ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

КООРДИНАЦИОННЫЙ НАУЧНЫЙ СОВЕТ ПО САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ОХРАНЕ ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ФЕДЕРАЛЬНОЕ КАЗЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ «РОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ «МИКРОБ»

ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Научно-практический журнал Выходит четыре раза в год Основан в 1968 году

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

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

Выпуск 2

2022

CAPATOB

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. 2. 150 с.

Подписано в печать 21.06.2022 Формат 60×84 1/8 Бумага мелованная Печать офсетная Усл. печ. л. 18,4 Гарнитура Таймс Заказ 2310-22

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

© Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Российский научноисследовательский 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, академик 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, академик 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, иностранный член РАН (Минск, Беларусь) Цогбадрах Нямдорж, канд. мед. наук (Улаанбаатар, Монголия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Альховский С.В., докт. биол. наук, член-корр. РАН (Москва, Россия) Андаев Е.И., докт. мед. наук (Иркутск, Россия) **Бугоркова С.А.,** докт. мед. наук (Саратов, Россия) Гулий О.И., докт. биол. наук (Саратов, Россия) **Ерошенко Г.А.,** докт. биол. наук (Саратов, Россия) **Жарникова И.В.,** докт. биол. наук (Ставрополь, Россия) *Карпунина Л.В.*, докт. биол. наук, профессор (Саратов, Россия) **Кругликов В.Д.,** докт. мед. наук, с. н. с. (Ростов-на-Дону, Россия) **Малецкая О.В.,** докт. мед. наук, профессор (Ставрополь, Россия) **Микеров А.Н.,** докт. биол. наук (Саратов, Россия) **Пеньевская Н.А.,** докт. мед. наук, доцент (Омск, Россия) **Попов Н.В.,** докт. биол. наук, профессор (Саратов, Россия) Саяпина Л.В., докт. мед. наук (Москва, Россия) Смирнова Н.И., докт. биол. наук, профессор (Саратов, Россия) Топорков В.П., докт. мед. наук, профессор (Саратов, Россия) **Шемякин И.Г.,** докт. биол. наук, профессор (Оболенск, Россия) **Шербакова С.А.,** докт. биол. наук (Саратов, Россия)

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Красько А.Г., канд. мед. наук, доцент (Минск, Беларусь) **Мека-Меченко Т.В.,** докт. мед. наук (Алматы, Казахстан) **Усенбаев Н.Т.,** канд. мед. наук (Бишкек, Кыргызстан) **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 2

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

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

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

Editorial Council

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

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

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

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

Borisevich S.V., Doctor of Biological Science,

Professor, 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, 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

Alkhovsky S.V., Doctor of Biological Science (Moscow, Russia)

Andaev E.I., Doctor of Medical Science (Irkutsk, Russia) Bugorkova S.A., Doctor of Medical Science (Saratov, Russia)

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)

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 (Saratov, Russia)

Tserennorov Damdindorj, Ph. D. (Ulaanbaatar, Mongolia)

Usenbaev N.T., Ph. D (Bishkek, Kyrgyzstan)

Editorial Office Address:

46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation Tel +7(845-2) 51-82-22. Fax +7(845-2) 51-52-12. E-mail: jour@microbe.ru. http://journal.microbe.ru

СОДЕРЖАНИЕ СОПТЕПТЅ

12

27

46

Обзоры

Волынкина А.С., Малецкая О.В., Скударева О.Н., Лисицкая Я.В., Шапошникова Л.И., Прислегина Д.А., Василенко Е.И., Тохов Ю.М., Тищенко И.В., Колосов А.В., Ростовцева Д.В., Василенко Н.Ф., Дубянский В.М., Яцменко Е.В., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2021 г.

Воробьева С.А., Дуракова О.С., Громова О.В., Волох О.А., Клокова О.Д., Никифоров А.К. Антигенные компоненты холерной бивалентной химической вакцины, методы их выделения и контроля

Заднова С.П., Плеханов Н.А., Кульшань Т.А., Швиденко И.Г., Крицкий А.А. Система секреции шестого типа Vibrio cholerae

Пономаренко Д.Г., Скударева О.Н., Хачатурова А.А., Лукашевич Д.Е., Жаринова И.В., Даурова А.В., Германова А.Н., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Манин Е.А., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Бруцеллез: тенденции развития ситуации в мире и прогноз на 2022 г. в Российской Федерации

Рудакова С.А., Теслова О.Е., Муталинова Н.Е., Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В., Савельев Д.А., Кузьменко Ю.Ф. Эпидемиологическая ситуация по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2021 г. и прогноз на 2022 г.

