	414
<i>Итого</i> <i>In total</i>	57286	17853	10405	6417	6435	3882

поставленных задач, обусловленных динамикой и интенсивностью эпидемического процесса новой коронавирусной инфекции в РФ;

- реализовать преемственность в осуществлении разноплановой деятельности, диктуемой сложившейся эпидемиологической обстановкой;

- организовать посменную диагностику COVID-19 на принципах адекватной взаимозаменяемости, рационального ситуационного перераспределения кадровых и материально-технических ресурсов между оперативными (мобильными) формированиями и стационарными (базовыми) научными подразделениями с учетом предусмотренной реверсии специалистов по основным направлениям деятельности организации;

- расширить сферу деятельности и реализовать новые формы внутри- и межведомственного взаимодействия института на федеральном и региональном уровнях, с интеграцией научной и практической составляющей комплекса противоэпидемических (профилактических) мероприятий.

Таким образом, анализ организационно-функционального реагирования Ростовского-на-Дону противочумного института в условиях пандемии COVID-19 показал возможность сочетанного эффективного проведения комплекса оперативных противоэпидемических (профилактических) мероприятий на разных территориальных уровнях и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения путем реализации плановых научно-практических задач в рамках компетенции научной организации Роспотребнадзора. Опыт работы института отражает возможность и особенности многопрофильности функционирования научных организаций Роспотребнадзора как при оперативном реагировании на вызовы, сложившиеся в условиях эпидемического проявления болезни на подлежащей санитарной охране территории, так и в плановом порядке – при выполнении мероприятий, предусмотренных основными направлениями деятельности, и, с нашей точки зрения, вносит определенный вклад в формирование концептуального подхода к деятельности противочумных организаций.

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

Список литературы

1. Bulut C., Kato Y. Epidemiology of COVID-19. *Turk. J. Med. Sci.* 2020; 50(SI-1):563–70. DOI: 10.3906/sag-2004-172.
2. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395(10223):507–13. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
3. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербакова С.А. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 1: Модели реализации профилактических и противоэпидемических мероприятий. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 1:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.
4. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Рязанова А.Г., Кузнецова И.В., Гнусарева

О.А., Михайлова М.Е., Сирица Ю.В., Манин Е.А., Портенко С.А., Красовская Т.Ю., Куклев В.Е., Казакова Е.С., Данилевская М.М., Сафонова М.В., Тельнова Н.В., Иванова С.М., Лопатин А.А. Мобильные комплексы СПЭБ Роспотребнадзора как действенный инструмент при реализации мероприятий по противодействию новой коронавирусной инфекции COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 4:92–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-92-98.

5. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Санитарная охрана территории Российской Федерации в современных условиях. Саратов: ООО «Буква»; 2014. 460 с.

6. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Ликвидация эпидемий Эбола в Гвинейской Республике: опыт работы специализированной противоэпидемической бригады Роспотребнадзора. 2-е изд., перераб. и доп. Ижевск: ООО «Принт-2»; 2017. 388 с.

7. Балахонов С.В., Корзун В.М., редакторы. Горно-Алтайский природный очаг чумы: ретроспективный анализ, эпизоотологический мониторинг, современное состояние. Новосибирск: Наука-Центр; 2014. 272 с.

8. Онищенко Г.Г., Балахонов С.В. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения при ликвидации последствий наводнения на Дальнем Востоке. Новосибирск: Наука-Центр; 2014. 648 с.

9. Онищенко Г.Г., редактор. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита АТЭС-2012. Новосибирск: Наука-Центр; 2013. 419 с.

10. Пяташина М.А., Замалиева М.А. Разработка алгоритма межведомственного взаимодействия при предупреждении и контроле чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера в условиях массовых мероприятий с международным участием. *Пермский медицинский журнал.* 2015; 32(1):98–104.

11. Попова А.Ю., редактор. COVID-19: научно-практические аспекты борьбы с пандемией в Российской Федерации. Саратов: Амирит; 2021. 608 с.

12. Коронавирус-монитор. [Электронный ресурс]. URL: <https://coronavirus-monitor.info/> (дата обращения 15.05.2021).

13. Ковалев Е.В., Слись С.С., Янович Е.Г., Пичурин Н.Л., Воловикова С.В., Гаевская Н.Е., Чемисова О.С., Карпущенко Г.В., Литовко А.Р., Носков А.К. Некоторые особенности эпидемического распространения новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в Ростовской области. *Медицинский вестник Юга России.* 2020; 11(4):99–106. DOI: 10.21886/2219-8075-2020-11-4-99-106.

References

1. Bulut C., Kato Y. Epidemiology of COVID-19. *Turk. J. Med. Sci.* 2020; 50(SI-1):563–70. DOI: 10.3906/sag-2004-172.
2. Chen N., Zhou M., Dong X., Qu J., Gong F., Han Y., Qiu Y., Wang J., Liu Y., Wei Y., Xia J., Yu T., Zhang X., Zhang L. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet.* 2020; 395(10223):507–13. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
3. Kutuyrev V.V., Popova A.Yu., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Safronov V.A., Karnaukhov I.G., Ivanova A.V., Shcherbakova S.A. [Epidemiological features of new coronavirus infection (COVID-19). Communication 1: Modes of implementation of preventive and anti-epidemic measures]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; (1):6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.
4. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Ryzanova A.G., Kuznetsova I.V., Gnusareva O.A., Mikhailova M.E., Siritsa Yu.V., Manin E.A., Portenko S.A., Krasovskaya T.Yu., Kuklev V.E., Kazakova E.S., Danilevskaya M.M., Safonova M.V., Tel'nova N.V., Ivanova S.M., Lopatin A.A. [Mobile complexes of the specialized anti-epidemic teams (SAET) of the Rospotrebnadzor as an effective tool in the implementation of measures to counter new coronavirus infection COVID-19]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2020; (4):92–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-92-98.
5. Onishchenko GG, Kutuyrev VV, editors. Sanitary Protection of the Territory of the Russian Federation in Modern Conditions. Saratov: LLC “Bukva”; 2014. 460 p.
6. Popova A.Yu., Kutuyrev V.V., editors. [Eradication of Ebola Epidemics in the Republic of Guinea: Operational Experience of the Specialized Anti-Epidemic Team of the Rospotrebnadzor]. Izhevsk: LLC “Print-2”; 2017. 388 p.
7. Balakhonov S.V., Korzun V.M., editors. [Gorno-Altai Natural Plague Focus: Retrospective Analysis, Epizootiological Monitoring, Current State]. Novosibirsk: “Science-Center”; 2014. 272 p.
8. Onishchenko G.G., Balakhonov S.V., editors. [Ensuring Sanitary-Epidemiological Welfare of the Population during the Elimination of the Consequences of Floods in the Far East]. Novosibirsk: “Science-Center”; 2014. 648 p.

9. Onishchenko G.G., editor. [Ensuring Sanitary-Epidemiological Well-Being during the Preparation and Holding of the АРЕС-2012 Summit]. Novosibirsk: "Science Center"; 2013. 419 p.

10. Patyashina M.A., Zamalieva M.A. [Development of an algorithm for interagency collaboration in the prevention and control of emergency situations of sanitary-epidemiological nature in the context of mass events with international participation]. *Permsky Meditsinsky Zhurnal [Perm Medical Journal]*. 2015; 32(1):98–104.

11. Popova A.Yu., editor. [COVID-19: Scientific and Practical Aspects of the Fight against the Pandemic in the Russian Federation]. Saratov: "Amirit"; 2021. 608 p.

12. [Coronavirus Monitor]. (Cited 15 May 2021). [Internet]. Available from: <https://coronavirus-monitor.info/>.

13. Kovalev E.V., Slis' S.S., Yanovich E.G., Pichurina N.L., Volovikova S.V., Gaevskaya N.E., Chemisova O.S., Karpushchenko G.V., Litovko A.R., Noskov A.K. [Some features of the epidemic spread of new coronavirus infection (COVID-19) in the Rostov Region]. *Meditsinsky Vestnik Yuga Rossii [Medical Herald of the South of Russia]*. 2020; 11(4):99–106. DOI: 10.21886/2219-8075-2020-11-4-99-106.

Authors:

Noskov A.K., Kruglikov V.D., Chemisova O.S., Gaevskaya N.E. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gorky St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Kovalev E.V. Rospotrebnadzor Administration in the Rostov Region. 17, 18th Line, Rostov-on-Don, 344019, Russian Federation. E-mail: master@61.rospotrebnadzor.ru.

Karpushchenko G.V. Center of Hygiene and Epidemiology in the Rostov Region. 67, 7th Line, Rostov-on-Don, 344019, Russian Federation. E-mail: master@donses.ru.

Lopatin A.A., Ivanova S.M. Plague Control Center. 4, Mussorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nlm.ru.

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

Об авторах:

Носков А.К., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., Гаевская Н.Е. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Ковалев Е.В. Управление Роспотребнадзора по Ростовской области. Российская Федерация, 344019, Ростов-на-Дону, ул. 18-я Линия, 17. E-mail: master@61.rospotrebnadzor.ru.

Карпущенко Г.В. Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области. Российская Федерация, 344019, Ростов-на-Дону, ул. 7-я Линия, 67. E-mail: master@donses.ru.

Лопатин А.А., Иванова С.М. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nlm.ru.

Тихонов С.Н. Противочумная станция Республики Крым. Российская Федерация, 295023, Симферополь, ул. Промышленная, 42. E-mail: krimpchs@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-137-147

УДК 616.932:615.33

Д.А. Рыбальченко, Е.Ю. Щелканова, Ю.В. Лозовский, А.В. Федоров, Н.И. Смирнова

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ РАЗНЫХ ТИПОВ ИНТЕГРАТИВНОГО КОНЪЮГАТИВНОГО ЭЛЕМЕНТА SXT/R391, КОДИРУЮЩЕГО МНОЖЕСТВЕННУЮ РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ, СРЕДИ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ

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

Цель работы – изучить распространенность разных типов SXT-элемента с различным составом генов резистентности к антибиотикам среди клинических штаммов возбудителя холеры Эль Тор, изолированных в России, Украине и эндемичных по холере странах Азии и Африки. **Материалы и методы.** Объектами исследования служили 27 штаммов и нуклеотидные последовательности 77 штаммов *Vibrio cholerae* Эль Тор, представленные в NCBI GenBank. Определение структуры SXT-элемента и его типа проводили с помощью программ Mauve и BLAST v.2.9.0. Выявление филогенетических связей штаммов с разным типом SXT осуществляли с помощью программ Snippy v.4.6.0 и MrBayes v.3.2.7. Определение чувствительности к антибиотикам штаммов проводили в соответствии с МУК 4.2.2495-09. **Результаты и обсуждение.** Среди изученных штаммов из России и Украины выявлено два типа SXT-элемента (ICEVchInd5 и ICEVchBan9), имеющих различный состав генов резистентности к антибиотикам: *floR*, *strAB*, *sul2*, *dfrA1* и *floR*, *tetAR*, *strAB*, *sul2*, *dfrA1* соответственно. В то же время исследованные штаммы из стран Азии и Африки содержали пять типов SXT: ICEVchInd5, ICEVchBan9, ICEVchBan5, SXT^{TET}, ICEVchInd5ΔVRIII, – различающихся между собой по размеру и/или составу генов резистентности. Из них три последних не обнаружены в России и Украине. В связи с высоким уровнем геномного разнообразия SXT в популяции холерных вибрионов в эндемичных регионах появляется риск завоза в Россию штаммов возбудителя холеры с измененной устойчивостью к антибиотикам. На основе SNP-анализа дана оценка филогенетических связей 76 штаммов с разным типом SXT и различными аллелями гена *ctxB*, кодирующего В-субъединицу холерного токсина. Показана тесная филогенетическая связь между штаммами с одинаковым типом SXT, изолированными в России и странах Азии, что подтверждает завоз возбудителя холеры с множественной резистентностью к антибиотикам из этого региона и необходимость постоянного мониторинга чувствительности холерных вибрионов к антимикробным препаратам.

Ключевые слова: возбудитель холеры, SXT-элемент, гены резистентность к антибиотикам, SNP-анализ, филогенетические связи.

Корреспондирующий автор: Смирнова Нина Ивановна, e-mail: nusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Рыбальченко Д.А., Щелканова Е.Ю., Лозовский Ю.В., Федоров А.В., Смирнова Н.И. Распространенность разных типов интегративного конъюгативного элемента SXT/R391, кодирующего множественную резистентность к антибиотикам, среди клинических штаммов возбудителя холеры. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:137–147. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-137-147

Поступила 04.08.2021. Отправлена на доработку 24.11.2021. Принята к публ. 13.12.2021.

D.A. Rybal'chenko, E.Yu. Shchelkanova, Yu.V. Lozovsky, A.V. Fedorov, N.I. Smirnova

Prevalence of Different Types of Integrative Conjugative Element SXT/R391 Encoding Multiple Antibiotic Resistance Among Clinical Strains of Cholera Agent

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

Abstract. The aim of the work was to study the prevalence of different types of SXT element with different composition of antibiotic resistance genes among clinical strains of the El Tor cholera pathogen isolated in Russia, Ukraine and cholera-endemic countries in Asia and Africa. **Materials and methods.** The subject of the study was 27 strains and nucleotide sequences of 77 strains of *Vibrio cholerae* El Tor available from the NCBI GenBank. The structure of the SXT element and its type were determined using the Mauve and BLAST v.2.9.0 programs. Phylogenetic relations of strains with different types of SXT were identified using Snippy v.4.6.0 and MrBayes v.3.2.7 software. Assessment of strain sensitivity to antibiotics was carried out in accordance with Methodological Regulations 4.2.2495-09. **Results and discussion.** Two types of SXT element (ICEVchInd5 and ICEVchBan9) have been identified among the studied strains from Russia and Ukraine, which have different composition of antibiotic resistance genes: *floR*, *strAB*, *sul2*, *dfrA1* and *floR*, *tetAR*, *strAB*, *sul2*, *dfrA1*, respectively. At the same time, the studied strains from Asia and Africa contain five types of SXT: ICEVchInd5, ICEVchBan9, ICEVchBan5, SXT^{TET}, ICEVchInd5ΔVRIII, which differ in size and/or composition of resistance genes. Of these, the last three have not been found in Russia and Ukraine. Due to the high level of genomic diversity of SXT in the population of *V. cholerae* in endemic regions, there is a risk of importation of cholera pathogen strains with altered resistance to antibiotics into Russia. Phylogenetic relations of 76 strains with different SXT types and different alleles of the *ctxB* gene encoding the B subunit of cholera toxin have been assessed based on SNP analysis. A close phylogenetic relation between strains with the same type of SXT isolated in Russia and Asian countries has been demonstrated, which confirms the importation of the causative agent of cholera with multiple resistance to antibiotics from this region and the need for constant monitoring of the sensitivity of *V. cholerae* to antimicrobial drugs.

Key words: cholera pathogen, SXT element, antibiotic resistance genes, SNP analysis, phylogenetic relations.

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

Corresponding author: Nina I. Smirnova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Rybal'chenko D.A., Shchelkanova E.Yu., Lozovsky Yu.V., Fedorov A.V., Smirnova N.I. Prevalence of Different Types of Integrative Conjugative Element SXT/R391 Encoding Multiple Antibiotic Resistance Among Clinical Strains of Cholera Agent. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:137–147. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-137-147

Received 04.08.2021. Revised 24.11.2021. Accepted 13.12.2021.

Rybal'chenko D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3117-8229>
Shchelkanova E.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0672-8820>
Lozovsky Yu.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4382-7254>

Fedorov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7190-4427>
Smirnova N.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7115-6286>

Возникновение и изменение устойчивости патогенных бактерий к лекарственным препаратам является одной из фундаментальных угроз здоровью человека в современный период. Особую тревогу вызывает быстрое распространение в мире возбудителей особо опасных инфекций с множественной резистентностью к антибиотикам. Одним из таких возбудителей является *Vibrio cholerae* серогруппы O1 биовара Эль Тор, вызвавший последнюю, седьмую, пандемию холеры, начавшуюся в 1961 г. и продолжающуюся до сих пор [1, 2]. Глобальное распространение холеры из Бенгальского залива в другие страны мира происходило тремя независимыми, но перекрывающимися волнами [3]. При лечении холеры, вызывающей тяжелую острую диарею, помимо регидратационных растворов, применяют различные антибиотики (тетрациклины, хлорамфеникол, триметоприм, фторхинолоны и др.), использование которых сокращает длительность периода диареи, а также время выделения возбудителя больным [4]. В первые годы внедрения антибактериальных препаратов в практику устойчивость к ним возбудителя холеры была редким явлением. Ключевой причиной развития резистентности стало чрезмерно широкое и неправильное использование антибиотиков при лечении и профилактике этой инфекции. Следствием такой устойчивости является более продолжительная госпитализация, рост медицинских расходов и смертности.

Изучение механизмов возникновения и распространения бактериальных генов резистентности у холерных вибрионов показало исключительно важную роль в этом процессе интегративного конъюгативного элемента (или ICE, integrative conjugating element) SXT, относящегося к семейству SXT/R391. Впервые этот мобильный элемент обнаружили в штамме *V. cholerae* MO10 серогруппы O139, выделенном в Индии в 1992 г. [5]. Однако впоследствии SXT был приобретен многими штаммами *V. cholerae* серогруппы O1 биовара Эль Тор через горизонтальный перенос. Установлено, что SXT (99,5 т.п.н.), внедренный в 5'-конец хромосомного гена *pf1C* [6] и расположенный между геномными островами VPI-2 (островом патогенности 2) и VSP-I (островом пандемичности I) [7, 8], имеет мозаичную структуру. В его состав входят консервативные последовательности (52 гена), кодирующие его внедрение в хромосому, вырезание и конъюгативный перенос, а также четыре переменных региона (VRI–IV, variable regions I–IV), включенные в межгенное пространство в пять сайтов, названных горячими точками интеграции (HSs, hot spots) [9, 10]. Среди последних безусловный

интерес представляет VRIII, содержащий отдельный блок генов *floR*, *strAB*, *sul2* и *df1A1*, кодирующих устойчивость к хлорамфениколу, стрептомицину, сульфаметоксазолу и триметоприму соответственно. Большинство встроенных в SXT генов резистентности (*floR*, *strAB* и *sul2*) находятся в участке размером 23 т.п.н., включенном в ген *rumB*. Этот участок, окруженный генами транспозаз, представляет собой сложную транспозоноподобную структуру, что означает возможность ее участия в появлении разных вариантов SXT в результате индуцированных геномных перестроек [9]. В то же время ген *df1A1* отделен от данной области последовательностью ДНК размером около 70 т.п.н. (рис. 1, а).