Савицкая Т.А., Иванова А.В., Чумачкова Е.А., Поспелов М.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Кабве Э., Давидюк Ю.Н., Трифонов В.А., Зиатдинов В.Б., Серова И.В. Обзор хантавирусных инфекций в мире, эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Российской Федерации в 2021 г. и прогноз на 2022 г.

Оригинальные статьи

Абделиев Б.З., Далибаев Ж.С., Абдел З.Ж., Ерубаев Т.К., Барамова Ш.А., Мека-Меченко Т.В., Мусагалиева Р.С., Абдирасилова А.А., Жумадилова З.Б., Умарова С.К., Аймаханов Б.К., Есимсейт Д.Т., Рысбекова А.К., Касенова А.К., Тойжанов Б.К., Кульбаева М.М., Раметов Н.М., Садовская В.П. Зонирование территории Республики Казахстан по степени напряженности эпизоотической ситуации по чуме верблюдов

Дуракова О.С., Воробьева С.А., Гаева А.В., Краснов Я.М., Кузнецов О.С., Ерохин П.С., Громова О.В., Волох О.А. Изучение стабильности свойств штаммов Vibrio cholerae — продуцентов активных компонентов холерной химической вакцины

Ерошенко Г.А., Оглодин Е.Г., Балыкова А.Н., Краснов Я.М., Нарышкина Е.А., Аязбаев Т.З., Попов Н.В., Кутырев В.В. Реконструкция пространственной циркуляции Yersinia pestis средневекового биовара в Восточном Прикаспии в XX веке по данным полногеномного SNP-анализа

Reviews

Volynkina A.S., Maletskaya O.V., Skudareva O.N., Lisitskaya Ya.V., Shaposhnikova L.I., Prislegina D.A., Vasilenko E.I., Tokhov Yu.M., Tishchenko I.V., Kolosov A.V., Rostovtseva D.V., Vasilenko N.F., Dubyansky V.M., Yatsmenko E.V., Kulichenko A.N. Epidemiological Situation on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in the Russian Federation in 2021

Vorob'eva S.A., Durakova O.S., Gromova O.V., Volokh O.A., Klokova O.D., Nikiforov A.K. Antigenic Components of Chemical Bivalent Cholera Vaccine, Methods of Their Isolation and Control

Dentovskaya S.V., Trunyakova A.S., Vagaiskaya A.S., Platonov M.E., Tyurin E.A., Anisimov A.P. Concerning Criteria for Transfer of Attenuated *Yersinia pestis* Strains from Pathogenicity (Hazard) Group I into Pathogenicity Group III

Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Kul'shan' T.A., Shvidenko I.G., Kritsky A.A. Vibrio cholerae Secretion System of the Type VI

Ponomarenko D.G., Skudareva O.N., Khachaturova A.A., Lukashevich D.E., Zharinova I.V., Daurova A.V., Germanova A.N., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Manin E.A., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Brucellosis: Trends in the Development of Situation in the World and Forecast for 2022 in the Russian Federation

Rudakova S.A., Teslova O.E., Mutalinova N.E., Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Savel'ev D.A., Kuz'menko Yu.F. Epidemiological Situation on Tick-Borne Borreliosis in the Russian Federation in 2021 and Forecast for 2022

Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Kabve E., Davidyuk Yu.N., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Serova I.V. Overview of Hantavirus Infections in the World, the Epidemiological Situation on Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Russian Federation in 2021, and Forecast for 2022

статьи Original articles

Abdeliyev B.Z., Dalibayev Zh.S., Abdel Z.Zh., Yerubayev T.K., Baramova Sh.A., Meka-Mechenko T.V., Mussagalieva R.S., Abdirassilova A.A., Zhumadilova Z.B., Umarova, S.K. Aimakhanov B.K., Yessimseit D.T., Rysbekova A.K., Kassenova A.K., Toyzhanov B.K., Kulbaeva M.M., Rametov N.M., Sadovskaya V.P. Zoning of the Territory of the Republic of Kazakhstan by the Degree of Intensity of the Epizootic Situation on Plague in Camels