Сравнительно недавно стало известно, что SXT-элемент нестабилен и его структура быстро меняется в ходе эволюции возбудителя. В настоящее время известно более 30 его типов [11], среди которых наиболее распространены ICEVchInd5/ICEVchBan5, ICEVchMoz10, ICEVchBan9, ICEVchBan11 и ICEVchInd9 [10], обозначенные согласно универсальной номенклатуре [12]. Основное различие между типами SXT выразилось в разном наборе генов резистентности к антибиотикам. Последствие большой пластичности генома SXT – изменение резистентности возбудителя холеры к лекарственным препаратам, что могло приводить к снижению качества лечения и росту смертности. В связи с очевидной значимостью для медицины устойчивости к различным лекарственным препаратам возбудителя холеры решением этой проблемы занимались многие зарубежные и отечественные исследователи [13–16]. Однако ряд вопросов о частоте распространения на территории России штаммов с разным типом SXT и различным набором генов резистентности, о циркуляции в эндемичных очагах холеры вибрионов с измененным спектром устойчивости к лекарственным препаратам и возможности их завоза в Россию нуждаются в дополнительных исследованиях. **Цель** работы – изучить распространенность разных типов SXT-элемента с различным составом генов резистентности к антибиотикам среди клинических штаммов возбудителя холеры Эль Тор, изолированных в России, Украине и эндемичных по холере странах Азии и Африки.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись 27 штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных на территории России и Украины, полученных из Государственной коллекции патогенных бактерий

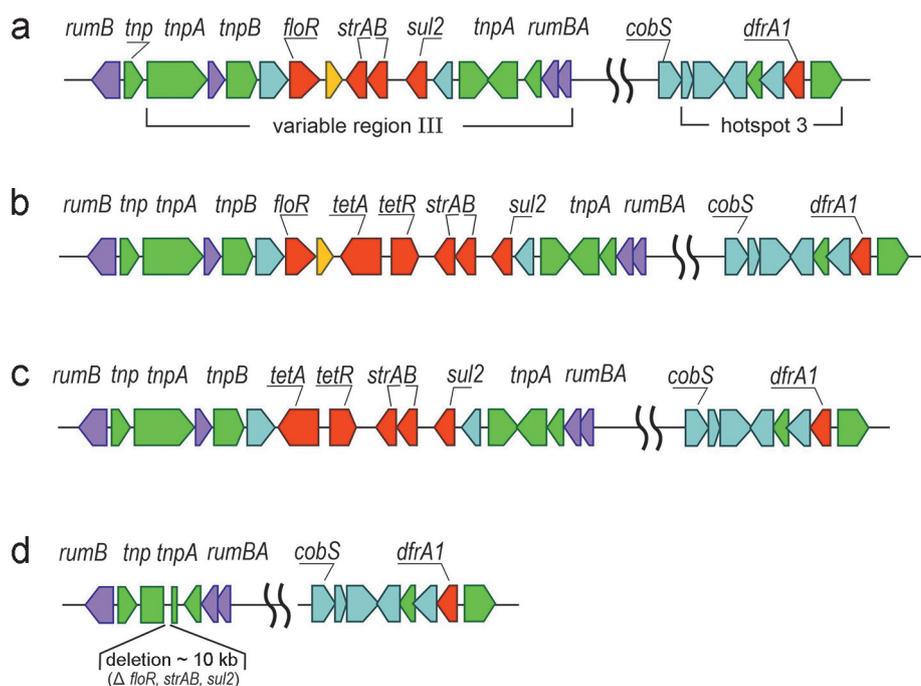


Рис. 1. Схема структурной организации интегративного конъюгативного SXT-элемента исследуемых штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор:

a – ICEVchInd5; b – ICEVchBan9; c – SXT^{TET}; d – ICEVchInd5ΔVIII

Fig. 1. Scheme of the structural organization of the integrative conjugative SXT element in the studied strains of *V. cholerae* O1 biovar El Tor:

a – ICEVchInd5; b – ICEVchBan9; c – SXT^{TET}; d – ICEVchInd5ΔVIII

РосНИПЧИ «Микроб» (табл. 1). Бактерии культивировали в среде LB при 37 °C (pH 7,2). Оценку их чувствительности к антибиотикам осуществляли методом реплик 18 часовых агаровых культур на плотную среду с хлорамфениколом (30 мкг), тетрациклином (10 мкг), стрептомицином (25 мкг), триметопримом (25 мкг) и сульфаметоксазолом (200 мкг). Посевная доза взвесей агаровых культур составляла 10⁸ м.к. по отраслевому стандарту мутности ОСО-42-25-59-86П. Интерпретацию результатов проводили в соответствии с МУК 4.2.2495-09 «Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сеп, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам».

Для биоинформационного анализа использованы секвенированные нуклеотидные последовательности полных геномов 77 штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных на территории России и Украины (табл. 1), а также в эндемичных по холере странах Азии и Африки (табл. 2). Из них нуклеотидные последовательности 27 штаммов из России и Украины секвенированы нами ранее, другие – взяты из баз данных NCBI GenBank и European Nucleotide Archive. Наличие SXT и его тип определяли путем сопоставления полногеномных последовательностей исследуемых штаммов с таковыми штаммов 7452 (ICEVchInd5), 1811/98 (ICEVchBan5), MJ-1236 (ICEVchBan9), B33 (ICEVchMoz10), 4585 (ICEVchInd6) и 4672 (ICE ICEVchBan11), взятых в качестве референсных [10]. Для выравнивания последовательностей использовали программы Mauve и BLAST v.2.9.0 с алгоритмом blastn.

Для проведения филогенетического анализа геномов 76 штаммов (сборка в виде контигов) они были картированы на референсную последовательность генома штамма N16961, после чего построе-

на матрица коровых SNP с помощью программы Snippy v.4.6.0. Байесовский MCMC-анализ с построением филогенетического дерева проводился с помощью программы MrBayes v.3.2.7 с использованием модели General Time Reversible (GTR). Для визуализации дендрограммы использовали программу FigTree v1.4.4.

Результаты и обсуждение

Для выявления интегративного конъюгативного элемента SXT и анализа его структуры на первом этапе работы проведен биоинформационный анализ секвенированного полного генома 29 штаммов, изолированных на территории России и Украины в разные периоды текущей пандемии (1961–2014 гг.). Оказалось, что пять штаммов (M818, M888, M1062, M893 и M1011), занесенных в Россию из эндемичных очагов в 1970–1972 гг. во время первой волны пандемии, были лишены SXT и, следовательно, не имели генов резистентности к антибиотикам, входящих в его состав (табл. 1).

Однако начиная с 1993 г. в составе хромосомы всех изученных штаммов обнаружено присутствие SXT-элемента. Для определения типа этого мобильного элемента во взятых штаммах сравнили нуклеотидную последовательность их SXT с таковой разных типов SXT, присутствующих в штаммах 7452 (ICEVchInd5), 1811/98 (ICEVchBan5), MJ-1236 (ICEVchBan9), B33 (ICEVchMoz10), 4585 (ICEVchInd6) и 4672 (ICE ICEVchBan11), взятых в качестве референсных [10]. В результате показали, что по размеру и структуре SXT исследованные штаммы следует разделить на две группы. Первую образовали девять штаммов, выделенных во время эпидемических вспышек холеры или при регистрации отдельных случаев инфекции в Дагестане

Таблица 1 / Table 1

Резистентность к антибиотикам штаммов *V. cholerae* O1 бивара Эль Тор с SXT/R391 элементом, выделенных в России и Украине
Antibiotic resistance of *V. cholerae* O1 El Tor strains with SXT/R391 element, isolated in Russia and Ukraine

№ No.	Штамм Strain	Место и год выделения Site and year of isolation	Аллель гена <i>ctxB</i> <i>ctxB</i> gene allele	Тип SXT SXT type	Размер SXT (п.н.) Size of SXT (bp)	Профиль генов резистентности Drug resistance gene profile	Резистентность Resistance
1	M818	РФ, Саратов, 1970 RF, Saratov, 1970	<i>ctxB3</i>	Отсутствует Absent	–	–	Cm ^S Tet ^S Sm ^S , Tr ^S /Su ^S
2–4	M888, M1062, M893	РФ, Астрахань, 1970 RF, Astrakhan, 1970	<i>ctxB3</i>	Отсутствует Absent	–	–	Cm ^S , Tet ^S , Sm ^S , Tr ^S /Su ^S
5	M1011	Башкортостан, Уфа, 1972 Bashkortostan, Ufa, 1972	<i>ctxB3</i>	Отсутствует Absent	–	–	Cm ^S , Tet ^S , Sm ^S , Tr ^S /Su ^S
6	M1275	РФ, Дагестан, 1993 RF, Dagestan, 1993	<i>ctxB1</i>	ICEVchBan9	106124	<i>floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Tet ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
7	M1270	РФ, Набережные Челны, 1993 RF, Naberezhnye Chelny, 1993	<i>ctxB1</i>	ICEVchBan9	106124	<i>floR, tetAR, strBA, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R Sm ^R , Tet ^R , Tr ^R /Su ^R
8	M1293	РФ, Дагестан, 1994 RF, Dagestan, 1994	<i>ctxB1</i>	ICEVchBan9	106124	<i>floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Tet ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
9	I-1181*	РФ, Барнаул, 1994 RF, Barnaul, 1994	<i>ctxB1</i>	ICEVchBan9	106124	<i>floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Tet ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
10	28	Украина, Кривой Рог, 1994 Ukraine, Krivoy Rog, 1994	<i>ctxB1</i>	ICEVchBan9	106124	<i>floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Tet ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
11	155	Украина, Мариуполь, 1994 Ukraine, Mariupol, 1994	<i>ctxB1</i>	ICEVchBan9	106124	<i>floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Tet ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
12	20-a/11	Украина, Николаевская обл., 1995 Ukraine, Nikolaev Region, 1995	<i>ctxB1</i>	ICEVchBan9	106124	<i>floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Tet ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
13	I-1263*	РФ, Иркутск, 1997 RF, Irkutsk, 1997	<i>ctxB1</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Tet ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
14	P17644	РФ, Ачинск, 1997 RF, Achinsk, 1997	<i>ctxB1</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
15	M1327	РФ, Дагестан, 1998 RF, Dagestan, 1998	<i>ctxB1</i>	ICEVchBan9	106124	<i>floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Tet ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
16	M1344	РФ, Казань, 2001 RF, Kazan, 2001	<i>ctxB1</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Tet ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
17	M1429	РФ, Башкирия, 2004 RF, Bashkortostan, 2004	<i>ctxB1</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
18	M1430	РФ, Тверь, 2005 RF, Tver, 2005	<i>ctxB1</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
19	P18899	РФ, Мурманск, 2006 RF, Murmansk, 2006	<i>ctxB1</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
20–21	L-4150, L3226	РФ, Москва, 2010 RF, Moscow, 2010	<i>ctxB7</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
22	89	Украина, Ялта, 2010 Ukraine, Yalta, 2010	<i>ctxB1</i>	ICEVchBan9	106124	<i>floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
23–26	76, 153, 39, 186	Украина, Мариуполь, 2011 Ukraine, Mariupol, 2011	<i>ctxB7</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
27	M1509	РФ, Москва, 2012 RF, Moscow, 2012	<i>ctxB7</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Sm ^R , Su/Tr ^R
28	P19613 (81)	РФ, Ростов-на-Дону, 2014 RF, Rostov-on-Don, 2014	<i>ctxB1</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R
29	3265/80	РФ, Москва, 2014 RF, Moscow, 2014	<i>ctxB7</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>	Cm ^R , Sm ^R , Tr ^R /Su ^R

Примечание: * – нуклеотидные последовательности взяты из NCBI GenBank; резистентность к антибиотикам указана согласно данным [16]; *floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1* – гены, кодирующие резистентность к хлорамфениколу, тетрациклину, стрептомицину, сульфаметоксазолу, триметоприму соответственно; Cm^R, Tet^R, Sm^R, Tr^R/Su^R – резистентность к хлорамфениколу, тетрациклину, стрептомицину, триметоприму, сульфаметоксазолу соответственно; ■, ■, ■ – цветом обозначены штаммы, не имеющие SXT и содержащие ICEVchBan9 и ICEVchInd5 соответственно.

Note: * – Nucleotide sequences are taken from NCBI GenBank; resistance to antibiotics is indicated according to [16]; *floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1* – genes encoding resistance to chloramphenicol, tetracycline, streptomycin, sulfamethoxazole, trimethoprim, respectively; Cm^R, Tet^R, Sm^R, Tr^R/Su^R – resistance to chloramphenicol, tetracycline, streptomycin, trimethoprim, sulfamethoxazole, respectively; ■, ■, ■ – color indicates the strains without SXT and containing ICEVchBan9 and ICEVchInd5, respectively.

(1993–1994 гг.), Татарстане (1993 г.), Украине (1993–1994 гг.), Алтайском и Красноярском крае (1994, 1997 гг.), а также при мониторинге внешней среды (Украина, 2010 г.). Указанные штаммы были занесены на эти территории из разных стран Азии в период второй волны пандемии [17–19]. В их хромосоме присутствовал SXT размером 106124 п.н., относящийся к одному и тому же типу – ICEVchBan9 [10]. Характерная его особенность – наличие в VRIII не только генов *floR*, *strAB*, *sul2*, но и генов *tetAR*, кодирующих резистентность к тетрациклину, а также *dfrA1* (табл. 1; рис. 1, *b*). Большинство же штаммов (15 изолятов) вошли во вторую группу. В их хромосоме обнаружен другой тип SXT – ICEVchInd5, несущий в своем составе четыре гена устойчивости к антибиотикам (*floR*, *strAB*, *sul2* и *dfrA1*) и отличающийся от ICEVchBan9 как меньшим размером (97847 п.н.), так и отсутствием генов *tetAR* (табл. 1; рис. 1, *a*). При этом значительное их число (13 из 15 изолятов, или 86,7 %) изолировали во время третьей волны пандемии (табл. 1; рис. 2, *a*). Таким образом, среди 24 исследуемых штаммов *V. cholerae* Эль Тор, имеющих SXT-элемент и вызывавших эпидемические осложнения по холере в России и Украине на протяжении 21 года (с 1993 по 2014 год), выявлено два разных его типа – ICEVchBan9 и ICEVchInd5. Следствие этого события – различный профиль устойчивости штаммов к антибиотикам. Полученные данные полностью согласуются с результатами A.S. Gladkikh *et al.* [16], изучивших штаммы из Сибири и Дальнего Востока.

Определена чувствительность 27 штаммов холерного вибриона Эль Тор к пяти антибиотикам: хлорамфениколу, тетрациклину, стрептомицину, сульфаметоксазолу и триметоприму. При ее оценке выявили три различные группы. В первую вошли штаммы (пять изолятов), выделенные в 1970–1972 гг., которые, как и ожидалось, были чувствительны к ним вследствие отсутствия у них SXT (табл. 1). Вторая группа представлена девятью штаммами, изолированными в более поздний период (1993–1998 гг. и 2010 г.), в хромосоме которых появился SXT типа ICEVchBan9. Эти штаммы были устойчивы к хлорамфениколу (Cm^R), тетрациклину (Tc^R), стрепто-

мицину (Sm^R) и триметоприм/сульфаметоксазолу (Su/Tr^r) (табл. 1). Штаммы из третьей группы, состоящей из 15 изолятов (2001–2014 гг.) с ICEVchInd5, в отличие от второй, были резистентны лишь к четырем антибиотикам: хлорамфениколу (Cm^R), стрептомицину (Sm^R) и триметоприм/сульфаметоксазолу (Su/Tr^r) (табл. 1). Таким образом, изученные штаммы холерного вибриона, изолированные с 1993 по 2014 год, имели разный профиль множественной резистентности к антибиотикам.

Поскольку эпидемические проявления холеры продолжают в эндемичных странах Азии и Африки с сохранением риска завоза инфекции на территорию России [2], представляло интерес изучение распространенности SXT-элемента среди 48 клинических штаммов *V. cholerae* Эль Тор, выделенных в этих регионах в последние два десятилетия. В результате установили, что независимо от места выделения все проверенные штаммы, выделенные от больных в начальный период пандемии (1961–1986 гг.), были лишены SXT-элемента (табл. 2). Этот мобильный элемент появился в хромосоме штаммов, изолированных лишь во время 2-й и 3-й волн пандемии, что полностью согласуется с результатами других исследователей.

Далее для выяснения типа SXT и состава его генов резистентности провели сравнительный биоинформационный анализ нуклеотидной последовательности этого мобильного элемента 45 изолятов, выделенных во время 2-й (MJ-1236, Бангладеш, 1994 г.) и 3-й (44 штамма, 1994–2018 гг.) волн пандемии. В результате установили, что эти штаммы, в отличие от изолятов из России и Украины, несли пять разных типов SXT: ICEVchBan9, ICEVchInd5, ICEVchBan5, SXT^{TET}, ICEVchInd5ΔVRIII, – различающихся между собой набором генов резистентности к антибиотикам и/или размером. Штамм MJ-1236 (1994 г.) содержал ICEVchBan9 размером 106124 п.н. с генами *floR*, *tetAR*, *strAB*, *sul2* и *dfrA1*, как и штаммы из России и Украины, изолированные в тот же период пандемии (1993–1998 гг.) (табл. 2; рис. 1, *b*). Одним из наиболее распространенных оказался ICEVchInd5 (97847 п.н.), обнаруженный у 12 штаммов (или 26,7 % от числа изученных) из Индии и Бангладеш, который также имели большинство проверенных штаммов, изолированных в России и Украине. Состав генов резистентности был также одинаков: *floR*, *strAB*, *sul2* и *dfrA* (табл. 2; рис. 1, *a*; 2, *b*). Отсутствие различий между типами SXT у сравниваемых изолятов из эндемичных и неэндемичных по холере регионов может служить указанием на занос возбудителя холеры на территорию России и Украины в основном из стран Юго-Восточной Азии, что подтверждено результатами эпидемиологических исследований [18, 19].