Durakova O.S., Vorob'eva S.A., Gaeva A.V., Krasnov Ya.M., Kuznetsov O.S., Erokhin P.S., Gromova O.V., Volokh O.A. Investigating the Stability of the Properties of *Vibrio cholerae* Strains – Producers of Active Components of the Chemical Cholera Vaccine

Eroshenko G.A., Oglodin E.G., Balykova A.N., Krasnov Ya.M., Naryshkina E.A., Ayazbaev T.Z., Popov N.V., Kutyrev V.V. Tracing the Spatial Circulation of *Yersinia pestis* of Medieval Biovar in the Eastern Caspian Sea Region in the 20th Century Based on Genome-Wide SNP Analysis

75

| Овчинникова А.С., Агафонов А.П., Максютов Р.А. Жизнеспособность штаммов коронавируса SARS-CoV-2 на различных типах тест-поверхностей, в питьевой воде, а также их устойчивость к дезинфицирующим средствам | 86 | A.S., Agafonov A.P., Maksyutov R.A. Viability of SARS-CoV-2 Coronavirus Strains on Different Types of Test Surfaces, in Drinking Water and Their Resistance to Disinfectants |
|---|-----|---|
| Курчева С.А., Курноскина М.М., Жарникова И.В., Кошкидько А.Г., Русанова Д.В., Рязанова А.Г., Аксенова Л.Ю., Ковалев Д.А., Жиров А.М., Куличенко А.Н. Экспериментальный пероксидазный коньюгат для выявления специфических антител к возбудителю сибирской язвы в иммуноферментном анализе | 94 | Kurcheva S.A., Kurnoskina M.M., Zharnikova I.V., Koshkid'ko A.G., Rusanova D.V., Ryazanova A.G., Aksenova L.Yu., Kovalev D.A., Zhirov A.M., Kulichenko A.N. Experimental Peroxidase Conjugate for Detection of Specific Antibodies to Anthrax Agent in Enzyme Immunoassay |
| Найденова Е.В., Карташов М.Ю., Шевцова А.П., Шиповалов А.В., Кабанов А.С., Болдырев Н.Д., Кривошеина Е.И., Diallo M.G., Nassour A.A., Bah M.B., Nourdine I., Keyra M., Kaba L., Camara S., Diallo M.T., Boumbaly S., Sidime Y., Кутырев В.В. Определение уровня иммунной прослойки сельскохозяйственных животных к возбудителям зоонозных инфекционных болезней в Гвинейской Республике | 101 | Naidenova E.V., Kartashov M.Yu., Shevtsova A.P., Shipovalov A.V., Kabanov A.S., Boldyrev N.D., Krivosheina E.I., Diallo M.G., Nassour A.A., Bah M.B., Nourdine I., Keyra M., Kaba L., Camara S., Diallo M.T., Boumbaly S., Sidime Y., Kutyrev V.V. Identification of the Farm Animals Immune to Pathogens of Zoonotic Infectious Diseases in the Republic of Guinea |
| Осина Н.А., Ситмбетов Д.А., Доманина И.В., Булгакова Е.Г., Касьян Ж.А., Касьян И.А., Ляшова О.Ю., Щербакова С.А. Разработка способа определения биоваров <i>Brucella suis</i> методом мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени | 107 | Osina N.A., Sitmbetov D.A., Domanina I.V., Bulgakova E.G., Kas'yan Zh.A., Kas'yan I.A., Lyashova O.Yu., Shcherbakova S.A. Development of a Method for Determination of <i>Brucella suis</i> Biovars Using Multilocus Real-Time PCR |
| Старцева О.Л., Богданова Ю.В., Гридина Т.М., Курчева С.А., Кошкидько А.Г., Степанищева А.С. Менеджмент риска при производстве и использовании медицинского изделия для диагностики <i>in vitro</i> набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный антигенный туляремийный лиофилизированный» | 115 | Startseva O.L., Bogdanova Yu.V., Gridina T.M., Kurcheva S.A., Koshkid'ko A.G., Stepanishcheva A.S. Risk Management in the Manufacturing and Use of the Medical Product for <i>in vitro</i> Diagnostics: Reagent Kit "Lyophilized Erythrocyte Antigenic Tularemia Diagnosticum" |
| Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Иванова А.В., Путинцева Е.В., Викторов Д.В., Топорков А.В., Костылева А.А. Инфекционные болезни Американского региона, актуальные в плане надзора и контроля на глобальном уровне | 122 | Udovichenko S.K., Nikitin D.N., Boroday N.V., Ivanova A.V., Putintseva E.V., Viktorov D.V., Toporkov A.V., Kostyleva A.A. Infectious Diseases in the Americas Region that Are Relevant to the Global Surveillance and Control |
| Хаммадов Н.И., Хамидуллина А.И. Подбор генетических маркеров для выявления ДНК патогенных боррелий | 134 | Khammadov N.I., Khamidullina A.I. Genetic Markers for Detecting the DNA of Pathogenic Borrelia |
| Краткие сообщения | | Brief communications |
| Германчук В.Г., Кислицина Е.В., Лобовикова О.А., Миронова Н.П., Шавина Н.Ю., Гордеева М.В. Эффективность использования генератора паров перекиси водорода Fhileas 75 для дезинфекции системы воздуховодов индивидуально вентилируемой системы для содержания инфицированных животных | 142 | Germanchuk V.G., Kislitsina E.V., Lobovikova O.A., Mironova N.P., Shavina N.Yu., Gordeeva M.V. Efficiency of Using the Hydrogen Peroxide Vapor Generator "Fhileas 75" for Disinfection of the Air Ducts of Separately Ventilated System for Infected Animal Housing |
| Снатенков Е.А., Агеева Н.П., Ротов К.А., Коваленко А.А. Анализ аварийных ситуаций при работе с патогенными биологическими агентами в рамках рискориентированного подхода | 145 | Snatenkov E.A., Ageeva N.P., Rotov K.A., Kovalenko A.A. Analysis of Emergency Situations When Working with Pathogenic Biological Agents within the Framework of Risk-Oriented Approach |
| Юбилеи | | Anniversaries |
| К юбилею Анатолия Николаевича Микерова | 149 | To the Anniversary of Anatoly N. Mikerov |
| Памяти коллег | | Revering the Memory of the Colleagues |
| Памяти Тамары Ивановны Анисимовой | 150 | Of blessed memory of Tamara I. Anisimova |
| Памяти Валерия Васильевича Кабина | 150 | Of blessed memory of Valery V. Kabin |
| | | |

ОБЗОРЫ Reviews

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-6-11

УДК 616.98:578.833.29(470)

А.С. Волынкина¹, О.В. Малецкая¹, О.Н. Скударева², Я.В. Лисицкая¹, Л.И. Шапошникова¹, Д.А. Прислегина^{1,3}, Е.И. Василенко¹, Ю.М. Тохов¹, И.В. Тищенко¹, А.В. Колосов¹, Д.В. Ростовцева¹, Н.Ф. Василенко¹, В.М. Дубянский^{1,3}, Е.В. Яцменко², А.Н. Куличенко¹

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2021 г.

¹ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация; ²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ³ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва, Российская Федерация

В обзоре представлен анализ эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по Крымской геморрагической лихорадке (КГЛ) в Российской Федерации в 2021 г. Выявлено 49 случаев заболевания КГЛ, что в 1,53 раза превышает показатель 2020 г. Уровень летальности составил 6,1 %. Спорадическая заболеваемость КГЛ зарегистрирована в Ставропольском крае, Ростовской, Волгоградской областях, республиках Дагестан и Калмыкия. Показатели заболеваемости КГЛ в большинстве субъектов ниже среднемноголетних значений. В результате эпизоотологического обследования стационарных точек наблюдения установлено, что в 2021 г. численность имаго *Нуавота тационарных* положительных на наличие маркеров вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) пулов иксодовых клещей в ряде регионов превышала среднемноголетние показатели. На территории природного очага КГЛ в 2021 г. выявлена циркуляция вируса ККГЛ генетических линий «Европа-1» и «Европа-3». На основе анализа эпидемиологических данных предыдущего года и показателей природно-климатических факторов, влияющих на численность и жизнедеятельность клещей *Н. marginatum*, составлен риск-ориентированный количественный прогноз по заболеваемости КГЛ в Ставропольском крае на 2022 г.

Ключевые слова: Крымская геморрагическая лихорадка, эпидемиологическая ситуация, эпизоотологический мониторинг, заболеваемость, прогноз.

Корреспондирующий автор: Волынкина Анна Сергеевна, e-mail: volyn444@mail.ru.