Что касается трех других типов SXT-элемента (ICEVchBan5, SXT^{TET}, ICEVchInd5ΔVRIII), то они были найдены только среди штаммов из Азии и Африки. При этом ICEVchBan5, имеющий тот же набор генов резистентности, что и ICEVchInd5, но

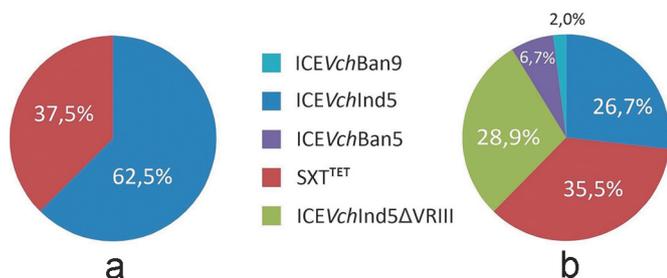


Рис. 2. Распространенность изучаемых штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор с разными типами интегративного конъюгативного SXT-элемента в России и Украине (*a*) и на эндемичных по холере территориях Азии и Африки (*b*)

Fig. 2. Prevalence of the studied *V. cholerae* O1 El Tor strains with different types of integrative conjugative SXT-element in Russia and Ukraine (*a*) and in cholera-endemic territories of Asia and Africa (*b*)

Таблица 2 / Table 2

Резистентность к антибиотикам штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор с разными типами SXT/R391 элемента, изолированных в эндемичных по холере странах

Antibiotic resistance in strains of *V. cholerae* O1 biovar El Tor with different types of SXT/R391 element, isolated in cholera endemic countries

№ No.	Штамм Strain	Место и год выделения Site and year of isolation	Аллель гена <i>ctxB</i> <i>ctxB</i> gene allele	Тип SXT SXT type	Размер SXT (п.н.) Size of SXT (bp)	Профиль генов резистентности Drug resistance gene profile
1	2	3	4	5	6	7
1	CRC711	Индия, 1962 India, 1962	<i>ctxB3</i>	Отсутствует Absent	–	–
2	6/67	Индия, 1967 India, 1967	<i>ctxB3</i>	Отсутствует Absent	–	–
3	N16961	Бангладеш, 1975 Bangladesh, 1975	<i>ctxB3</i>	Отсутствует Absent	–	–
4	MJ-1236	Бангладеш, 1994 Bangladesh, 1994	<i>ctxB1</i>	ICE/ <i>ch</i> Ban9	106124	<i>floR</i> , <i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
5	IDH-0574	Индия, 2008 India, 2008	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	92592	<i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
6	IND031	Индия, 2009 India, 2009	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5	97847	<i>floR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
7–8	IDH-1986 IDH-2501	Индия, 2009 India, 2009	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	92592	<i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
9	BGD101	Бангладеш, 2009 Bangladesh, 2009	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	92592	<i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
10	IDH-2222	Индия, 2010 India, 2010	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	92592	<i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
11	BGD043	Бангладеш, 2010 Bangladesh, 2010	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5	97847	<i>floR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
12–13	BGD117 NHCM-053	Бангладеш, 2011 Bangladesh, 2011	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	92592	<i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
14	BGD060	Бангладеш, 2012 Bangladesh, 2012	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5	97847	<i>floR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
15	BGD120	Бангладеш, 2012 Bangladesh, 2012	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	92592	<i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
16	IND071	Индия, 2013 India, 2013	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5	97847	<i>floR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
17	BGD070	Бангладеш, 2013 Bangladesh, 2013	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	97847	<i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
18–19	IND082, IND085	Индия, 2014 India, 2014	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5	97847	<i>floR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
20–21	BGD089, BGD095	Бангладеш, 2014 Bangladesh, 2014	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	92592	<i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
22	IND203	Индия, 2015 India, 2015	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5	97847	<i>floR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
23	BGD128	Бангладеш, 2015 Bangladesh, 2015	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	92592	<i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
24	Tanz 14	Танзания, 2015 Tanzania, 2015	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5ΔVRIII	88264	<i>dfrA1ΔstrAB</i> , <i>sul2</i> , <i>floR</i>
25	UG026	Уганда, 2015 Uganda, 2015	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5ΔVRIII	88264	<i>dfrA1ΔstrAB</i> , <i>sul2</i> , <i>floR</i>
26–28	4621STDY6714750, 4621STDY6714758, 4621STDY6714749	Кения, 2015 Kenya, 2015	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5ΔVRIII	88264	<i>dfrA1ΔstrAB</i> , <i>sul2</i> , <i>floR</i>
29–30	IND234, IND231	Индия, 2016 India, 2016	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5	97847	<i>floR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
31	BGD140	Бангладеш, 2016 Bangladesh, 2016	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	92592	<i>tetAR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
32	BGD137	Бангладеш, 2016 Bangladesh, 2016	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5	97847	<i>floR</i> , <i>strAB</i> , <i>sul2</i> , <i>dfrA1</i>
33–34	UG020, UG010	Уганда, 2016 Uganda, 2016	<i>ctxB7</i>	ICE/ <i>ch</i> Ind5ΔVRIII	88264	<i>dfrA1ΔstrAB</i> , <i>sul2</i> , <i>floR</i>

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

1	2	3	4	5	6	7
35	4621STDY6714780	Кения, 2016 Kenya, 2016	<i>ctxB7</i>	ICEVchInd5ΔVRIII	88264	<i>dfrA1AstrAB, sul2, floR</i>
36–37	CNRVC170168, CNRVC170175	Йемен, 2016 Yemen, 2016	<i>ctxB7</i>	ICEVchInd5ΔVRIII	88264	<i>dfrA1AstrAB, sul2, floR</i>
38–40	NALMLE36, NALMLE34, NALMLE37,	Бангладеш, 2017 Bangladesh, 2017	<i>ctxB1</i>	SXT ^{TET}	92592	<i>tetAR, strAB, sul2, dfrA1</i>
41–42	THSTI_56695, THSTI_56712	Индия, 2017 India, 2017	<i>ctxB7</i>	ICEVchInd5	97847	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>
43–45	CNRVC170179, CNRVC170208, CNRVC170197	Йемен, 2017 Yemen, 2017	<i>ctxB7</i>	ICEVchInd5ΔVRIII	88264	<i>dfrA1AstrAB, sul2, floR</i>
46–48	NALMLE03, NALMLE31, NALMLE07	Бангладеш, 2018 Bangladesh, 2018	<i>ctxB7</i>	ICEVchBan5	102131	<i>floR, strAB, sul2, dfrA1</i>

Примечание: *floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1* – гены, кодирующие резистентность к хлорамфениколу, тетрациклину, стрептомицину, сульфаметоксазолу, триметоприму соответственно; ■, ■, ■, ■, ■, ■ – цветом обозначены штаммы, не имеющие SXT и содержащие ICEVchBan9, SXT^{TET}, ICEVchInd5, ICEVchInd5ΔVRIII и ICEVchBan5 соответственно.

Note: *floR, tetAR, strAB, sul2, dfrA1* are the genes encoding resistance to chloramphenicol, tetracycline, streptomycin, sulfamethoxazole, trimethoprim, respectively; ■, ■, ■, ■, ■, ■ – strains that do not have SXT and contain ICEVchBan9, SXT^{TET}, ICEVchInd5, ICEVchInd5ΔVRIII, and ICEVchBan5, are colored respectively.

отличающийся от последнего большим размером (102131 п.н. по сравнению с 97847 п.н.), из изученных изолятов был в хромосоме лишь штаммов из Бангладеш, выделенных в 2018 г. (табл. 2). Особый интерес, на наш взгляд, представляет SXT^{TET}, геном которого был изучен ранее [13, 19]. О появлении в ряде стран Азии единичных штаммов, утративших устойчивость к хлорамфениколу, но получивших резистентность к тетрациклину, стало известно с 1998–2000 гг. Однако с 2007 г. в Индии такие изоляты составляли более 76 % от числа изученных штаммов [19]. Резкое увеличение штаммов с SXT^{TET} наблюдали и в ряде стран Африки, что было связано с интенсивным использованием тетрациклина (доксциклина) для лечения и профилактики холеры [20]. Среди изученных изолятов SXT^{TET} присутствовал в хромосоме 16 штаммов, выделенных от больных в Индии (2008–2010 гг.) и Бангладеш (2009–2017 гг.) (табл. 2). В составе SXT^{TET} размером 92592 п.н. были гены *tetAR, strAB, sul2* и *dfrA1* (табл. 2; рис. 1, c; 2, b). Однако, в отличие от других широко распространенных типов SXT (ICEVchInd5, ICEVchBan5, ICEVchBan9), в его геноме отсутствовал ген *floR* [10, 19]. Следует также отметить тот факт, что появление изолятов с SXT^{TET} в эндемичных по холере регионах сопровождалось вытеснением ими штаммов с геном *floR* [19, 20].

Вариабельность генома SXT проявилась также в возникновении делеции в его VRIII, затронувшей гены резистентности. Среди изученных обнаружили 13 штаммов с SXT, несущих делецию около 10 т.п.н. в VRIII. Эта делеция в штаммах, выявленных в 2009–2018 гг., привела к утрате четырех генов, кодирующих резистентность к хлорамфениколу (*floR*), стрептомицину (*strA* и *strB*) и сульфаниламиду (*sul2*) в случае ICEVchInd5, или пяти генов, определяющих устойчивость к тетрациклину (*tetA* и

tetR), стрептомицину (*strA* и *strB*) и сульфаниламиду (*sul2*) при SXT^{TET}. Ген *dfrA1*, кодирующий резистентность к триметоприму, сохранялся во всех случаях (табл. 2; рис. 1, d; 2, b). Такие штаммы с измененным геномом SXT циркулировали на территории Кении (2015–2016 гг.), Танзании (2015 г.), Уганды (2015–2016 гг.), а также Йемена (2016–2017 гг.). Тем не менее на основании первых обнаружений таких штаммов в Индии считают, что появление в Африке изолятов с SXT, утратившим многие гены резистентности, связано с их заносом на этот континент из эндемичных очагов холеры в Азии [21–23].

Таким образом, приведенные результаты говорят о том, что геномное разнообразие SXT, находящихся в хромосоме клинических штаммов возбудителя холеры из эндемичных по холере территорий в Азии и Африке, более значимо по сравнению с таковым в России и Украине. Среди изученных штаммов выявлено пять типов SXT: ICEVchInd5, ICEVchBan5, ICEVchBan9, SXT^{TET} и ICEVchInd5ΔVRIII. Следствием этого является довольно широкий спектр изменчивости множественной резистентности к антибиотикам циркулирующих в этих регионах штаммов. Появились штаммы с ранее неизвестной структурой SXT-элемента, у которого, при сохранении генов резистентности к стрептомицину, сульфаметоксазолу и триметоприму, ген *floR* заменен на гены, кодирующие устойчивость к тетрациклину. Более того, в этот же период выявлены штаммы, утратившие устойчивость к трем антибиотикам (стрептомицину, сульфаметоксазолу, хлорамфениколу) за счет возникновения делеции в VRIII.

Ранее было показано, что в геноме возбудителя холеры на протяжении трех волн текущей пандемии происходило изменение не только резистентности к антибиотикам, но и генов патогенности. Одно из таких изменений – появление новых аллелей струк-

турного гена *ctxB*, который определяет биосинтез В-субъединицы холерного токсина и входит в состав профага СТХφ, содержащего оперон *ctxAB*, кодирующий этот ключевой фактор патогенности. Типичные штаммы возбудителя, появившиеся в 1961 г. и циркулировавшие в период 1-й волны пандемии, несли *ctxB3*, тогда как возникшие в процессе эволюции, генетически измененные штаммы из 2-й и 3-й волн имели аллели *ctxB1* и *ctxB7* [3]. Учитывая вышесказанное, мы попытались найти связь между типом SXT и аллелем гена *ctxB*, изучив его распространенность среди всех исследуемых штаммов. Оказалось, что аллель *ctxB3* действительно имели лишь штаммы, выделенные в период 1-й волны и лишённые SXT-элемента. Присутствие аллеля *ctxB1* установили в штаммах из 2-й и 3-й волн, содержащих разные типы SXT: ICEVchInd5, ICEVchBan9, SXT^{TET}. Что касается аллеля *ctxB7*, то он был выявлен только у новых вариантов возбудителя холеры из 3-й волны пандемии, имеющих в хромосоме один из следующих типов SXT: ICEVchInd5, ICEVchBan5, ICEVchInd5ΔVRIII. Таким образом, не обнаружено прямой связи между аллелем гена *ctxB* и типом SXT-элемента. Однако подтверждена строгая корреляция аллеля *ctxB7* с новыми вариантами атипичных штаммов возбудителя холеры, появившимися в последние два десятилетия.

Глобальное распространение клинических штаммов возбудителя холеры в эндемичных по холере регионах с разными типами SXT-элемента ставит вопрос об их связи между собой и происхождении таких изолятов в России. В связи с этим провели филогенетический анализ на основе SNP-типирования 76 штаммов, представленных 29 изолятами из России и Украины и 47 штаммами, выделенными в Азии (39 изолятов) и Африке (8 изолятов) во время трех волн пандемии (рис. 3). При сравнении полных геномов изучаемых штаммов с референсной последовательностью штамма N16961 выявили 1488 одиночных нуклеотидных замен, или SNPs, в коровых генах, локализованных на обеих хромосомах. На основе анализа единичных полиморфных нуклеотидов построили филогенетическое дерево, которое четко разделилось на три кластера (рис. 3). Штаммы из 1-й волны с аллелем *ctxB3*, лишённые SXT-элемента (7 изолятов), независимо от места и года выделения (1962–1975 гг.) входили в состав кластера I, отличаясь от референсного лишь на 42–198 SNPs (рис. 3). Кластер II сформировали 13 штаммов, выделенных в период 2-й волны, получивших в процессе эволюции измененный профаг СТХφ с ранее неизвестным аллелем *ctxB1* и SXT-элементом и отличающихся от референсного на 86–206 SNPs. В пределах этого кластера штаммы образовали две подгруппы A и B, различающиеся типом SXT. В хромосоме всех штаммов из подгруппы A присутствовал ICEVchBan9, тогда как у штаммов из подгруппы B – ICEVchInd5 (рис. 3). В самый большой кластер III вошли штаммы из 3-й волны (56 изолятов), имеющие высокий уровень гетерогенности по

типам SXT. Их хромосома содержала один из четырех типов этого мобильного элемента: ICEVchInd5, ICEVchBan5, SXT^{TET} или ICEVchInd5ΔVRIII (рис. 3). Различия в SNPs между ними и референсным штаммом достигали 116–216 SNPs. Следствием высокого генетического разнообразия стало формирование ими трех основных подгрупп: C, D и E. В состав достаточно четко обособленной подгруппы C входили 14 штаммов с аллелем *ctxB1*, выделенных в эндемичных по холере регионах Азии (Индия, Бангладеш), отличающихся от N16961 в среднем по 147 SNPs и имеющих SXT^{TET}. Другая подгруппа, D, объединила 27 изолятов холерных вибрионов с аллелями *ctxB1* и *ctxB7*, циркулирующих как в России и Украине, так и в эндемичных очагах холеры (Индия и Бангладеш) и различающихся от N16961 в среднем по 141 SNPs. Эти штаммы содержали другие типы SXT: ICEVchInd5 и ICEVchBan5. При этом различия между входящими в эту подгруппу штаммами из России и Индии с ICEVchInd5 были незначительны – в среднем по 27 SNPs. Тесная филогенетическая связь этих штаммов может служить указанием на завоз возбудителя холеры в Россию из названных регионов. Отличие последней подгруппы E от двух первых состояло в присутствии в штаммах, входящих в ее состав, только аллеля *ctxB7* и иного типа SXT, а именно ICEVchInd5ΔVRIII (рис. 3). Различия по SNPs с N16961 были более значительны по сравнению со штаммами из подгрупп C и D и составляли в среднем 152 SNPs.

Таким образом, на основе SNP-анализа 76 штаммов *V. cholerae* Эль Тор показано, что они разделились на три обособленные филогенетические группы, различающиеся между собой по типу SXT-элемента и аллелю гена *ctxB*. Каждая из них также соответствовала трем волнам текущей пандемии холеры. Несмотря на принадлежность в целом всех штаммов из трех волн пандемии к одной филогенетической линии L2 [3], мы показали, что SNP-анализ токсигенных штаммов *V. cholerae* Эль Тор позволяет дифференцировать их на подгруппы, различающиеся между собой типом SXT-элемента с разным составом генов устойчивости к антибиотикам.

В заключение следует отметить, что у изученных штаммов выявили пять следующих типов SXT: ICEVchInd5, ICEVchBan9, ICEVchBan5, SXT^{TET} и ICEVchInd5ΔVRIII, – среди которых первые два, различающиеся набором генов множественной резистентности к антибиотикам, имели штаммы из России и Украины. В то же время анализ нуклеотидной последовательности SXT позволил выявить его большое геномное разнообразие в штаммах из эндемичных очагов холеры. Наряду с ICEVchInd5 и ICEVchBan9 в их хромосоме обнаружили присутствие еще трех типов SXT: ICEVchBan5, SXT^{TET} и ICEVchInd5ΔVRIII. Это означает, что в странах Азии и Африки циркулируют штаммы, имеющие более разнообразный набор генов устойчивости к лекарственным препаратам, чем в России. Заслуживает

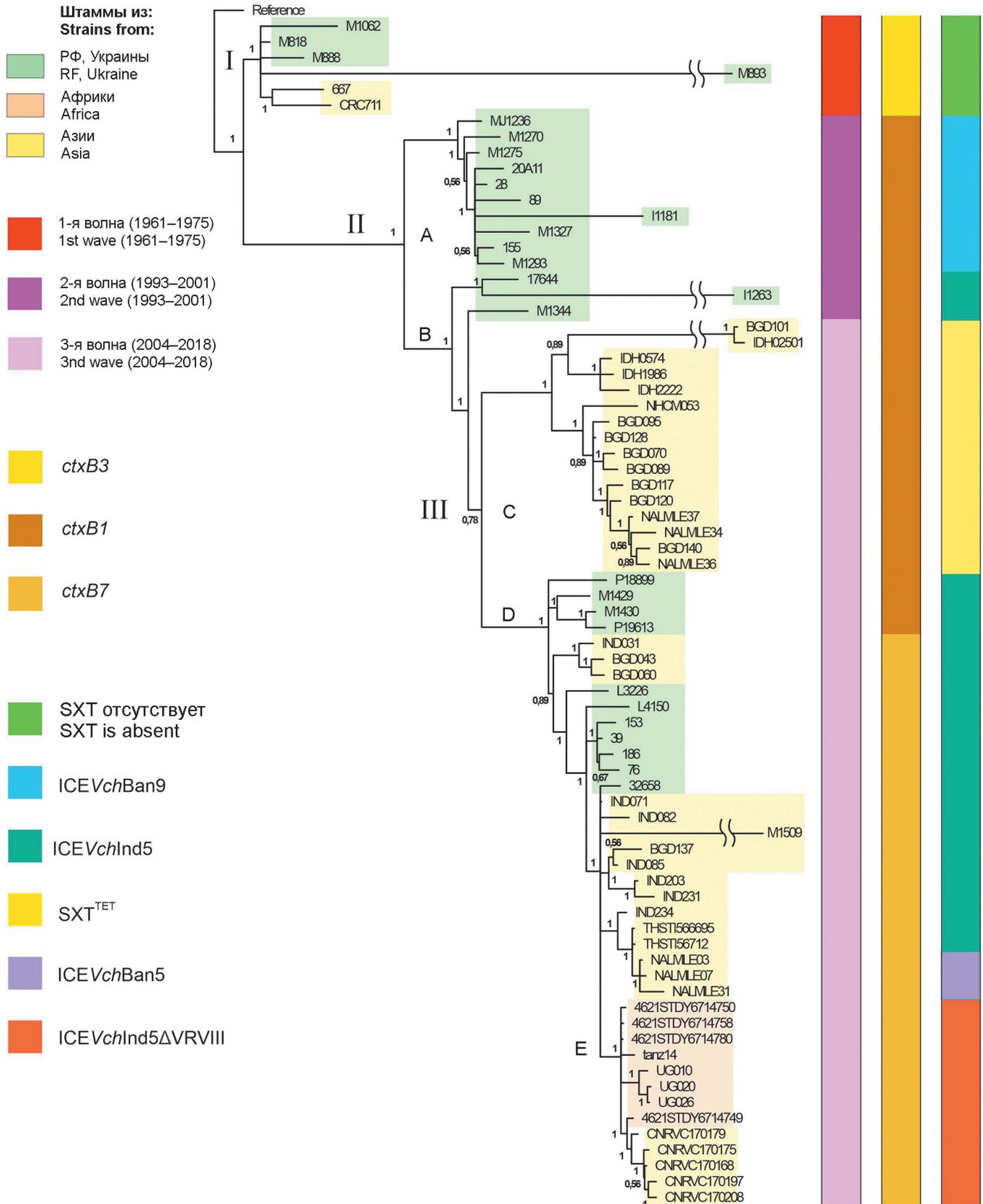


Рис. 3. Филогенетическое дерево клинических штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор с разными типами интегративного конъюгативного SXT-элемента, построенное на основе полногеномного SNP-анализа с использованием программного пакета Snippy v.4.6.0. Байесовский анализ выполнен с помощью программы MrBayes v.3.2.7, визуализация дендрограммы – программа FigTree v1.4.4

Fig. 3. Phylogenetic tree of clinical *V. cholerae* O1 El Tor strains with different types of integrative conjugative SXT element, built on the basis of genome-wide SNP analysis using the Snippy v.4.6.0 software package. Bayesian analysis was performed using the MrBayes v.3.2.7 program, visualization of the dendrogram – FigTree v1.4.4 software

внимания появление в Индии и Китае штаммов с SXT^{TE}, в VRIII которого произошла замена гена резистентности к хлорамфениколу (*floR*), традиционно присутствующего в геноме других типов SXT, на гены устойчивости к тетрациклину (*tetAR*). Кроме того, стоит отметить выделение в последнее десятилетие штаммов, несущих в VRIII *CEVchInd5* делецию четырех генов резистентности: *floR*, *strA*, *strB* и *sul2*.