Для цитирования: Волынкина А.С., Малецкая О.В., Скударева О.Н., Лисицкая Я.В., Шапошникова Л.И., Прислегина Д.А., Василенко Е.И., Тохов Ю.М., Тищенко И.В., Колосов А.В., Ростовцева Д.В., Василенко Н.Ф., Дубянский В.М., Яцменко Е.В., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2021 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:6–11. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-6-11 Поступила 03.03.2022. Отправлена на доработку 05.03.2022. Принята к публ. 12.04.2022.

A.S. Volynkina¹, O.V. Maletskaya¹, O.N. Skudareva², Ya.V. Lisitskaya¹, L.I. Shaposhnikova¹, D.A. Prislegina^{1,3}, E.I. Vasilenko¹, Yu.M. Tokhov, I.V. Tishchenko¹, A.V. Kolosov¹, D.V. Rostovtseva¹, N.F. Vasilenko¹, V.M. Dubyansky^{1,3}, E.V. Yatsmenko², A.N. Kulichenko¹

Epidemiological Situation on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in the Russian Federation in 2021

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; ³Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The review presents an analysis of the epidemiological and epizootiological situation on Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) in the Russian Federation in 2021. 49 cases of CCHF were detected in 2021, which is 1.53 times higher than in 2020. The mortality rate was 6.1 %. Sporadic cases of CCHF were registered in the Stavropol Territory, Rostov, Volgograd Regions, the Republics of Dagestan and Kalmykia. The incidence rates of CCHF were below the long-term average annual values in the majority of the constituent entities. Epizootiological survey of stationary observation points has revealed that the number of Hyalomma marginatum imago corresponded to the average long-term indicators in 2021, the peak of H. marginatum activity was noted in the II–III decades of May. The proportion of Ixodidae tick pools positive for Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) virus markers exceeded the long-term average indexes in a number of regions. On the territory of the natural focus of CCHF, the circulation of the CCHF virus of the genetic lineages "Europe-1" and "Europe-3" was detected in 2021. Based on the analysis of the epidemiological data of the previous year and natural and climatic factors affecting the abundance and vital activity of H. marginatum ticks, risk-based quantitative forecast for the incidence of CCHF in the Stavropol Territory for 2022 has been compiled.

Key words: Crimean-Congo hemorrhagic fever, epidemiological situation, epizootiological monitoring, morbidity, forecast.

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

Funding. Part of the research (making forecast of CCHF incidence in the Stavropol Territory for 2022) was funded by a grant from the Russian Science Foundation (project No. 19-75-20088). Executives: V.M. Dubyansky, D.A. Prislegina.

Corresponding author: Anna S. Volynkina, e-mail: volyn444@mail.ru.

Citation: Volynkina A.S., Maletskaya O.V., Skudareva O.N., Lisitskaya Ya.V., Shaposhnikova L.I., Prislegina D.A., Vasilenko E.I., Tokhov Yu.M., Tishchenko I.V., Kolosov A.V., Rostovtseva D.V., Vasilenko N.F., Dubyansky V.M., Yatsmenko E.V., Kulichenko A.N. Epidemiological Situation on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in the Russian Federation in 2021. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:6–11. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-6-11

Received 03.03.2022. Revised 05.03.2022. Accepted 12.04.2022.

Volynkina A.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5554-5882 Maletskaya O.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3003-4952 Shaposhnikova L.I., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3207-6742 Prislegina D.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9522-129X

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) — трансмиссивное природно-очаговое инфекционное заболевание человека, вызываемое вирусом Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), преимущественно с трансмиссивным и контактным механизмами передачи возбудителя [1–4].

Вирус ККГЛ распространен на территории стран Африки (Сенегал, Уганда, Южно-Африканская Республика, Демократическая Республика Конго, Нигерия, Танзания, Мавритания, Кения) Азии (Иран, Пакистан, Афганистан, Казахстан, Таджикистан, Ирак, Объединенные Арабские Эмираты, Саудовская Аравия, Оман, Узбекистан, Китай) [6–19], юго-восточной Европы (Турция, Греция, Болгария, Косово, Албания и Испания) [20–27]. На юге европейской части России очаг КГЛ занимает обширную территорию Южного и Северо-Кавказского федеральных округов, за исключением республик Адыгея, Северная Осетия - Алания и Чеченской Республики [24, 28].