На основе SNP-анализа выявлена тесная филогенетическая связь между штаммами с одинаковым типом SXT-элемента, изолированными в России и странах Азии, что служит подтверждением завоза возбудителя холеры в нашу страну из азиатских эндемичных очагов. Показанное присутствие в различных регионах Азии и Африки штаммов с новым типом SXT, не встречающимся в России и несущим ранее неизвестный состав генов резистентности, позволяет прогнозировать их появление на территории нашей страны в результате интенсивной мобильности населения. Эти данные свидетельствуют о необходимости постоянного мониторинга устойчивости штаммов к антибиотикам для выбора наиболее эффективных лекарственных средств при лечении холеры.

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

Список литературы

- Kaper J.B., Morris J.G., Levine M.M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–86. DOI: 10.1128/CMR.8.1.48.
- Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В., Левченко Д.А., Янович Е.Г., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Непомнящая Н.Б., Ежова М.И., Подойницына О.А. Характеристика эпидемиологической ситуации по холере в мире и в Российской Федерации в 2020 г. и прогноз на 2021 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 1:43–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-43-51.
- Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature.* 2011; 477:462–5. DOI: 10.1038/nature10392.
- Kitaoka M., Miyata S.T., Unterweger D., Pukatzki S. Antibiotic resistance mechanisms of *Vibrio cholerae*. *J. Med. Microbiol.* 2011; 60(Pt. 4):397–407. DOI: 10.1099/jmm.0.023051-0.
- Waldor M.K., Tschäpe H., Mekalanos J.J. A new type of conjugative transposon encodes resistance to sulfamethoxazole, trimethoprim, and streptomycin in *Vibrio cholerae* O139. *J. Bacteriol.* 1996; 178(14):4157–65. DOI: 10.1128/jb.178.14.4157-4165.1996.
- Hochhut B., Waldor M.K. Site-specific integration of the conjugal *Vibrio cholerae* SXT element into *prfC*. *Mol. Microbiol.* 1999; 32(1):99–110. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1999.01330.x.
- Смирнова Н.И., Заднова С.П., Агафонов Д.А., Шашкова А.В., Челдышова Н.Б., Черкасов А.В. Сравнительный молекулярно-генетический анализ мобильных элементов природных штаммов возбудителя холеры. *Генетика.* 2013; 49(9):1036–47. DOI: 10.7868/S0016675813090087.
- Pant A., Bag S., Saha B., Verma J., Kumar P., Banerjee S., Kumar B., Kumar Y., Desigamani A., Maiti S., Maiti T.K., Banerjee S.K., Bhadra R.K., Koley H., Dutta S., Nair G.B., Ramamurthy T., Das B. Molecular insights into the genome dynamics and interactions between core and acquired genomes of *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2020; 117(38):23762–73. DOI: 10.1073/pnas.2006283117.
- Beaber J.W., Hochhut B., Waldor M.K. Genomic and functional analyses of SXT, an integrating antibiotic resistance gene transfer element derived from *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2002; 184(15):4259–69. DOI: 10.1128/JB.184.15.4259-4269.2002.
- Spagnoletti M., Ceccarelli D., Rieux A., Fondi M., Taviani E., Fani R., Colombo M.M., Colwell R.R., Balloux F. Acquisition and evolution of SXT-R391 integrative conjugative elements in the seventh-pandemic *Vibrio cholerae* lineage. *mBio.* 2014; 5(4):e01356-14. DOI: 10.1128/mBio.01356-14.
- Wozniak R.A.F., Fouts D.E., Spagnoletti M., Colombo M.M., Ceccarelli D., Garriss G., Déry C., Burrus V., Waldor M.K. Comparative ICE genomics: insights into the evolution of the SXT/R391 family of ICEs. *PLoS Genet.* 2009; 5(12):e1000786. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000786.
- Burrus V., Quezada-Calvillo R., Marrero J., Waldor M.K. SXT-related integrating conjugative element in New World *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006; 72(4):3054–7. DOI: 10.1128/AEM.72.4.3054-3057.2006.
- Wang R., Yu D., Yue J., Kan B. Variations in SXT elements in epidemic *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains in China. *Sci. Rep.* 2016; 6:22733. DOI: 10.1038/srep22733.
- Подшивалова М.В., Кузютина Ю.А., Захарова И.Б., Лопастейская Я.А., Викторов Д.В. Характеристика антибиотикорезистентных штаммов *Vibrio cholerae*, несущих интегративные конъюгативные элементы SXT-типа. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2014; 19(3):34–9.
- Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Олейников И.П., Титова С.В. Распространенность ICE элементов различных типов у *V. cholerae*. *Здоровье населения и среда обитания.* 2018; 1:33–5.
- Gladkikh A.S., Feranchuk S.I., Ponomareva A.S., Bochalgin N.O., Mironova L.V. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae* El Tor strains isolated during cholera complications in Siberia and the Far East of Russia. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 78:104096. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.104096.
- Онищенко Г.Г., Беляев Е.Н., Москвитина Э.А., Резайкин В.И., Ломов Ю.М., Мединский Г.М. Холера в Дагестане: прошлое и настоящее. Ростов н/Д: Полиграф; 1995. 120 с.
- Миронова Л.В., Пономарева А.С., Хунхеева Ж.Ю., Gladkikh A.S., Балахонов С.В. Генетическое разнообразие *Vibrio cholerae* O1 El Tor при эпидемических осложнениях в Сибирском и Дальневосточном регионах. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2019; 37(4):165–72. DOI: 10.17116/molgen201937041165.
- Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Кругликов В.Д. Холера в начале XXI века. Прогноз на глобальном уровне. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2012; 1:11–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-1(11)-11-16.
- Sarkar A., Morita D., Ghosh A., Chowdhury G., Mukhopadhyay A.K., Okamoto K., Ramamurthy T. Altered integrative and conjugative elements (ICEs) in recent *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2072. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02072.
- Baddam R., Sarker N., Ahmed D., Mazumder R., Abdullah A., Morshed R., Hussain A., Begum S., Shahrin L., Khan A.I., Islam M.S., Ahmed T., Alam M., Clemens J.D., Ahmed N. Genome dynamics of *Vibrio cholerae* isolates linked to seasonal outbreaks of Cholera in Dhaka, Bangladesh. *mBio.* 2020; 11(1):e03339-19. DOI: 10.1128/mBio.03339-19.
- Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., Almesbahi A.A., Naji M., Nasher S.S., Rakesh A., Assiri A.M., Sharma N.C., Kariuki S., Pourshafie M.R., Rauzier J., Abubakar A., Carter J.Y., Wamala J.F., Seguin C., Bouchier C., Malliavin T., Bakshi B., Abulmaali H.H.N., Kumar D., Njoroge S.M., Malik M.R., Kiiru J., Luquero F.J., Azman A.S., Ramamurthy T., Thomson N.R., Quilici M.L. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature.* 2019; 565:230–233. DOI: 10.1038/s41586-018-0818-3.
- Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., Tarr C., Rauzier J., Fawal N., Keddy K.H., Salje H., Moore S., Mukhopadhyay A.K., Bercion R., Luquero F.J., Ngandjio A., Dosso M., Monakhova E., Garin B., Bouchier C., Pazzani C., Mutreja A., Grunow R., Sidikou F., Bonte L., Breurec S., Damian M., Njanpop-Lafourcade B.M., Sapriel G., Page A.L., Hamze M., Henkens M., Chowdhury G., Mengel M., Koeck J.L., Fournier J.M., Dougan G., Grimont P.A.D., Parkhill J., Holt K.E., Piarroux R., Ramamurthy T., Quilici M.L., Thomson N.R. Genomic history of the seventh pandemic of cholera in Africa. *Science.* 2017; 358:785–89. DOI: 10.1126/science.aad5901.

References

- Kaper J.B., Morris J.G., Levine M.M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8(1):48–86. DOI: 10.1128/CMR.8.1.48.
- Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Monakhova E.V., Levchenko D.A., Yanovich E.G., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Nepomnyashchaya N.B., Ezhova M.I., Podoinitsyna O.A. [Characteristics of the epidemiological situation on cholera in the world and in the Russian Federation in 2020 and forecast for 2021]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2021; (1):43–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-43-51.
- Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens

- J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477:462–5. DOI: 10.1038/nature10392.
4. Kitaoka M., Miyata S.T., Unterweger D., Pukatzki S. Antibiotic resistance mechanisms of *Vibrio cholerae*. *J. Med. Microbiol.* 2011; 60(Pt. 4):397–407. DOI: 10.1099/jmm.0.023051-0.
5. Waldor M.K., Tschäpe H., Mekalanos J.J. A new type of conjugative transposon encodes resistance to sulfamethoxazole, trimethoprim, and streptomycin in *Vibrio cholerae* O139. *J. Bacteriol.* 1996; 178(14):4157–65. DOI: 10.1128/jb.178.14.4157-4165.1996.
6. Hochhut B., Waldor M.K. Site-specific integration of the conjugal *Vibrio cholerae* SXT element into prfC. *Mol. Microbiol.* 1999; 32(1):99–110. DOI: 10.1046/j.1365-2958.1999.01330.x.
7. Smirnova N.I., Zadnova S.P., Agafonov D.A., Shashkova A.V., Cheldyshova N.B., Cherkasov A.V. [Comparative molecular-genetic analysis of mobile elements in natural strains of cholera agent]. *Genetika [Russian Journal of Genetics]*. 2013; 49(9):1036–47. DOI: 10.7868/S0016675813090087.
8. Pant A., Bag S., Saha B., Verma J., Kumar P., Banerjee S., Kumar B., Kumar Y., Desigamani A., Maiti S., Maiti T.K., Banerjee S.K., Bhadra R.K., Koley H., Dutta S., Nair G.B., Ramamurthy T., Das B. Molecular insights into the genome dynamics and interactions between core and acquired genomes of *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2020; 117(38):23762–73. DOI: 10.1073/pnas.2006283117.
9. Beaber J.W., Hochhut B., Waldor M.K. Genomic and functional analyses of SXT, an integrating antibiotic resistance gene transfer element derived from *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2002; 184(15):4259–69. DOI: 10.1128/JB.184.15.4259-4269.2002.
10. Spagnoletti M., Ceccarelli D., Rieux A., Fondi M., Taviani E., Fani R., Colombo M.M., Colwell R.R., Balloux F. Acquisition and evolution of SXT-R391 integrative conjugative elements in the seventh-pandemic *Vibrio cholerae* lineage. *mBio*. 2014; 5(4):e01356-14. DOI: 10.1128/mBio.01356-14.
11. Wozniak R.A.F., Fouts D.E., Spagnoletti M., Colombo M.M., Ceccarelli D., Garriss G., Déry C., Burrus V., Waldor M.K. Comparative ICE genomics: insights into the evolution of the SXT/R391 family of ICEs. *PLoS Genet.* 2009; 5(12):e1000786. DOI: 10.1371/journal.pgen.1000786.
12. Burrus V., Quezada-Calvillo R., Marrero J., Waldor M.K. SXT-related integrating conjugative element in New World *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006; 72(4):3054–7. DOI: 10.1128/AEM.72.4.3054-3057.2006.
13. Wang R., Yu D., Yue J., Kan B. Variations in SXT elements in epidemic *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains in China. *Sci. Rep.* 2016; 6:22733. DOI: 10.1038/srep22733.
14. Podshivalova M.V., Kuzyutina Yu.A., Zakharova I.B., Lopasteyskaya Ya.A., Viktorov D.V. [Characteristics of antibiotic resistant strains of *Vibrio cholerae* carrying SXT type integrative conjugative elements]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2014; 19(3):34–9.
15. Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S., Oleynikov I.P., Titova S.V. [Prevalence of ICE elements of different types in *V. cholerae*]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2018; (1):33–5.
16. Gladkikh A.S., Feranchuk S.I., Ponomareva A.S., Bochalgin N.O., Mironova L.V. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae* El Tor strains isolated during cholera complications in Siberia and the Far East of Russia. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 78:104096. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.104096.
17. Onishchenko G.G., Belyaev E.N., Moskvitina E.A., Rezaikin V.I., Lomov Yu.M., Medinsky G.M. Cholera in Dagestan: Past and Present. Rostov-on-Don: “Polygraph”; 1995. 120 p.
18. Mironova L.V., Ponomareva A.S., Khunkheeva Zh.Yu. [Genetic diversity of *Vibrio cholerae* O1 El Tor during epidemic complications in Siberian and the Far Eastern regions]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics Microbiology and Virology]*. 2019; 37(4):165–72. DOI: 10.17116/molgen201937041165.
19. Moskvitina E.A., Mazrukho A.B., Adamenko O.L., Kruglikov V.D. [Cholera in the early XXI century: global prognosis]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; (1):11–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-1(111)-11-16.
20. Sarkar A., Morita D., Ghosh A., Chowdhury G., Mukhopadhyay A.K., Okamoto K., Ramamurthy T. Altered integrative and conjugative elements (ICEs) in recent *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2072. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02072.
21. Baddam R., Sarker N., Ahmed D., Mazumder R., Abdullah A., Morshed R., Hussain A., Begum S., Shahrin L., Khan A.I., Islam M.S., Ahmed T., Alam M., Clemens J.D., Ahmed N. Genome dynamics of *Vibrio cholerae* isolates linked to seasonal outbreaks of Cholera in Dhaka, Bangladesh. *mBio*. 2020; 11(1):e03339-19. DOI: 10.1128/mBio.03339-19.
22. Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., Almesbahi A.A., Naji M., Nasher S.S., Rakesh A., Assiri A.M., Sharma N.C., Kariuki S., Pourshafie M.R., Rauzier J., Abubakar A., Carter J.Y., Wamala J.F., Seguin C., Bouchier C., Malliavin T., Bakhshi B., Abulmaali H.H.N., Kumar D., Njoroge S.M., Malik M.R., Kiiru J., Luquero F.J., Azman A.S., Ramamurthy T., Thomson N.R., Quilici M.L. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature*. 2019; 565:230–233. DOI: 10.1038/s41586-018-0818-3.
23. Weill F.X., Domman D., Njamkepo E., Tarr C., Rauzier J., Fawal N., Keddy K.H., Salje H., Moore S., Mukhopadhyay A.K., Bercion R., Luquero F.J., Ngandjio A., Dosso M., Monakhova E., Garin B., Bouchier C., Pazzani C., Mutreja A., Grunow R., Sidikou F., Bonte L., Breurec S., Damian M., Njanpop-Lafourcade B.M., Sapriel G., Page A.L., Hamze M., Henkens M., Chowdhury G., Mengel M., Koeck J.L., Fournier J.M., Dougan G., Grimont P.A.D., Parkhill J., Holt K.E., Piarroux R., Ramamurthy T., Quilici M.L., Thomson N.R. Genomic history of the seventh pandemic of cholera in Africa. *Science*. 2017; 358:785–89. DOI: 10.1126/science.aad5901.

Authors:

Rybal'chenko D.A., Shchelkanova E.Yu., Lozovsky Yu.V., Fedorov A.V., Smirnova N.I. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Рыбалыченко Д.А., Щелканова Е.Ю., Лозовский Ю.В., Федоров А.В., Смирнова Н.И. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-148-155

УДК 616.98:578.834.1

А.В. Шиповалов, Г.А. Кудров, А.А. Томилов, С.А. Боднев, Н.Д. Болдырев, А.С. Овчинникова,
А.В. Зайковская, О.С. Таранов, О.В. Пьянков, Р.А. Максютлов

ИЗУЧЕНИЕ ВОСПРИИМЧИВОСТИ ЛИНИЙ МЫШЕЙ К ВЫЗЫВАЮЩИМ ОБЕСПОКОЕННОСТЬ ВАРИАНТАМ ВИРУСА SARS-CoV-2

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

Целью работы явилось изучение восприимчивости мышей разных линий к вновь возникающим вариантам вируса SARS-CoV-2. **Материалы и методы.** В работе использовали штаммы вируса SARS-CoV-2, относящиеся к вызывающим беспокойство (VOC) вариантам, циркулирующим на территории РФ. Эксперименты проводили на трех инбредных линиях мышей (BALB/c, CBA и C57Bl/6z) и аутбредных мышках CD1, полученных из питомника ГНЦ ВБ «Вектор». Инфекционный титр коронавируса в образцах тканей, полученных от лабораторных животных, определяли на культуре клеток Vero E6. Дополнительным параметром контроля вирусной нагрузки в пробах считали пороговое значение Ct в ОТ-ПЦР. Тяжесть поражения тканей легких оценивали по гистологическим препаратам. **Результаты и обсуждение.** Изучена восприимчивость различных линий мышей к генетическому варианту бета вируса SARS-CoV-2. При интраназальном заражении мышей инбредных линий и аутбредных мышей штаммами вариантов VOC в дозе $2 \cdot 10^3$ ЦПД₅₀ показано размножение вируса в легких с максимальными значениями концентраций через 72 часа после заражения. Исследована патогенность генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 для мышей линии BALB/c, определена 50 % инфицирующая доза при интраназальном заражении (ИД₅₀), гистологический анализ показал специфические для COVID-19 поражения тканей легкого инфицированных животных. Наше исследование подтверждает, что мыши линии BALB/c могут использоваться в качестве модельного животного в скрининговых исследованиях при оценке эффективности терапевтических препаратов и вакцин, изучении патогенеза, вызванного вариантами вируса SARS-CoV-2: альфа (B.1.1.7), бета (B.1.351), гамма (P.1), омикрон (B.1.1.529) и им подобными.

Ключевые слова: COVID-19, вирус SARS-CoV-2, вызывающие беспокойство варианты (VOC), 50 % инфицирующая доза, интраназальное заражение, модельное животное, мыши BALB/c.

Корреспондирующий автор: Шиповалов Андрей Владимирович, e-mail: shipovalov_av@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Томилов А.А., Боднев С.А., Болдырев Н.Д., Овчинникова А.С., Зайковская А.В., Таранов О.С., Пьянков О.В., Максютлов Р.А. Изучение восприимчивости линий мышей к вызывающим беспокойство вариантам вируса SARS-CoV-2. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 1:148–155. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-148-155

Поступила 02.02.2022. Принята к публ. 14.03.2022.