В 2021 г. случаи заболевания КГЛ зарегистрированы в Турции — 243 случая (13 летальных), Пакистане — 27, Испании — 2, Ираке — 2 (летальные), Уганде — 2, Грузии — 1 (летальный) (по данным ProMED-mail).

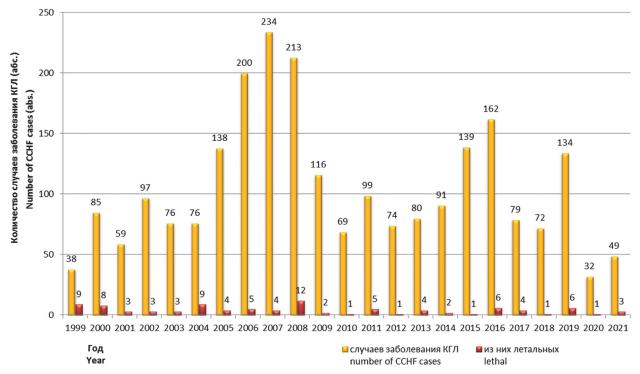
Vasilenko E.I., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7580-0991 Vasilenko N.F., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7054-1302 Dubyansky V.M., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3817-2513 Kulichenko A.N., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9362-3949

Цель работы — анализ эпидемиологической ситуации по КГЛ в России в 2021 г. и прогноз заболеваемости на 2022 г.

Анализ заболеваемости КГЛ в России в 2021 г. Случаи заболевания КГЛ в субъектах Южного и Северо-Кавказского федеральных округов России (ЮФО и СКФО) ежегодно регистрируются с 1999 г. Наиболее высокий уровень заболеваемости КГЛ наблюдался в 2005–2009 гг., 2015–2016 гг. и 2019 г. (рисунок).

В 2021 г. в России выявлено 49 случаев заболевания КГЛ, что в 1,53 раза больше, чем в 2020 г. (32 случая) и на 49 % ниже среднемноголетних значений (в 2011–2020 гг. – в среднем 96,2 случая в год). Уровень летальности составил 6,1 %, зарегистрировано 3 летальных исхода (средний уровень летальности в 2011–2020 гг. – 4,0 %).

Спорадическая заболеваемость КГЛ зарегистрирована в шести субъектах ЮФО и СКФО. Случаи заболевания регистрировали преимущественно в Ставропольском крае (19 случаев), Ростовской области (16 случаев, 2 летальных). Кроме того, 7 случаев КГЛ (1 летальный) выявлено в Республике Дагестан, 5 случаев — в Республике Калмыкия, по 1 случаю — в Волгоградской области и Кабардино-Балкарской Республике.



Динамика заболеваемости КГЛ в РФ в 1999–2021 гг.

Dynamics of Crimean hemorrhagic fever (CHF) incidence in the Russian Federation in 1999–2021

Зарегистрированный в 2021 г. уровень заболеваемости КГЛ в большинстве субъектов ниже среднемноголетних значений: в Волгоградской области — в 5,1 раза (в 2011—2020 гг. регистрировалось в среднем 7,8 случая в год), в Ростовской области — в 2,8 раза (44,6 случая/год), в Республике Калмыкия — в 1,9 раза (9,8 случая/год), в Ставропольском крае — в 1,5 раза (29,2 случая/год). Рост количества случаев заболевания КГЛ относительно среднемноголетнего уровня отмечался в Республике Дагестан — в 2,9 раза (2,4 случая/год).

Показатели заболеваемости на 100 тыс. населения в 2021 г. наиболее высокими были в Республике Калмыкия (1,8) и Ставропольском крае (0,86).

Первый больной (по дате заболевания) был зарегистрирован в 3-й декаде апреля в Ставропольском крае (п. Шведино Петровского района). Пик заболеваемости пришелся на май, июнь и июль (26,5; 30,6 и 26,5 % от всех больных соответственно), спад — на август (6,1 %). Последний случай заболевания отмечен в 1-й декаде августа в Республике Дагестан (п. Талги, г.о. Махачкала).

Заболеваемость регистрировалась во всех возрастных группах, наиболее высокий уровень заболеваемости отмечен среди лиц возрастных групп 50–59 лет и 60 лет и старше – 26,5 и 28,6 % от всех случаев заболевания соответственно. В Республике Дагестан выявлен один случай заболевания КГЛ ребенка в возрасте до 14 лет.