A.V. Shipovalov, G.A. Kudrov, A.A. Tomilov, S.A. Bodnev, N.D. Boldyrev, A.S. Ovchinnikova,
A.V. Zaikovskaya, O.S. Taranov, O.V. P'yankov, R.A. Maksyutov

Susceptibility to SARS-CoV-2 Virus Variants of Concern in Mouse Models

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

Abstract. The aim of the research was to assess the susceptibility of mice of different lines to newly emerging variants of SARS-CoV-2. **Materials and methods.** The SARS-CoV-2 virus strains belonging to variants of concern (VOC) circulating in the territory of the Russian Federation were used in the study. Experiments involved three inbred mouse lines (BALB/c, CBA and C57Bl/6z) and CD1 outbred mice taken from the nursery of the SSC VB "Vector" of the Rospotrebnadzor. The infectious titer of coronavirus in tissue samples obtained from the laboratory animals was determined on a Vero E6 cell culture. The (Ct) threshold value in RT-PCR was considered an additional parameter for monitoring the viral load in the samples. The severity of lung tissue damage was assessed using histological preparations. **Results and discussion.** The susceptibility of various mouse lines to the genetic variant Beta of the SARS-CoV-2 virus has been investigated. During intranasal infection of the inbred and outbred mice with strains of VOC at a dose of $2 \cdot 10^3$ TCID₅₀, the virus replicated in the lungs with maximum concentrations 72 hours after infection. The pathogenicity of genetic variants of the SARS-CoV-2 virus for BALB/c mice has been assessed, a 50 % infectious dose for intranasal infection (ID₅₀) determined. Histological analysis showed COVID-19-specific lung tissue lesions in infected animals. Our study proves that BALB/c mice can be used as a model animal in screening studies when evaluating the effectiveness of therapeutic, vaccine preparations and studying the pathogenesis caused by VOC of the SARS-CoV-2 virus: Alpha (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P.1), Omicron (B.1.1.529) and the like.

Key words: COVID-19, SARS-CoV-2, variants of concern (VOC), 50 % infectious dose, intranasal infection, model animal, BALB/c mice.

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

Corresponding author: Andrey V. Shipovalov, e-mail: shipovalov_av@vector.nsc.ru.

Citation: Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Tomilov A.A., Bodnev S.A., Boldyrev N.D., Ovchinnikova A.S., Zaikovskaya A.V., Taranov O.S., P'yankov O.V., Maksyutov R.A. Susceptibility to SARS-CoV-2 Virus Variants of Concern in Mouse Models. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 1:148–155. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-148-155

Received 02.02.2022. Accepted 14.03.2022.

Shipovalov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1201-8307>
Kudrov G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8251-7040>
Tomilov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5311-9783>
Bodnev S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0599-3817>
Boldyrev N.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8854-0287>

Ovchinnikova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1745-7643>
Zaikovskaya A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0450-5212>
Taranov O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6746-8092>
P'yankov O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3340-8750>
Maksyutov R.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2577-0434>

С момента выявления первых случаев инфицирования человеческим коронавирусом в г. Ухань (Китай) в 2019 г. (hCoV-19) [1] Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) контролирует у вновь выявляемых вариантов изменения в геноме, способные привести к появлению новых нежелательных для здравоохранения свойств [2].

С конца 2020 г. стали поступать сообщения о появлении новых эпидемически значимых вариантов вируса SARS-CoV-2 в различных точках мира [3]. Представляющие опасность для всех возрастных групп, отличающиеся повышенной трансмиссивностью и вызывающие тяжелые формы заболевания генетические линии коронавируса получили название вариантов, вызывающих обеспокоенность (variant of concern, VOC). В октябре 2020 г. впервые идентифицированы варианты В.1.1.7 (альфа) в Великобритании и В.1.351 (бета) в Южной Африке, в январе 2021 г. в Бразилии выявлен вариант P.1 (гамма) [4] и в апреле 2021 г. в Индии – вариант В.1.617.2 (дельта) [5]. В данных генетических вариантах выявлены множественные изменения (делеции и замены) в S-белке по сравнению с референс-вариантом.

Наибольшую значимость имеют аминокислотные замены в рецептор-связывающем домене (RBD) S-белка. В вариантах альфа, бета и гамма выявлены мутации E484K, N501Y и D614G, увеличивающие сродство RBD к клеточному рецептору, которым является ангиотензинпревращающий фермент 2 (ACE2) [6], что подтверждает увеличение трансмиссивности указанных генетических вариантов вируса SARS-CoV-2. В связи с данными аминокислотными заменами в RBD возникла вероятность снижения связывающей активности нейтрализующих антител, приобретенных как после заболевания, вызванного более ранним вариантом SARS-CoV-2, так и после вакцинации [7]. В то же время отсутствие значимых мутаций в положении E484K и N501Y, даже при наличии D614G в генетическом варианте дельта, приводит к снижению инфекционности [5].

Мышиная лабораторная модель является основной для скрининговых исследований эффективности терапевтических средств и вакцинных препаратов против большого числа вирусных инфекций. Первый зарегистрированный вариант В вируса SARS-CoV-2 не инфицирует линии мышей дикого типа и инбредных мышей из-за отсутствия аффинности S-белка и мышиного ACE2 [8]. Учитывая повышение патогенности новых вариантов, несущих аминокислотные замены E484K, N501Y и D614G, а также появление схожей мутации N501Y при длительном пассировании вируса SARS-CoV-2 на мышах [9, 10], не исключена вероятность естественного перехода вируса на мышей. В связи с этим существует необходимость

исследования патогенности новых генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 с мутациями E484K, N501Y и D614G на мышах.

Появление и быстрое распространение генетического варианта вируса SARS-CoV-2 В.1.1.529 (омикрон), имеющего более 30 мутаций в S-белке, вызвало предположения о возможной смене и/или вовлечении в эпидемический процесс нового хозяина [11]. Данные математического моделирования показали возможность S-белка более активно связываться с мышиным ангиотензинпревращающим рецептором (mACE2) [12]. Наличие аминокислотных замен E484A, N501Y и D614G в RBD S-белка нового варианта подтверждает ранее выдвинутую гипотезу об усилении восприимчивости мышей к новым вариантам вируса SARS-CoV-2 с этими мутациями [13].

В данной работе мы провели исследование восприимчивости инбредных линий (BALB/c, CBA и C57Bl/6z) и аутбредных CD1 мышей к вирусу SARS-CoV-2 на примере VOC бета, имеющего набор значимых аминокислотных замен поверхностного антигена, изучили патогенность различных генетических вариантов для мышей BALB/c как наиболее чувствительных к коронавирусу.

Материалы и методы

Вирусы. В работе использовали штаммы вируса SARS-CoV-2, относящиеся к вызывающим обеспокоенность вариантам, циркулирующим на территории РФ. Данные штаммы получены из Государственной коллекции микроорганизмов ГНЦ ВБ «Вектор». В качестве референсного использовали штамм hCoV-19/Australia/VIC01/2020 генетического варианта В вируса SARS-CoV-2, полученный из Victorian Infectious Diseases Reference Laboratory (Мельбурн, Австралия). В табл. 1 приведены данные по принадлежности использованных в исследовании штаммов коронавируса к генетическим линиям и вариантам, вызывающим обеспокоенность, ID их нуклеотидных последовательностей в базе данных GISAID (<https://www.gisaid.org>), указаны мутации в RBD S-белка, ответственные за увеличение патогенности.

Использованные в работе генетические варианты SARS-CoV-2 выделены в культуре клеток Vero E6, аликвоты вируса из одной наработки (стока) были заморожены и хранились при температуре минус 70 °С. Титр стока составлял не менее 10⁶ ЦПД₅₀/мл. В каждом эксперименте использовали новую аликвоту из одного стока.

Культуры клеток. В работе использовали линию клеток Vero E6, полученную из коллекции культур клеток ГНЦ ВБ «Вектор». Выращивание монокультур клеток Vero E6 осуществляли в среде DMEM

Перечень используемых в экспериментах штаммов вируса SARS-CoV-2

List of SARS-CoV-2 virus strains used in the experiments

Штамм Strain	GISAID	Lineage	VOC	Мутации Mutations
hCoV-19/Australia/VIC01/2020	EPI_ISL_406844	B	Wuhan	Референс Reference
hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020	EPI_ISL_6565012	B.1.1.7	Alpha	N501Y D614G
hCoV-19/Russia/MOS-SAB-1502/2021	EPI_ISL_6492245	B.1.351	Beta	E484K N501Y D614G
hCoV-19/Russia/SA-17620-080521/2021	EPI_ISL_6565014	P.1	Gamma	E484K N501Y D614G
hCoV-19/Russia/MOS-2406/2021	EPI_ISL_7338789	B.1.617.2	Delta	D614G
hCoV-19/Russia/Moscow171619-031221/2021	EPI_ISL_8920444	B.1.1.529	Omicron	E484A N501Y D614G

(Gibco, США) с добавлением 10 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, США) и комплексного антибиотика (Gibco, США). В качестве поддерживающей среды при культивировании вируса использовали ту же среду, но с 2 % эмбриональной сыворотки.

Животные. В экспериментах использовали мышей инбредных линий (BALB/c, CBA и C57Bl/6z) и аутбредных мышей CD1. В работе использовали самцов и самок с массой тела 18–20 г.

Мыши всех линий получены из Питомника лабораторных животных ГНЦ ВБ «Вектор». Акклиматизация к условиям эксперимента проведена в течение семи дней. После заражения мышей содержали в садках с HEPA-фильтром системы индивидуального содержания. Во время экспериментов температура в клетке поддерживалась от 22 до 24 °C, а относительная влажность воздуха – 40–55 %. Животные получали стандартный рацион с достаточным количеством воды.

Все эксперименты на животных были одобрены Биоэтическим комитетом Центра и проводились в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

Исследование восприимчивости линий мышей к SARS-CoV-2. Использовали шесть групп животных, по 12 мышей линий C57Bl/6z, BALB/c, CBA и CD1 в каждой. Заражение производили интраназальной инокуляцией вируса в объеме 20 мкл, дозой 3,3 lg ТЦПД₅₀, под инъекционным внутримышечным наркозом Zoletil 100 (Virbac, Франция) из расчета 40 мг/кг. После инокуляции животные рассаживались по четыре особи одной линии в садки с системой индивидуальной вентиляции. Через 72, 120 и 168 часов после заражения (часов ПЗ) по четыре особи каждой линии подвергали эвтаназии методом трансцервикальной дислокации, производили вскрытие с забором тканей носовых ходов и легких

для определения содержания РНК методом ОТ-ПЦР и концентрации инфекционного вируса методом титрования на культуре клеток Vero E6. Из тканей носовых ходов и легких подготавливали 10 % гомогенаты на 1 мл среды DMEM, после производили отбор аликвот от каждого образца для ПЦР-анализа и титрования живого вируса на культуре клеток. Затем гомогенаты подвергали немедленной заморозке и хранению при температуре минус 70 °C.

Определение патогенности по ИД₅₀ генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 на мышах линии BALB/c. Животные линии BALB/c были разделены на четыре группы по 12 голов из расчета одна группа на одно 10-кратное разведение вируса. Заражение производили интраназальной инокуляцией вируса в объеме 20 мкл, серийными 10-кратными разведениями рабочих стоков вирусов, под внутримышечным наркозом Zoletil 100 (Virbac, Франция) из расчета 40 мг/кг. Группы по шесть животных на каждую дозу заражения помещались в садки с системой индивидуальной вентиляции. Через 72 часа ПЗ все животные подвергались эвтаназии методом трансцервикальной дислокации. Забор органов для определения вирусной нагрузки в тканях носовой полости и легких и гистологической оценки патологических изменений проводили в соответствии с правилами асептики.

Для определения титров вируса в легких 50 мг легочной ткани сначала гомогенизировали с помощью шариковой мельницы (Analytical Jena, Германия), затем осветляли путем центрифугирования при 10000 об/мин с использованием ротора SW28 (Beckman Coulter, High Wycombe, Великобритания), готовили последовательные 10-кратные разведения и титр вируса определяли по методу Рида – Менча в ЦПД₅₀/мл [14].

Определение РНК вируса SARS-CoV-2 в биологических образцах методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени. Для выделения РНК использовали набор «РИБО-преп» («АмплиСенс», Россия). Синтез

кДНК из выделенной РНК проводили реагентами для реакции обратной транскрипции «Реверта-L» (ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Набор реагентов «Вектор-ПЦРРВ-COVID19-RG» (ГНЦ ВБ «Вектор», Россия) использовали для амплификации фрагментов кДНК вируса SARS-CoV-2. Результаты исследования интерпретировали в соответствии с инструкцией производителя.

Определение инфекционного титра вируса SARS-CoV-2 в биологических образцах на перевиваемой культуре клеток Vero E6. Клетки Vero E6 высевали за 24 часа до заражения в 96-луночные планшеты с посевной дозой $1,5 \cdot 10^4$ клетки/луночка. В день эксперимента были сделаны последовательные 10-кратные разведения вируса в среде DMEM (Gibco, США) с добавлением 2 % эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота (HyClone, США) и комплексного антибиотика (Gibco, США), в общей сложности от шести до восьми лунок были заражены каждым разведением вируса. После 72-часовой инкубации клетки фиксировали 4 % раствором забуференного формалина с последующим окрашиванием 0,1 % кристаллическим фиолетовым. Специфическое поражение монослоя культуры клеток в лунке учитывали как цитопатическое действие (ЦПД). Расчет титра вируса проводили по формуле Рида – Менча и выражали в \lg ЦПД₅₀/мл.

Гистологические исследования. Забор органов от инфицированных животных осуществляли через 120 часов ПЗ. Образцы фиксировали в 10 % растворе забуференного формалина («Биовитрум», Россия) для гистологических исследований в течение 48 часов. Обработку материала проводили по общепринятой методике: последовательное обезживание в этиловом спирте возрастающей концентрации, пропитывание в смеси ксилол+парафин и заливка в парафиновые блоки. Парафиновые срезы толщиной 4–5 мкм готовили с помощью автоматического ротационного микротомы HM-360 (Германия). Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Светооптическое исследование и микрофото съемку проводили на микроскопе AxioImager Z1 (Zeiss, Германия) с использованием программного пакета AxioVision 4.8.2 этого же производителя. Оценку

распространенности и степени выраженности патологических проявлений инфекции проводили при анализе сканов серийных срезов, полученных на цифровом сканере микропрепаратов Olympus SlideView VS200 (Olympus, Германия; программный пакет VS200ASW 3.2).

Статистическую обработку результатов проводили программой Statistica v13.0.

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследована восприимчивость мышинных линий C57Bl/6z, BALB/c, CBA и CD1 к варианту SARS-CoV-2, изучена способность вируса вызывать патологические изменения в тканях верхних и нижних дыхательных путей мыши, схожие с таковыми у человека. Для заражения использован VOC бета, как имеющий обе аминокислотные замены E484K и N501Y в RBD S-белка, которые, по прогностической оценке, усиливали рецепторную специфичность вируса к мышинному рецептору ACE2.

Восприимчивость исследуемых линий мышей к варианту бета оценивали по наличию инфекционного вируса в тканях носовой полости и/или легких инфицированных мышей. Полученные результаты приведены в графическом виде на рис. 1.

Анализ полученных результатов (рис. 1) показывает, что все используемые в исследовании линии мышей восприимчивы к инфекции, вызываемой вариантом бета вируса SARS-CoV-2, содержащим аминокислотные замены E484K и N501Y. Наибольшие значения вирусной нагрузки в тканях носовой полости и легких мышей всех линий зафиксированы через 72 часа ПЗ. При сравнении инфекционного титра среди разных линий можно отметить, что у мышей линии BALB/c зарегистрированы наибольшие значения $3,0 \lg$ ЦПД₅₀/мл и $3,5 \lg$ ЦПД₅₀/мл для носовой полости и легких инфицированных мышей соответственно. У других трех линий мышей инфекционный титр имеет примерно одинаковые значения в тканях носовой полости и легких. Через 120 часов ПЗ инфекционный титр гомогенатов органов мышей линий C57Bl/6z и CD1 был на уровне предела обнаружения ($\leq 0,5 \lg$ ЦПД₅₀/мл). В этот же период наблюдения

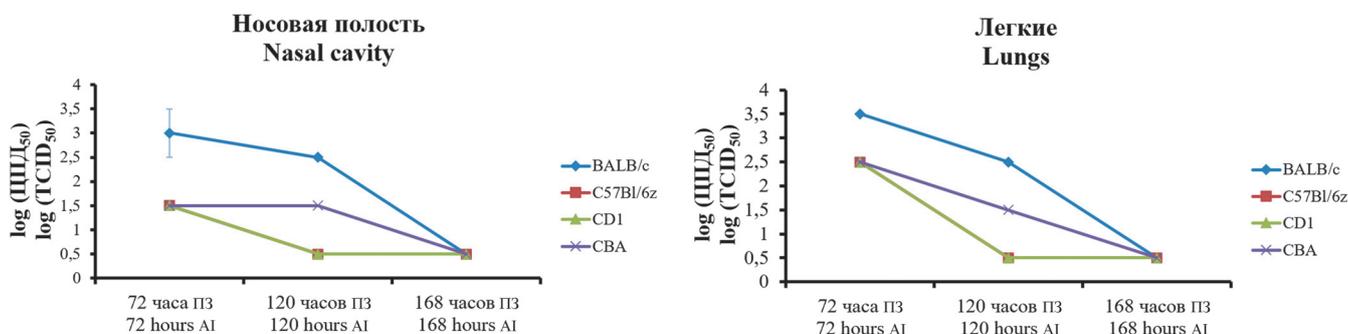


Рис. 1. Вирусная нагрузка в гомогенатах тканей носовой полости и легких по результатам титрования на культуре клеток Vero E6 в разные периоды наблюдения после заражения вариантом бета вируса SARS-CoV-2 (ПЗ – после заражения)

Fig. 1. Viral load in the homogenates of nasal cavity and lung tissues according to the results of titration on Vero E6 cell culture at different stages of observation after infection with Beta variant of the SARS-CoV-2 virus (AI – after infection)

вирусная нагрузка для мышей BALB/c и СВА имела средние значения 2,5 lg ЦПД₅₀/мл и 1,5 lg ЦПД₅₀/мл для носовой полости и 2,5 lg ЦПД₅₀/мл и 1,5 lg ЦПД₅₀/мл для легких мышей соответственно. Через 168 часов ПЗ инфекционный вирус не обнаруживался в тканях носовой полости и легких мышей.

Из четырех исследованных линий на восприимчивость к вирусу SARS-CoV-2 при интраназальном заражении наибольшая вирусная нагрузка в тканях носовой полости и легких была определена для мышей BALB/c, что указывает на их чувствительность к VOC бета. Поэтому для изучения патогенности нескольких генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 были использованы мыши этой линии.

Основной характеристикой патогенности возбудителя является значение 50 % инфицирующей дозы. Для определения параметра ИД₅₀ при интраназальном способе заражения мышей линии BALB/c использовали референс-штамм и пять генетических вариантов, имеющих значимые аминокислотные замены в S-белке. Результаты изучения патогенности различных инфицирующих доз для пяти VOC вируса SARS-CoV при интраназальном заражении представлены в табл. 2.

В табл. 3 приведены значения 50 % инфицирующих доз (ИД₅₀) вариантов VOC SARS-CoV-2 для интраназально зараженных мышей линии BALB/c, определенные по наличию вируса в тканях носовой

полости и/или легких мышей (варианты дельта и референс-штамм hCoV-19/Australia/VIC01/2020 (Ухань) не патогенны для мышей при интраназальном заражении).

Другим показателем патогенности вируса SARS-CoV-2 является тяжесть поражения тканей легкого инфицированного животного. Для изучения патоморфологических изменений использовали мышей линии BALB/c, зараженных серией десятикратных разведений вируса SARS-CoV-2 варианта VOC бета, с последующей гистологической оценкой препаратов. В результате исследования выявили ряд патологических изменений: дистелектаз, диффузные кровоизлияния, единичные лимфоцитарные инфильтраты.

При анализе гистологических препаратов наблюдалась прямая зависимость площади кровоизлияний от вирусной нагрузки, что подтверждает взаимосвязь данных изменений с патологическим действием генетического варианта бета на легкие мышей линии BALB/c. Степень распространенности геморрагического синдрома коррелировала с инфицирующей дозой вируса. Снижение площади дистелектаза обусловлено увеличением площади геморрагий.

Такой признак воспаления, как клеточная инфильтрация, был слабо выражен. Клеточная инфильтрация бронха и стенок сосудов находилась в прямой

Таблица 2 / Table 2

Патогенность генетических вариантов вируса SARS-CoV-2 для мышей линии BALB/c при интраназальном заражении различными дозами вариантов вируса SARS-CoV-2

Pathogenicity of genetic variants of the SARS-CoV-2 virus for BALB/c mice in case of intranasal infection with different doses of SARS-CoV-2 virus variants

Генетические варианты Genetic variants		Ухань Wuhan		Альфа Alpha		Бета Beta		Гамма Gamma		Дельта Delta		Омикрон Omicron	
Титр стока (ЦПД ₅₀ /мл) Titer of a virus stock (TCID ₅₀ /ml)		5,6 lg		5,9 lg		5,6 lg		5,4 lg		3,8 lg		3,95 lg	
Разведение Dilution	Параметр Parameter	носовые ходы nasal passages	легкие lungs										
-4	Ct*	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0
	Тинф** Tinf	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5
-3	Ct	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0
	Тинф Tinf	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5
-2	Ct	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	30,18±11,5	26,90±9,7	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0	40,00±0
	Тинф Tinf	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	1,5±0,0	2,5±0,0	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5
-1	Ct	40,00±0	40,00±0	31,88±6,6	31,41±1,2	22,99±3,3	22,38±1,4	22,23±2,7	30,73±7,4	40,00±0	40,00±0	32,97±2,69	39,67±0,8
	Тинф Tinf	≤0,5	≤0,5	1,5±0,0	1,5±0,0	3,0±0,5	3,0±0,5	3,0±0,5	1,5±0,0	≤0,5	≤0,5	1,5±0,0	≤0,5

Примечания: *Ct – cycle threshold. При значении Ct>40,00 РНК в пробе отсутствует. **Тинф – инфекционный титр (lg ЦПД₅₀/мл). Предел обнаружения инфекционного вируса в пробах путем титрования на культуре клеток Vero E6 ≤0,5 lg ЦПД₅₀/мл.

Note: *Ct – cycle threshold. If Ct>40.00, there is no RNA in the sample. **Tinf – Infectious titer (lg TCID₅₀/ml). The limit of detection of an infectious virus in samples by titration on Vero E6 cell culture ≤0,5 lg TCID₅₀/ml.

Таблица 3 / Table 3

50 % инфицирующая доза (ИД₅₀) вариантов вируса SARS-CoV-2, определенная для интраназально зараженных мышей линии BALB/c
 50 % infectious dose (ID₅₀) of SARS-CoV-2 virus variants determined for intranasally infected BALB/c mice

Штамм/вариант вируса SARS-CoV-2 Strain/variant of SARS-CoV-2 virus	Альфа Alpha	Бета Beta	Гамма Gamma	Омикрон Omicron
50 % инфицирующая доза (ИД ₅₀), ЦПД ₅₀ , p≤0,05 50 % infectious dose (ID ₅₀), TCID ₅₀ , p≤0,05	1529±2	199±1,6	47,5±1,8	14,1±1,6

зависимости с дозой заражения. Инфильтрация стенки альвеол имела место, но без видимой взаимосвязи с инфицирующей дозой. В виде единичных находок также определялись сладж эритроцитов в сосудах и периваскулярный отек. На рис. 2 представлены примеры патологических изменений, выявленных в тканях легкого мышей линии BALB/c, зараженных вариантом бета вируса SARS-CoV-2, в зависимости от инфицирующей дозы.

Основным морфологическим проявлением COVID-19 в легких человека является диффузное альвеолярное повреждение тканей легких в сочетании с вовлечением в патологический процесс сосудистого русла и альвеолярно-геморрагическим синдромом [15]. Выявление подобных признаков протекания заболевания у мышей, зараженных вирусом SARS-CoV-2, говорит об адекватности выбранной животной модели для изучения возбудителя новой коронавирусной инфекции. Среди патологических изменений в легких мышей преобладал при-

знак геморрагии, что нетипично для других животных моделей (хомяк и приматы), применяемых при моделировании заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, где преимущественно выявлялся признак лимфоцитарной инфильтрации.

В нашем исследовании четыре VOC вируса SARS-CoV-2 показали патогенность для мышей. Кроме того, отмечено, что для линии BALB/c исследованные генетические варианты наиболее патогенны. Межвидовой переход без предварительной адаптации новых генетических вариантов, по всей видимости, может быть обусловлен заменами E484K и/или N501Y в RBD S-белка, которые присутствуют в исследованных нами вариантах альфа, бета, гамма и омикрон. Отсутствие этих замен в референтштамме линии B и варианте дельта обуславливает невосприимчивость мышей всех изученных в данной работе линий.

Следует отметить, что математическое моделирование [12], предполагавшее увеличение сродства

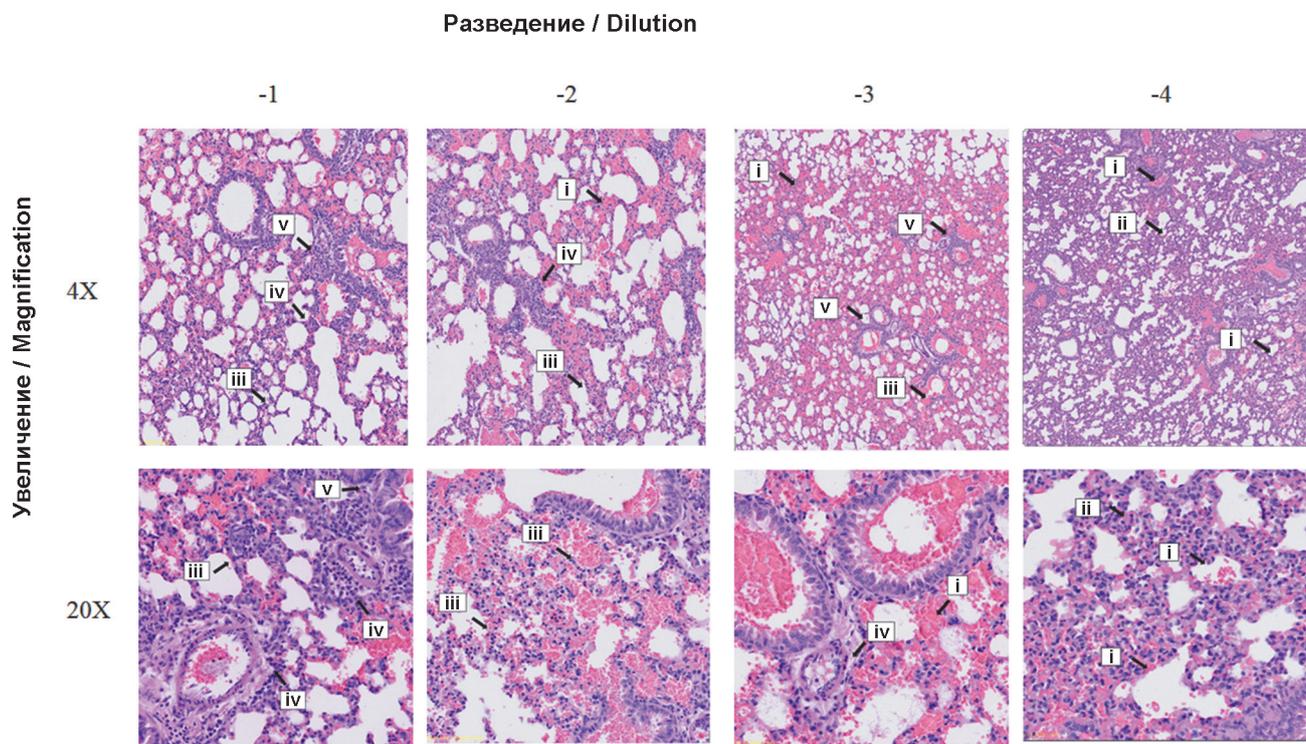


Рис. 2. Гистологические срезы легких мышей BALB/c, зараженных вирусом SARS-CoV-2 (вариант бета). Окраска – гематоксилин и эозин. Стрелки указывают: (i) кровоизлияние, (ii) дистелектаз, (iii) инфильтрация стенки альвеол, (iv) инфильтрация стенки сосудов, (v) инфильтрация стенки бронхов. Горизонтальная ось: 10-кратное разведение при заражении. Вертикальная ось: кратность увеличения

Fig. 2. Histological sections of the lungs of BALB/c mice infected with SARS-CoV-2 virus (variant Beta). Staining – hematoxylin and eosin. Arrows indicate: (i) hemorrhage, (ii) distelectasis, (iii) infiltration of the alveolar wall, (iv) infiltration of the vascular wall, (v) infiltration of the bronchial wall. Horizontal axis: 10x dilution during infection. Vertical axis: magnification multiplicity

RBD S-белка варианта омикрон к мышинному рецептору ACE2, подтверждается полученным нами значением $ID_{50}=(14,1\pm 1,6)$ ЦПД₅₀ для мышей инбредной линии BALB/c.

Полученные результаты свидетельствуют, что мыши линии BALB/c могут использоваться в качестве модельного животного в скрининговых исследованиях при оценке эффективности терапевтических, вакцинных препаратов и изучении патогенеза инфекции, вызванной вариантами VOC вируса SARS-CoV-2: альфа (B.1.1.7), бета (B.1.351), гамма (P.1), омикрон (B.1.1.529) и им подобными.

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

Список литературы

1. Wu D., Wu T., Liu Q., Yang Z. The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 94:44–8. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.004.
2. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/ru> (дата обращения 06.03.2022).
3. Фактологический бюллетень – SARS-CoV-2, вариант, вызывающий обеспокоенность (VOC). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.euro.who.int/ru/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/publications-and-technical-guidance/2021/factsheet-sars-cov-2-variant-of-concern-voc,-february-2021-produced-by-who/europe> (дата обращения 06.03.2022).
4. Zhou D., Dejnirattisai W., Supasa P., Liu C., Mentzer A.J., Ginn H.M., Zhao Y., Duyvesteyn H.M.E., Tuekprakhon A., Nutalai R., Wang B., Paesen G.C., Lopez-Camacho C., Slon-Campos J., Hallis B., Coombes N., Bewley K.R., Charlton S., Walter T.S., Skelly D., Lumley S.F., Dold C., Levin R., Dong T., Pollard A.J., Knight J.C., Crook D., Lambe T., Clutterbuck E., Bibi S., Flaxman A., Bittaye M., Belij-Rammerstorfer S., Gilbert S., James W., Carroll M.W., Klennerman P., Barnes E., Dunachie S.J., Fry E.E., Mongkolsapaya J., Ren J., Stuart D.I., Srean G.R. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell*. 2021; 184(9):2348–61. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.037.
5. Investigation of SARS-CoV-2 variants of concern: technical briefings. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.gov.uk/government/publications/investigation-of-novel-sars-cov-2-variant-variant-of-concern-20201201> (дата обращения 06.03.2022).
6. Supasa P., Zhou D., Dejnirattisai W., Liu C., Mentzer A.J., Ginn H.M., Zhao Y., Duyvesteyn H.M.E., Nutalai R., Tuekprakhon A., Wang B., Paesen G.C., Lopez-Camacho C., Slon-Campos J., Hallis B., Coombes N., Bewley K.R., Charlton S., Walter T.S., Barnes E., Dunachie S.J., Skelly D., Lumley S.F., Baker N., Shaik I., Humphries H.E., Godwin K., Gent N., Sienkiewicz A., Dold C., Levin R., Dong T., Pollard A.J., Knight J.C., Klennerman P., Crook D., Lambe T., Clutterbuck E., Bibi S., Flaxman A., Bittaye M., Belij-Rammerstorfer S., Gilbert S., Hall D.R., Williams M.A., Paterson N.G., James W., Carroll M.W., Fry E.E., Mongkolsapaya J., Ren J., Stuart D.I., Srean G.R. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant by convalescent and vaccine sera. *Cell*. 2021; 184(8):2201–11.e7. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.033.
7. Li Q., Nie J., Wu J., Zhang L., Ding R., Wang H., Zhang Y., Li T., Liu S., Zhang M., Zhao C., Liu H., Nie L., Qin H., Wang M., Lu Q., Li X., Liu J., Liang H., Shi Y., Shen Y., Xie L., Zhang L., Qu X., Xu W., Huang W., Wang Y. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell*. 2021; 184(9):2362–71.e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.
8. Boudewijns R., Thibaut H.J., Kaptein S.J.F., Li R., Vergote V., Seldeslachts L., De Keyser C., Bervoets L., Sharma S., Van Weyenberg J., Liesenborghs L., Ma J., Jansen S., Van Looveren D., Verduyze T., Jochmans D., Wang X., Martens E., Roose K., De Vlioger D., Schepens B., Van Buyten T., Jacobs S., Liu Y., Marti-Carreras J., Vanmechelen B., Wawina-Bokalanga T., Delang L., Rocha-Pereira J., Coelmont L., Chiu W., Leyssen P., Heylen E., Schols D., Wang L., Close L., Matthijssens J., Van Ranst M., Compennolle V., Schramm G., Van Laere K., Saelens X., Callewaert N., Opdenakker G., Maes P., Weynand B., Cawthorne C., Velde G.V., Wang Z., Neyts J., Dallmeier K. STAT2 signaling as double-edged sword restricting viral dissemination but driving severe pneumonia in SARS-CoV-2 infected hamsters. *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.23.056838.
9. Gu H., Chen Q., Yang G., He L., Fan H., Deng Y.Q., Wang Y., Teng Y., Zhao Z., Cui Y., Li Y., Li X.F., Li J., Zhang N.N., Yang X.,

Chen S., Guo Y., Zhao G., Wang X., Luo D.Y., Wang H., Yang X., Li Y., Han G., He Y., Zhou X., Geng S., Sheng X., Jiang S., Sun S., Qin C.F., Zhou Y. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science*. 2020; 369(6511):1603–7. DOI: 10.1126/science.abc4730.

10. Rathnasinghe R., Jangra S., Cupic A., Martínez-Romero C., Mulder L.C.F., Kehrler T., Yildiz S., Choi A., Mena I., De Vriese J., Aslam S., Stadlbauer D., Meekins D.A., McDowell C.D., Balaraman V., Richt J.A., De Geest B.G., Miorin L., Krammer F., Simon V., Garcia-Sastre A., Schotsaert M. The N501Y mutation in SARS-CoV-2 spike leads to morbidity in obese and aged mice and is neutralized by convalescent and post-vaccination human sera. *medRxiv*. 2021; 2021.01.19.21249592. DOI: 10.1101/2021.01.19.21249592.

11. Diamond M., Halfmann P., Maemura T., Iwatsuki-Horimoto K., Iida S., Kiso M., Scheaffer S., Darling T., Joshi A., Loeber S., Foster S., Ying B., Whitener B., Floyd K., Ujie M., Nakajima N., Ito M., Wright R., Uraki R., Li R., Sakai Y., Liu Y., Larson D., Osorio J., Hernandez-Ortiz J., Ciudodis K., Florek K., Patel M., Bateman A., Odle A., Wong L.Y., Wang Z., Edara V.V., Chong Z., Thackray L., Ueki H., Yamayoshi S., Imai M., Perlman S., Webby R., Seder R., Suthar M., Garcia-Sastre A., Schotsaert M., Suzuki T., Boon A., Kawaoka Y., Douek D., Molliva J., Sullivan N., Gagne M., Ransier A., Case J., Jeevan T., Franks J., Fabrizio T., DeBeauchamp J., Kercher L., Seiler P., Singh G., Warang P., Gonzalez-Reiche A.S., Sordillo E., van Bakel H., Simon V. The SARS-CoV-2 B.1.1.529 Omicron virus causes attenuated infection and disease in mice and hamsters. *Res Sq*. 2021; rs.3.rs-1211792. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1211792/v1.

12. Wei C., Shan K.J., Wang W., Zhang S., Huan Q., Qian W. Evidence for a mouse origin of the SARS-CoV-2 Omicron variant. *J. Genet. Genomics*. 2021; 48(12):1111–21. DOI: 10.1016/j.jgg.2021.12.003.

13. Li Q., Nie J., Wu J., Zhang L., Ding R., Wang H., Zhang Y., Li T., Liu S., Zhang M., Zhao C., Liu H., Nie L., Qin H., Wang M., Lu Q., Li X., Liu J., Liang H., Shi Y., Shen Y., Xie L., Zhang L., Qu X., Xu W., Huang W., Wang Y. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell*. 2021; 184(9):2362–71.e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.

14. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938; 27(3):493–7. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.

15. Зайратьянц О.В., редактор. Патологическая анатомия COVID-19. Атлас. М.: ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ»; 2020. 140 с.