В профессиональном составе больных КГЛ традиционно преобладали безработные (63,0 %) и лица пенсионного возраста (12,2 %), как правило, являющиеся владельцами индивидуального поголовья сельскохозяйственных животных. Также отмечались случаи заболевания КГЛ работников фермерских хозяйств: фермеров, полеводов, механизаторов, разнорабочих сельхозпредприятий (12,4 %), ветеринарных врачей (2,0 %). В Республике Дагестан в 2021 г. зарегистрирован один случай инфицирования медицинского работника при оказании медицинской помощи больному КГЛ.

Инфицирование людей происходило при реализации трансмиссивного (97,9 % случаев) и контактного (2,0 % случаев) механизмов передачи вируса ККГЛ. В 63,3 % случаев инфицирование произошло при укусе клеща. В 18,4 % случаев укус и контакт с клещом происходили при уходе за сельскохозяйственными животными, в 8,1 % — при выполнении сельскохозяйственных работ, в 6,1 % случаев — при нахождении в природных биотопах.

Анализ клинических проявлений КГЛ показал, что у 70,2 % больных наблюдалось отсутствие геморрагических проявлений. Преобладающей была среднетяжелая форма течения болезни (68,1 % от всех случаев заболевания), доля случаев тяжелого течения болезни составила 27,6 %. В одном случае наблюдалась микст-инфекция КГЛ в сочетании с COVID-19, заболевание закончилось летальным исходом.

Эпизоотологический мониторинг природного очага КГЛ. Погодно-климатические условия зимнего периода 2020/21 г. на территории юга европейской части РФ были в пределах температурного оптимума для прохождения клещами Hyalomma marginatum зимней диапаузы. В точках долговременного наблюдения (восточные районы Ставропольского края) среднесуточная температура воздуха декабря составила минус 0,6 °C, января – плюс 1,1 °C, февраля – минус 1,4 °С. Средняя температура зимних месяцев в 2020/21 г. составила минус 0,9 °C, что на 3,9 °C ниже, чем зимой 2019/20 г. (+3,0 °C). Начало весны было холодным, среднемесячная температура воздуха в марте 2021 г. составила +5,2 °C, что в два раза ниже, чем в 2020 г. (+10,6 °C). Нарастание среднесуточных температур воздуха, необходимое для выхода из диапаузы и активизации имаго H. marginatum, началось в конце 2-й декады марта (не менее +5 °C на протяжении 3-5 дней). В апреле 2021 г. отмечено стремительное повышение температуры воздуха среднемесячная температура составила +14,4 °C.

По результатам проведенного эпизоотологического обследования стационарных точек долговременного наблюдения (полупустынные ландшафты на севере и востоке Ставропольского края) в весенний период 2021 г. на крупном рогатом скоте (КРС) иксодовые клещи представлены следующими видами: *H. marginatum*, *H. scupense*, *Rhipicephalus turanicus*, *R. rossicus*, *R. bursa*, *Boophilus annulatus*, доминирующим видом являлся клещ *H. scupense* (60–99 % от всех собранных).

Активизация имаго H. marginatum произошла в конце 3-й декады марта — 1-й декаде апреля 2021 г. В 3-й декаде апреля 2021 г. индекс встречаемости H. marginatum на KPC составил 79,3 %, индекс обилия — 7,7 %. Пик активности H. marginatum пришелся на 2—3-ю декады мая 2021 г. (индекс встречаемости на скоте — 100 %, средний индекс обилия взрослых особей H. marginatum — 19,0 %).

На базе лабораторий противочумных учреждений и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах ЮФО, СКФО в 2021 г. методами ИФА и ПЦР на наличие антигена и РНК вируса ККГЛ исследована 2671 проба иксодовых клещей, выявлена 221 положительная (8,3%), что превышает среднемноголетний показатель (в 2011–2020 гг. процент положительных пулов иксодовых клещей составил 4,3%). В 2021 г. доля положительных проб, по сравнению со средним показателем за последние десять лет, увеличилась в Ростовской области до 27,8% (в 2011–2020 гг. – 17,6%) и Астраханской области до 18,4% (в 2011–2020 гг. – 2,8%).