References

1. Wu D., Wu T., Liu Q., Yang Z. The SARS-CoV-2 outbreak: what we know. *Int. J. Infect. Dis.* 2020; 94:44–8. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.03.004.
2. World Health Organization (WHO). (Cited 06 Mar 2022). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/ru>.
3. Fact sheet – SARS-CoV-2, variant of concern (VOC). (Cited 06 Mar 2022). [Internet]. Available from: <https://www.euro.who.int/ru/health-topics/health-emergencies/coronavirus-covid-19/publications-and-technical-guidance/2021/factsheet-sars-cov-2-variant-of-concern-voc,-february-2021-produced-by-who/europe>.
4. Zhou D., Dejnirattisai W., Supasa P., Liu C., Mentzer A.J., Ginn H.M., Zhao Y., Duyvesteyn H.M.E., Tuekprakhon A., Nutalai R., Wang B., Paesen G.C., Lopez-Camacho C., Slon-Campos J., Hallis B., Coombes N., Bewley K.R., Charlton S., Walter T.S., Skelly D., Lumley S.F., Dold C., Levin R., Dong T., Pollard A.J., Knight J.C., Crook D., Lambe T., Clutterbuck E., Bibi S., Flaxman A., Bittaye M., Belij-Rammerstorfer S., Gilbert S., James W., Carroll M.W., Klennerman P., Barnes E., Dunachie S.J., Fry E.E., Mongkolsapaya J., Ren J., Stuart D.I., Srean G.R. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B.1.351 from natural and vaccine-induced sera. *Cell*. 2021; 184(9):2348–61. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.037.
5. Investigation of SARS-CoV-2 variants of concern: technical briefings. (Cited 06 Mar 2022). [Internet]. Available from: <https://www.gov.uk/government/publications/investigation-of-novel-sars-cov-2-variant-variant-of-concern-20201201>.
6. Supasa P., Zhou D., Dejnirattisai W., Liu C., Mentzer A.J., Ginn H.M., Zhao Y., Duyvesteyn H.M.E., Nutalai R., Tuekprakhon A., Wang B., Paesen G.C., Slon-Campos J., Lopez-Camacho C., Hallis B., Coombes N., Bewley K.R., Charlton S., Walter T.S., Barnes E., Dunachie S.J., Skelly D., Lumley S.F., Baker N., Shaik I., Humphries H.E., Godwin K., Gent N., Sienkiewicz A., Dold C., Levin R., Dong T., Pollard A.J., Knight J.C., Klennerman P., Crook D., Lambe T., Clutterbuck E., Bibi S., Flaxman A., Bittaye M., Belij-Rammerstorfer S., Gilbert S., Hall D.R., Williams M.A., Paterson N.G., James W., Carroll M.W., Fry E.E., Mongkolsapaya J., Ren J., Stuart D.I., Srean G.R. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant by convalescent and vaccine sera. *Cell*. 2021; 184(8):2201–11.e7. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.033.
7. Li Q., Nie J., Wu J., Zhang L., Ding R., Wang H., Zhang Y., Li T., Liu S., Zhang M., Zhao C., Liu H., Nie L., Qin H., Wang M., Lu Q., Li X., Liu J., Liang H., Shi Y., Shen Y., Xie L., Zhang L., Qu X., Xu W., Huang W., Wang Y. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell*. 2021; 184(9):2362–71.e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.
8. Boudewijns R., Thibaut H.J., Kaptein S.J.F., Li R., Vergote V., Seldeslachts L., De Keyser C., Bervoets L., Sharma S., Van Weyenberg J., Liesenborghs L., Ma J., Jansen S., Van Looveren D., Verduyze T., Jochmans D., Wang X., Martens E., Roose K., De Vlioger D., Schepens B., Van Buyten T., Jacobs S., Liu Y., Marti-Carreras J., Vanmechelen B., Wawina-Bokalanga T., Delang L., Rocha-Pereira J., Coelmont L., Chiu W., Leyssen P., Heylen E., Schols D., Wang L., Close L., Matthijssens J., Van Ranst M., Compennolle V., Schramm G., Van Laere K., Saelens X., Callewaert N., Opdenakker G., Maes P., Weynand B., Cawthorne C., Velde G.V., Wang Z., Neyts J., Dallmeier K. STAT2 signaling as double-edged sword restricting viral dissemination but driving severe pneumonia in SARS-CoV-2 infected hamsters. *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.23.056838.
9. Gu H., Chen Q., Yang G., He L., Fan H., Deng Y.Q., Wang Y., Teng Y., Zhao Z., Cui Y., Li Y., Li X.F., Li J., Zhang N.N., Yang X.,

ants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell*. 2021; 184(9):2362–71. e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.

8. Boudewijns R., Thibaut H.J., Kaptein S.J.F., Li R., Vergote V., Seldeslachts L., De Keyser C., Bervoets L., Sharma S., Van Weyenbergh J., Liesenborghs L., Ma J., Jansen S., Van Looveren D., Vercruyse T., Jochmans D., Wang X., Martens E., Roose K., De Vliëger D., Schepens B., Van Buyten T., Jacobs S., Liu Y., Marti-Carreras J., Vanmechelen B., Wawina-Bokalanga T., Delang L., Rocha-Pereira J., Coelmont L., Chiu W., Leyssen P., Heylen E., Schols D., Wang L., Close L., Matthijnsens J., Van Ranst M., Compennolle V., Schramm G., Van Laere K., Saelens X., Callewaert N., Opendakker G., Maes P., Weynand B., Cawthorne C., Velde G.V., Wang Z., Neyts J., Dallmeier K. STAT2 signaling as double-edged sword restricting viral dissemination but driving severe pneumonia in SARS-CoV-2 infected hamsters. *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.23.056838.

9. Gu H., Chen Q., Yang G., He L., Fan H., Deng Y.Q., Wang Y., Teng Y., Zhao Z., Cui Y., Li Y., Li X.F., Li J., Zhang N.N., Yang X., Chen S., Guo Y., Zhao G., Wang X., Luo D.Y., Wang H., Yang X., Li Y., Han G., He Y., Zhou X., Geng S., Sheng X., Jiang S., Sun S., Qin C.F., Zhou Y. Adaptation of SARS-CoV-2 in BALB/c mice for testing vaccine efficacy. *Science*. 2020; 369(6511):1603–7. DOI: 10.1126/science.abc4730.

10. Rathnasinghe R., Janra S., Cupic A., Martínez-Romero C., Mulder L.C.F., Kehrer T., Yildiz S., Choi A., Mena I., De Vrieze J., Aslam S., Stadlbauer D., Meekins D.A., McDowell C.D., Balaraman V., Richt J.A., De Geest B.G., Miorin L., Krammer F., Simon V., Garcia-Sastre A., Schotsaert M. The N501Y mutation in SARS-CoV-2 spike leads to morbidity in obese and aged mice and is neutralized by convalescent and post-vaccination human sera. *medRxiv*. 2021; 2021.01.19.21249592. DOI: 10.1101/2021.01.19.21249592.

11. Diamond M., Halfmann P., Maemura T., Iwatsuki-Horimoto K., Iida S., Kiso M., Scheaffer S., Darling T., Joshi A., Loeber S., Foster S., Ying B., Whitener B., Floyd K., Ujje M., Nakajima N., Ito M., Wright R., Uraki R., Li R., Sakai Y., Liu Y., Larson D., Osorio J., Hernandez-Ortiz J., Ciuoderis K., Florek K., Patel M., Bateman A., Odle A., Wong L.Y., Wang Z., Edara V.V., Chong Z., Thackray L., Ueki H., Yamayoshi S., Imai M., Perlman S., Webby R., Seder

R., Suthar M., Garcia-Sastre A., Schotsaert M., Suzuki T., Boon A., Kawaoka Y., Douek D., Moliva J., Sullivan N., Gagne M., Ransier A., Case J., Jeevan T., Franks J., Fabrizio T., DeBeauchamp J., Kercher L., Seiler P., Singh G., Warang P., Gonzalez-Reiche A.S., Sordillo E., van Bakel H., Simon V. The SARS-CoV-2 B.1.1.529 Omicron virus causes attenuated infection and disease in mice and hamsters. *Res Sq*. 2021; rs.3.rs-1211792. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1211792/v1.

12. Wei C., Shan K. J., Wang W., Zhang S., Huan Q., Qian W. Evidence for a mouse origin of the SARS-CoV-2 Omicron variant. *J. Genet. Genomics*. 2021; 48(12):1111–21. DOI: 10.1016/j.jgg.2021.12.003.

13. Li Q., Nie J., Wu J., Zhang L., Ding R., Wang H., Zhang Y., Li T., Liu S., Zhang M., Zhao C., Liu H., Nie L., Qin H., Wang M., Lu Q., Li X., Liu J., Liang H., Shi Y., Shen Y., Xie L., Zhang L., Qu X., Xu W., Huang W., Wang Y. SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. *Cell*. 2021; 184(9):2362–71. e9. DOI: 10.1016/j.cell.2021.02.042.

14. Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am. J. Hyg.* 1938; 27(3):493–7. DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a118408.

15. Zayrat'yants O.V., editor. [Pathological Anatomy of COVID-19. Atlas]. Moscow; 2020. 140 p.

Authors:

Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Tomilov A.A., Bodnev S.A., Boldyrev N.D., Ovchinnikova A.S., Zaikovskaya A.V., Taranov O.S., Pyankov O.V., Maksyutov R.A. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Томилов А.А., Боднев С.А., Болдырев Н.Д., Овчинникова А.С., Зайковская А.В., Таранов О.С., Пьянков О.В., Максютлов Р.А. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

А.Н. Куличенко, Т.В. Таран, Д.А. Ковалев, О.В. Малецкая, С.А. Курчева, Н.Ф. Василенко

К 70-ЛЕТИЮ
СТАВРОПОЛЬСКОГО НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПРОТИВОЧУМНОГО ИНСТИТУТА:
ОРГАНИЗАЦИЯ, СТАНОВЛЕНИЕ, ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ

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

1 января 2022 г. Ставропольскому научно-исследовательскому противочумному институту исполнилось 70 лет.

Целенаправленное изучение природы возбудителя чумы в регионе Северного Кавказа началось с организации специализированных противочумных учреждений в виде подвижных и стационарных противочумных лабораторий. Первая такая лаборатория создана в 1925 г. при Ставропольском химико-бактериологическом институте. В 1934 г. начала функционировать Ставропольская противочумная станция (ПЧС), непосредственное участие в ее организации принимали директор Ставропольского химбакинститута И.С. Эрлих и руководитель краевого отдела здравоохранения в г. Пятигорске В.Н. Тер-Вартанов. Одновременно со Ставропольской противочумной станцией на юге России такие же учреждения были организованы в Новороссийске, Баку, Тбилиси, Ереване, Махачкале и Нальчике. Всем этим противочумным учреждениям Ставропольская ПЧС оказывала постоянную научно-практическую и организационно-методическую помощь. С 1937 по 1952 год станцией руководил В.Н. Тер-Вартанов. В годы Великой Отечественной войны многие сотрудники ПЧС были мобилизованы в ряды Красной армии, но в марте 1942 г. решением правительства были отозваны из армии для проведения противозидемических мероприятий в тылу. Вместе с тем перед специалистами Ставропольской ПЧС была поставлена задача по участию в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения в республиках Закавказья. Во время оккупации территории Северного Кавказа основные кадры и большая часть лабораторного имущества противочумных учреждений региона были эвакуированы в Гурьевскую область Казахской ССР. Здесь специалисты Ставропольской ПЧС совместно с Гурьевской ПЧС проводили весь необходимый комплекс противозидемических работ по ликвидации вспышек чумы, холеры, туляремии и борьбе с грызунами – переносчиками возбудителей инфекций.

К началу 1950-х гг. было достаточно хорошо известно о существовании лишь одного природного очага чумы – Прикаспийского. По поводу остальной территории Кавказа строились лишь весьма необоснованные предположения. Кроме того, стояла проблема других местных инфекций, таких как туляремия, бруцеллез, сибирская язва, холера, решить которую без специализированного научного учреждения, владеющего комплексными методами исследований, не представлялось возможным. В связи с этим в 1952 г. в Ставрополе на базе Ставропольской ПЧС организован Научно-исследовательский противочумный институт Кавказа и Закавказья.

Создание института существенно активизировало научные исследования. Было открыто восемь неизвестных ранее природных очагов чумы, которые детально изучили, и проблема борьбы с чумой людей на территории этих очагов поставлена на научную основу. Основоположник развития эпидемиологических направлений научных исследований института – Владимир Николаевич Фёдоров, имя которого стоит одним из первых в ряду отечественных исследователей чумы, разработавших основные положения теории эпидемиологии этой инфекции и практики предупредительных мероприятий. Основные закономерности эпидемиологии чумы сформулированы В.Н. Фёдоровым в изданном впервые в противочумной практике руководстве «Профилактика чумы» (1955 г.), в котором он предложил эпидемиологическую классификацию клинических форм чумы, объединив их в две группы (бубонная и легочная чума).

В 40-х гг. XX в. И.Г. Иоффом создана и постоянно пополняется крупнейшая коллекция блох. Она насчитывает свыше 3 млн экземпляров 917 видов этого отряда насекомых, собранных с территории России, других стран СНГ, государств Балтии, а также Афганистана, Болгарии, Великобритании, Германии, Ирака, Ирана, Турции, Канады, Словакии, США, Чехии и иных стран. Материалы коллекции блох легли в основу определителей блох млекопитающих и птиц Юго-Востока СССР, Кавказа, Средней Азии и Казахстана, Сибири и Дальнего Востока, Монголии. При коллекции в институте хранится самая полная в России научная библиотека по блохам, насчитывающая более 25 тыс. оттисков статей и 4 тыс. экземпляров книг. С коллекцией знакомились и работали иностранные коллеги из Великобритании, Новой Зеландии, Канады, Ирана, Индии, Китая и других стран. В настоящее время налажено тесное сотрудничество с сотрудниками Зоологического института РАН (Санкт-Петербург), Института цитологии СОРАН (Новосибирск), Университета Бен-Гуриона (Израиль).

В 1952 г. в Научно-исследовательском противочумном институте Кавказа и Закавказья организован экспериментальный вакцинно-сывороточный отдел, в 1958 г. реорганизованный в производственный, основной задачей которого стал выпуск противочумной вакцины и диагностических препаратов.

Ставропольский противочумный институт – единственный отечественный производитель живой вакцины против чумы. На сегодняшний день имеющиеся производственные мощности позволяют выпускать 5–6 млн подкожных доз в год, что полностью удовлетворяет потребности Российской Федерации. Совместно с сотрудниками ГИСК им. Л.А. Тарасевича разработаны и внедрены в

практику производства вакцины чумной живой национальной референс-препарат и отраслевой стандартный образец чумной вакцины ЕВ (ОСО 42-28-15-87 П). Чумная вакцина и референс-препарат экспонировались на ВДНХ СССР, последний удостоен бронзовой медали выставки.

В 2022 г. в рамках федерального проекта «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)» инициировано строительство нового производственного корпуса, направленное на модернизацию действующего производства чумной вакцины в соответствии со стандартами GMP. Кроме того, строительство объекта предполагает создание современной технологической базы для комплексного исследования вирусных патогенов, экспериментальной базы биомоделирования инфекционных процессов, включающей систему воспроизводства, содержания лабораторных животных. Использование современной научной инфраструктуры позволит оперативно решать задачи по разработке и экспериментальному производству новых средств для специфической профилактики инфекционных болезней. С учетом современных вызовов в области биологической безопасности в планируемом научно-производственном корпусе будут внедрены гибкие высокотехнологичные линии по производству вакцин, способные обеспечить выпуск актуальной номенклатуры препаратов в зависимости от государственных потребностей.

Научно-методические разработки биотехнологий медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП) для экспресс-диагностики особо опасных инфекционных заболеваний и детекции их возбудителей (чумы, туляремии, бруцеллеза, сибирской язвы, холеры) позволили зарегистрировать 13 МИБП, не имеющих аналогов в Российской Федерации и не уступающих по специфической активности импортным диагностическим препаратам. Диагностические препараты, производимые в институте, поставляются практически во все регионы Российской Федерации. Одним из приоритетных направлений института является разработка высокоэффективных магноиммуносорбентов.

В 1973 г. на базе института организован сотрудничающий с ВОЗ справочный Центр по чуме, выполнявший работу по оказанию помощи странам Азии, Африки, Южной Америки по различным аспектам проблемы чумы. Уже с первого года своего существования Центр по просьбе ВОЗ обеспечивает диагностическими препаратами и производимой институтом чумной вакциной разные регионы мира, где возникают эпидемические осложнения по чуме. Препараты в необходимом количестве неоднократно направлялись в Бирму, Вьетнам, Египет, Индию, Индонезию, Иран, Кению, Ливию, Мозамбик, Монголию, Танзанию, Уганду, Зимбабве, Китай.

Сегодня Центр по-прежнему занимается сбором и хранением эпидемиологических данных о чуме у человека и животных. На основе этой информации на протяжении ряда лет готовились обзоры по чуме в мире, публикуемые в еженедельнике *Weekly Epidemiological Record*. В ежегодных отчетах Центра, направляемых в штаб-квартиру ВОЗ, отражаются эпизоотическая обстановка по чуме в природных очагах Северного Кавказа и тактика эпидемиологического надзора в них. Важное место в работе Центра занимают вопросы подготовки кадров для зарубежных государств по вопросам профилактики чумы. На базе Центра прошли краткосрочную подготовку по различным вопросам борьбы с чумой стипендиаты ВОЗ из Бирмы, Монголии, Вьетнама, Египта, а также

специалисты различных служб здравоохранения Бирмы, Вьетнама, Индии, Ирана, Китая, Турции, Монголии, Танзании, Заира, которые знакомились с отдельными вопросами эпидемиологического надзора по чуме в нашей стране. Специалисты Центра ВОЗ по чуме поддерживают постоянный информационный контакт с Глобальной сетью по оповещению о вспышках болезней и ответным действиям (GOARN) и другими противоэпидемическими учреждениями, в результате которого происходит постоянный обмен последними данными об обстановке по чуме и другим опасным инфекциям в мире и на территории юга России, стран Закавказья. С 2014 г. и по настоящее время Центром проводится идентификация и характеристика штаммов *Yersinia pestis* с использованием методов VNTR, MLVA, DFR, CRISPR.

В институте активно разрабатываются новые методы мониторинга носителей возбудителя чумы, а также повышения эффективности заблаговременной профилактики: использование приборов глобального позиционирования на местности (GPS-навигация), технологий ГИС, спутниковых снимков земной поверхности в высоком разрешении, беспилотных летательных аппаратов для поиска, учета и картографирования поселений грызунов; организация заблаговременной профилактики; использование GPS-трекингов для исследования миграционной активности и подвижности грызунов.

На протяжении всей деятельности институт и подведомственные ему противочумные станции осуществляли наблюдение и изучение других опасных инфекций бактериальной и вирусной природы, широко распространенных на Кавказе и нередко проявляющих себя в форме вспышек заболевания людей.

В современный период приоритетными направлениями деятельности института являются: совершенствование мониторинга эпидемиологической обстановки по природно-очаговым инфекционным болезням на юге России; паспортизация природных очагов инфекционных болезней в регионе города-курорта Сочи и Республике Абхазия, оптимизация их эпизоотологического обследования; совершенствование эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекциями, актуальными для рекреационных зон юга России (черноморское побережье Краснодарского края и Кавказские Минеральные Воды); количественное прогнозирование активности природных очагов чумы на сопредельных территориях и оценка риска заноса чумы в Российскую Федерацию.

С 1953 г. институт осуществляет организационно-методическое руководство и оказывает практическую помощь по вопросам профилактики холеры на территории Ставропольского края. Для оперативной эпидемиологической оценки возбудителя холеры разработан и внедрен в практику метод ускоренного определения вирулентности и эпидемиологической значимости холерного вибриона Эль Тор. Специалистами института впервые в Российской Федерации (Республика Дагестан) среди клинических изолятов обнаружены генетически измененные (гибридные) варианты холерного вибриона Эль Тор, обусловившие эпидемические вспышки холеры в Дагестане в 1993, 1994 и 1998 гг.

Ведущие специалисты института неоднократно направлялись в качестве консультантов и непосредственных участников ликвидации вспышек чумы (Китай, 1938 г., 1995 г.; Монголия, 1990 г., 1996 г.) и холеры (Афганистан, 1961–1964 гг.; Пакистан, 1967 г.), для изучения природной очаговости чумы (Сирия, 1967 г.; Болгария, 1973–1978 гг.; Ливия, 1978–1982 гг.), выезжали по обмену опытом рабо-

ты в Иран, Чехословакию, США, Швецию, Голландию, Германию и другие государства.

В 1994 г. институт переименован в Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. В зоне его научно-методического руководства остались Дагестанская, Кабардино-Балкарская и Причерноморская противочумные станции, которые совместно осуществляют противэпидемические и профилактические мероприятия на территории Северного Кавказа.

По приказу Министерства здравоохранения Советского Союза на институт с 1980 г. возложены обязанности центра по идентификации штаммов сибирезвеного микроба, выделенных в европейской части СССР. В соответствии с приказами Минздрава России с 2005 г. Ставропольский противочумный институт является головным учреждением противочумной системы по проблеме сибирской язвы. С 2008 г. на базе института функционирует Референс-центр по мониторингу за возбудителем сибирской язвы. С 1980 по 2021 год в лабораторию для идентификации поступило 1389 штаммов из различных регионов страны. Около 500 наиболее интересных штаммов, в том числе и атипичных, находятся в коллекции патогенных микроорганизмов института. За период функционирования Референс-центра с 2008 по 2021 год подготовлены проекты более 40 нормативных, методических, информационных документов и разделов документов по вопросам эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики и профилактики сибирской язвы. С использованием ГИС-технологий созданы кадастры стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов для ряда субъектов Российской Федерации. Сотрудниками Референс-центра продолжается комплексная работа по ранжированию территорий Российской Федерации по степени эпизоотолого-эпидемиологического неблагополучия и риска осложнения ситуации с целью совершенствования системы профилактических мероприятий, направленных на снижение потенциального риска заражения сибирской язвой животных и людей.

С момента организации в 2008 г. на базе института Референс-центра по мониторингу за возбудителем бруцеллеза специалистами ежегодно проводится подробный анализ и обобщение эпизоотической и эпидемической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации с изданием информационного бюллетеня. Сотрудники Референс-центра активно осваивают и интегрируют в деятельность современные диагностические и научно-исследовательские технологии: проточная цитофлуориметрия, иммуногистохимия, MALDI-TOF масс-спектрометрия, методы секвенирования нуклеиновых кислот нового поколения, ГИС-технологии, методы молекулярного типирования бруцелл с использованием протоколов BO3 (AMOS-DEL, Bruce-Ladder, Suis-Ladder и др.), VNTR, INDEL, MLST, полногеномного SNP-типирования, анализа протеома бруцелл с использованием двумерного электрофореза. За период функционирования Референс-центра в период с 2008 по 2022 год подготовлены проекты более 40 нормативных и информационно-методических документов Роспотребнадзора по эпидемиологическому надзору, лабораторной диагностике и профилактике бруцеллеза. Одним из важнейших научных направлений Референс-центра является разработка и внедрение в практику принципиально новых методических подходов для иммунодиагностики особо опасных инфекций и оценки специфического Т-клеточного иммунитета (бруцеллез, сибирская язва, чума), основанных на анализе клеточной антигенреактивности (КАСТ-тестов).

На базе института также функционирует Референс-центр по мониторингу за возбудителем Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ). Специалистами Ставропольского противочумного института и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ставропольском крае» ежегодно проводится эпизоотологический мониторинг за переносчиками вируса Конго-крымской геморрагической лихорадки (ККГЛ) в Ставропольском крае и анализ данных эпизоотологического мониторинга в субъектах РФ. Сотрудники Референс-центра оказывают консультативно-методическую и практическую помощь по проведению диагностических исследований полевого и клинического материала на КГЛ территориальным органам и учреждениям Роспотребнадзора в субъектах РФ, осуществляя в рамках деятельности Центра индикацию, идентификацию и изучение молекулярно-генетических свойств вируса ККГЛ. За период функционирования Референс-центра методически организованная и широко проводимая профилактическая работа, прежде всего в отношении информированности населения и подготовленности медицинских организаций к КГЛ, и широкий охват лабораторной диагностикой повлияли на эпидемиологическую характеристику болезни. Научные исследования на базе Референс-центра направлены на разработку методологии рационального использования современных геоинформационных технологий, моделирование эпидемического процесса и прогнозирование эпизоото-эпидемической ситуации, а также внедрение современных молекулярно-биологических методов для решения традиционных и вновь возникающих задач.

Богатый опыт работы по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения имеют специализированные противэпидемические бригады (СПЭБ) института. Специалисты СПЭБ работали в очагах холеры в 1965–1990 гг. в Узбекистане, Туркмении, Грузии (в Батуми, Тбилиси), на Украине, в Азербайджане, России (в Дагестане, Калмыкии, а также в Уфе и Ставрополе).

В 1988–1989 г. специалисты СПЭБ помогали народу Армении при ликвидации катастрофического землетрясения. Свидетельством высокой эффективности работы явилось отсутствие случаев заболевания опасными инфекционными болезнями среди населения в зоне землетрясения в частности и Республике Армения в целом. В 2015 г. в г. Спитаке установлен мемориал благодарной памяти от армянского народа за помощь при ликвидации последствий землетрясения 7 декабря 1988 г.

Особо следует отметить работу в Чеченской Республике во время военного конфликта, когда СПЭБ фактически взяла на себя функции выбывших из строя Чеченского республиканского, Грозненского городского и Грозненского сельского центров ГСЭН, и на ее базе происходило восстановление структур местной санитарно-эпидемиологической службы с постепенной поэтапной передачей ей отдельных видов работ. При исполнении служебных обязанностей 9 июня 2000 г. в г. Грозном погибли сотрудники института В.И. Таран, И.Н. Головачев, В.М. Радзиевский.

С 2007 г. проводилась поэтапная модернизация инфраструктуры СПЭБ института. Специалисты в составе СПЭБ были задействованы в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения в экстремальных условиях в период боевых действий в зоне грузино-югоосетинского конфликта (Республика Южная Осетия, 2008 г.), при подготовке и проведении XXII Олимпийских зимних игр и XI Паралимпийских



Сотрудники института на Всесоюзной научно-практической конференции по бруцеллезу (Алма-Ата, 1978 г.). Слева направо: В.А. Проскурина, И.Ф. Таран, П.А. Вершилова



Сотрудники лаборатории медицинской зоологии 1987–1988 гг. В нижнем ряду слева направо: Л.И. Мосалева, А.И. Дятлов, М.П. Тарасов



Сотрудники СПЭБ института, участвующие в противоэпидемическом обеспечении населения после землетрясения в Армении (Ленинакан, 1989 г.)



Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г.Г. Онищенко и директор института А.Н. Куличенко в Республике Южная Осетия (Цхинвал, 13 августа 2008 г.)



Зимняя Олимпиада 2014 г. в Сочи. Начальник СПЭБ Д.В. Ефременко докладывает руководителю Роспотребнадзора А.Ю. Поповой о проделанной работе



Заместитель начальника Управления эпидемиологического надзора Роспотребнадзора Ю.В. Демина и заведующая лабораторией сибирской язвы А.Г. Рязанова на вспышке сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе (август 2016 г.)

зимних игр (Сочи, 2014 г.), Кубка конфедераций FIFA 2017, чемпионата мира по футболу – 2018, саммита Россия – Африка и многих других дипломатических и культурно-спортивных международных массовых мероприятий.

Специалистами института было оказано научно-практическое сопровождение на всех этапах ликвидации крупнейшей в современной истории России вспышки сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г. и в мероприятиях по борьбе с распространением COVID-19 на территории России и зарубежных стран.

Сложившаяся в 2020 г. напряженная эпидемиологическая обстановка, связанная с распространением в Российской Федерации новой коронавирусной инфекции COVID-19, потребовала организации беспрецедентных мер предотвращения эпидемиологических последствий в условиях объявленной пандемии. Специалисты СПЭБ в 2020–2021 гг. участвовали в организации и проведении лабораторной диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19 на базе ФКУЗ «Противочумный центр» (г. Москва), в Республике Дагестан (г. Махачкала), Сочи (на базе Сочинского противочумного отделения Причерноморской ПЧС), Новороссийске (на базе Причерноморской ПЧС), Владикавказе (на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Северная Осетия – Алания»). За высокий профессионализм и значительный личный вклад в осуществление мероприятий по противодействию распространению новой коронавирусной инфекции COVID-19 сотрудники института награждены орденом Пирогова, медалью Луки Крымского.

Институт регулярно оказывает консультативно-методическую и практическую помощь учреждениям санитарно-эпидемиологической службы и здравоохранения Южной Осетии, Абхазии, Армении, Киргизии и других стран.

На базе Ставропольского противочумного института функционируют Научно-методический центр по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II–IV групп патогенности для субъектов Южного и Северо-Кавказского федеральных округов, Центр индикации возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности и обеспечения противоэпидемической готовности для Республики Северная Осетия – Алания, Республики Ингушетия, Чеченской Республики и Ставропольского края.

В институте осуществляется подготовка кадров по работе с карантинными инфекциями. С 1955 по 1993 год Ставропольский противочумный институт был единственной в стране базой для проведения последиplomной подготовки врачей общей медицинской сети по гражданской обороне, противоэпидемическому обеспечению населения в чрезвычайных ситуациях, индикации особо опасных инфекций, а также санитарной охране территории. В 1970 и 1972 гг. на базе курсового отдела проводили специальные передвижные семинары ВОЗ по вопросам эпидемиологии, природной очаговости, лабораторной диагностики и профилактики чумы. На семинарах ВОЗ, на рабочих местах по стипендиям ВОЗ побывало 170 зарубежных специалистов из 28 стран мира. Профессиональную подготовку по особо опасным и природно-очаговым инфекциям на базе отдела специализации проходили врачи и биологи из Монголии и Китая. В 2017 и 2021 гг. по распоряжению Правительства РФ сотрудниками института проведены выездные курсы повышения квалификации для специалистов Министерства здравоохранения Республики Армения

на базе ГНКО «Национальный центр по контролю и профилактике заболеваний» Минздрава Республики Армения (г. Ереван). В 2021 г. в течение трех месяцев на базе института проходили первичную специализацию по зоологии специалисты из Киргизской Республики (распоряжение Правительства РФ). В целом только в XXI в. на курсах первичной специализации и повышения квалификации по особо опасным инфекциям подготовлено около 3 тыс. специалистов для регионов Российской Федерации и зарубежных стран.

В 2010 г. создан Научно-образовательный центр «Медико-биологических проблем», объединяющий усилия и ресурсы Ставропольского противочумного института и трех ведущих вузов региона: Ставропольского медицинского университета, Северо-Кавказского федерального университета и Ставропольского аграрного университета – в развитии научно-исследовательской, образовательной и технологической деятельности по актуальным направлениям в области медицины, биологии и биохимии. Научно-образовательный центр способствует целенаправленной подготовке будущих специалистов института, начиная с ориентации и привлечения студентов уже с первых курсов к научным исследованиям.

На протяжении 70 лет в стенах Ставропольского научно-исследовательского противочумного института бережно сохраняются богатые традиции, заложенные его организаторами и учеными с мировым именем, ведется подготовка высококвалифицированных специалистов в области биологической безопасности, успешно и оперативно решаются задачи по охране санитарно-эпидемиологического благополучия населения нашей страны. На сегодняшний день Ставропольский противочумный институт – один из ведущих в стране многопрофильных научно-исследовательских центров в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения по особо опасным инфекциям и защиты от биологических угроз. Коллектив института, возглавляемый доктором медицинских наук, профессором, членом-корреспондентом РАН А.Н. Куличенко, насчитывает более 300 сотрудников, в том числе 15 докторов, 56 кандидатов наук, 7 профессоров.

Перспективы развития научной и практической деятельности института связаны, в первую очередь, с созданием системы эпидемиолого-молекулярного анализа на основе геномного профилирования ПБА территорий, ГИС-технологий второго поколения и прогнозного моделирования; совершенствованием системы мониторинга и профилактики болезней, общих для человека и животных; разработкой новых методов иммунодиагностики особо опасных инфекций и оценки специфического Т-клеточного иммунитета, основанных на анализе клеточной антигенреактивности; совершенствованием технологии производства вакцины чумной живой и созданием универсальной производственной площадки для масштабирования производства вакцинных препаратов.

Authors:

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

Об авторах:

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

К ЮБИЛЕЮ СЕРГЕЯ ВЛАДИМИРОВИЧА БОРИСЕВИЧА

9 марта 2022 г. исполнилось 55 лет Сергею Владимировичу Борисевичу, профессору, доктору биологических наук, кандидату медицинских наук, члену-корреспонденту РАН, члену редакционного совета журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

С.В. Борисевич – известный ученый-вирусолог, один из ведущих специалистов нашей страны в области медицинской вирусологии, эпидемиологии и биологической безопасности. На протяжении всей своей профессиональной деятельности Сергей Владимирович занимается широким кругом проблем особо опасных вирусных инфекций: диагностикой, лечением, профилактикой, исследованием свойств возбудителя. Под руководством С.В. Борисевича сформированы мобильные диагностические группы Центра специальной лабораторной диагностики (ЦСЛД) особо опасных и экзотических инфекционных болезней Роспотребнадзора и Министерства обороны Российской Федерации, на базе ЦСЛД организована посмертная диагностика бешенства.



С.В. Борисевич возглавляет 48-й ЦНИИ Министерства обороны РФ, который является одним из ведущих военных научных центров, головным разработчиком средств защиты от наступательного биологического оружия в нашей стране.

Сергей Владимирович – автор свыше 250 научных публикаций, в том числе монографий, руководств, патентов, под его научным руководством защищены несколько диссертаций.

За заслуги перед медицинской наукой и российским здравоохранением С.В. Борисевич награжден медалью ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени, орденами Почета и Александра Невского. За участие в разработке первой зарегистрированной отечественной вакцины против COVID-19 «Спутник V» Сергей Владимирович награжден Государственной премией Российской Федерации.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций» сердечно поздравляют С.В. Борисевича со знаменательной датой и желают ему доброго здоровья, счастья, благополучия и новых творческих успехов.

К ЮБИЛЕЮ МИХАИЛА НИКОЛАЕВИЧА ЛЯПИНА

10 января 2022 г. отметил юбилей доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела биологической безопасности Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» Михаил Николаевич Ляпин. Михаил Николаевич является ведущим специалистом в области биологической безопасности. Его научная карьера началась с формирования вирусологической группы института, которой были впервые получены данные о присутствии на территории Саратовской области очагов арбовирусных инфекций.

М.Н. Ляпин стоял у истоков создания лаборатории биологической безопасности и участвовал в формировании Проблемной комиссии 48.05 «Биологическая безопасность и противодействие терроризму». На протяжении многих лет возглавлял комиссию по контролю соблюдения требований биологической безопасности РосНИПЧИ «Микроб». Михаил Николаевич принял активное участие в разработке положений и закона о биологической безопасности в Российской Федерации, нормативно-методических документов (санитарные правила, методические указания, методические рекомендации и др.). Им было обосновано использование рискологических подходов в решении вопросов биобезопасности с получением данных в виде количественных показателей оценки риска инфицирования персонала, осуществляющего работу с патогенными микроорганизмами.

С непосредственным участием Михаила Николаевича разработана система предэпидемической диагностики и



определения степени биологической опасности объектов, занимающихся деятельностью с использованием биологических патогенных агентов. Совместно с сотрудниками отдела создан алгоритм последовательности рискологических исследований в сфере биобезопасности, определены и получены качественно-количественные показатели риска на объектах медико-биологического профиля. Под руководством М.Н. Ляпина создан информационный ресурс в виде специализированной базы данных – источника ежегодных реферативных сборников «Биологическая безопасность». Под его научным руководством защищены две кандидатские работы. Является членом диссертационного совета Д 208.078.02, Проблемной комиссии 48.05 «Биологическая безопасность и противодействие терроризму».

М.Н. Ляпина отличает высокий профессионализм, ответственность, преданность делу и любовь к науке. Он отмечен Благодарственным письмом Президента Российской Федерации за значительный вклад в подготовку и проведение чемпионата мира по футболу FIFA 2018 г., имеет ведомственные награды.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций», коллектив Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» сердечно поздравляют М.Н. Ляпина с юбилеем и желают крепкого здоровья, творческого долголетия и благополучия.

ПАМЯТИ КОЛЛЕГ Revering the Memory of the Colleagues

ПАМЯТИ ДМИТРИЯ ВИКТОРОВИЧА ВИКТОРОВА

16 марта 2022 г. на 59-м году жизни скоропостижно скончался заместитель директора Волгоградского научно-исследовательского противочумного института доктор биологических наук, доцент Дмитрий Викторович Викторова.

Вся трудовая деятельность Д.В. Викторова связана с противочумной системой, которой он посвятил все свои силы и творческий потенциал, прошел путь от младшего научного сотрудника до заместителя директора института.

Крупный ученый, автор более 350 научных работ, 20 патентов на изобретения, он стоял у истоков изучения молекулярных механизмов формирования множественной лекарственной устойчивости патогенных буркхолдерий. Основными направлениями научной деятельности Д.В. Викторова являлись молекулярная эпидемиология и молекулярная генетика возбудителей особо опасных бактериальных и вирусных инфекций, исследования в области структурной и функциональной геномики, протеомного анализа и генетики лекарственной резистентности возбудителей особо опасных инфекций. Под его руководством защищены четыре кандидатские диссертации. Дмитрий Викторович являлся членом редакционной коллегии научно-практического журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

Д.В. Викторова вносил весомый вклад в реализацию мероприятий по оказанию научно-методической



и материально-технической поддержки Вьетнаму в области противодействия угрозам инфекционных болезней.

Дмитрий Викторович был высокоэрудированным специалистом, всегда щедро делился опытом и знаниями с научными сотрудниками и студентами, неуклонно заботился об их профессиональном росте, пользовался заслуженным уважением коллег, работников противочумной системы России, отечественных и зарубежных ученых.

За многолетний добросовестный труд, существенный вклад в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения, высокий профессионализм и творческий подход в работе Д.В. Викторова награжден орденом Пирогова, отмечен Благодарственным письмом Президента РФ, благодарностями Министерства здравоохранения Российской Федерации, Роспотребнадзора, администрации института.

Безвременная смерть Д.В. Викторова вызвала искреннюю скорбь у сотрудников института. Дмитрий Викторович навсегда останется в наших сердцах блестящим ученым, внимательным, отзывчивым, прекрасным и жизнерадостным человеком.

Коллектив Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» выражают глубокие соболезнования родным и близким Д.В. Викторова.

ПАМЯТИ ЮРИЯ МИХАЙЛОВИЧА ЛОМОВА

8 февраля 2022 г. в возрасте 85 лет ушел из жизни доктор медицинских наук, профессор, академик Российской академии естественных наук Юрий Михайлович Ломов, бывший с 1988 по 2010 год директором ФКУЗ «Ростовский-на-Дону орден Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора.

Вся трудовая деятельность Ю.М. Ломова связана с Ростовским-на-Дону НИПЧИ, куда он пришел после окончания Ростовского государственного медицинского института на должность младшего научного сотрудника лаборатории генетики фагов.

Юрий Михайлович успешно реализовал свои способности организатора лабораторной службы, работая в очагах холеры в Сомали, Узбекистане, Дагестане, эффективно осуществляя комплекс противоэпидемических и профилактических мероприятий. Являясь высококвалифицированным специалистом в области эпидемиологии, микробиологии и диагностики карантинных и других особо опасных инфекций, разработал новое направление в исследовании L-форм холерных вибрионов, их идентификации, изучал некультивируемые формы возбудителя холеры.

Ю.М. Ломов долгие годы являлся членом Президиума общества эпидемиологов, микробиологов и паразитоло-



гов РАМН, председателем Ростовского-на-Дону отделения общества микробиологов, членом Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации, членом редакционного совета журнала «Эпидемиология и инфекционные болезни».

Автор более 400 научных публикаций, в том числе 12 монографий, более 20 инструктивно-методических документов, Юрий Михайлович воспитал целую плеяду высококвалифицированных специалистов, под его руководством защищены 9 докторских и 25 кандидатских диссертаций.

За трудовые и научные достижения Юрию Михайловичу присвоены почетные звания «Заслуженный деятель науки Российской Федерации» и «Заслуженный врач Республики Дагестан», он награжден нагрудным знаком «Почетный работник Госсанэпидслужбы России».

Коллектив Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» выражают глубокие соболезнования семье и близким Ю.М. Ломова. Светлая память о Юрии Михайловиче Ломове навсегда останется в сердцах его родных, близких и коллег.