На базе Референс-центра по мониторингу за возбудителем КГЛ проведено генетическое типирование вируса ККГЛ, выявленного в образцах суспензий клещей, собранных на территории Ставропольского края. Установлено, что на территории природного очага КГЛ в Ставропольском крае в 2021 г. циркулировали штаммы, относящиеся к гене-

тическим линиям «Европа-1» (V) и «Европа-3» (VII), характерные для данного региона [28].

Прогноз заболеваемости КГЛ на 2022 г. Для составления риск-ориентированного количественного прогноза по заболеваемости КГЛ в Ставропольском крае на 2022 г. использовался метод, основанный на теореме Байеса и последовательном статистическом анализе Вальда [29-31]. Пороговый уровень вероятности позитивного решения выбран 99,0 % (вероятность ошибки – 1,0 %). Оценка информативности биотических, природно-климатических и социальных факторов проводилась по методу Кульбака [31]:

$$I(X_{i}^{i}) = \prod K(X_{i}^{i}) \cdot \frac{1}{2} \cdot [P(X_{i}^{i}/A) - P(X_{i}^{i}/B)],$$

где I – информативность; X_{i}^{i} – номер диапазона признака; Р - вероятность; А, В - дифференцируемые состояния прогнозируемого объекта (появление или отсутствие случаев заболевания КГЛ); ПК – прогностический коэффициент («вклад» значений каждого фактора в приближение к одному из двух возможных вариантов прогноза). В качестве данных для расчета прогнозируемого уровня заболеваемости использовали эпидемиологические данные предыдущего года и показатели природно-климатических факторов (взятые из базы данных ЦКП «ИКИ-мониторинг» Института космических исследований РАН), влияющие на численность и жизнедеятельность основных переносчиков вируса ККГЛ – иксодовых клещей H. marginatum.

Случаи заболевания КГЛ в 2022 г. ожидаются в 14 административных районах Ставропольского края и г. Ставрополе, причем в 9 административных районах (Апанасенковский, Арзгирский, Благодарненский, Ипатовский, Красногвардейский, Нефтекумский, Петровский, Труновский и Туркменский) ожидается более ДВVX случаев заболевания, в 5 административных районах (Буденновский, Грачевский, Изобильненский, Левокумский, Шпаковский) и г. Ставрополе – не более одного случая КГЛ.

Таким образом, в 2021 г. в Российской Федерации отмечен рост заболеваемости КГЛ в 1,53 раза по сравнению с 2020 г., однако количество выявленных случаев КГЛ в большинстве субъектов не превышает среднемноголетних значений.

На стационарных точках долговременного наблюдения за природным очагом КГЛ в 2021 г. численность имаго H. marginatum и процент положительных на наличие маркеров вируса ККГЛ пулов иксодовых клещей в целом соответствовали среднемноголетним показателям, в отдельных субъектах отмечалось увеличение доли инфицированных вирусом ККГЛ иксодовых клещей.

Сохраняющиеся высокие показатели численности иксодовых клещей, в т.ч. *H. marginatum*, а также рост уровня инфицированности иксодовых клещей вирусом ККГЛ могут способствовать развитию неблагоприятной эпидемиологической обстановки на юге Российской Федерации с возможным ростом заболеваемости КГЛ в Российской Федерации в 2022 г.

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

Часть исследования (составление прогноза по заболеваемости КГЛ в Ставропольском крае на 2022 г.) выполнена за счет гранта Российского научного фонда (проект № 19-75-20088). Исполнители: В.М. Дубянский, Д.А. Прислегина.

Список литературы

1. Смирнова С.Е. Крымская-Конго геморрагическая лихорадка (этиология, эпидемиология, лабораторная диагностика). М.: ATuCO; 2007. 304 с.

Аристова В.А., Колобухина Л.В., Щелканов М.Ю., Львов Д.К. Экология вируса Крымской-Конго геморрагической

лихорадки и особенности клиники на территории России и сопредельных стран. Вопросы вирусологии. 2001; 46(4):7–15.

3. Bente D.A., Forrester N.L., Watts D.M., McAuley A.J., Whitehouse C.A., Bray M. Crimean-Congo hemorrhagic fever: history, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. Antiviral Res. 2013; 100(1):159–89. DOI: 10.1016/j.antiviral.2013.07.006.

10.1010/J.апичігаі.2013.07.006.

4. Бутенко А.М. Крымская геморрагическая лихорадка. *PЭТ-ИНФО*. 2005; 3:45–8.

5. Vawda S., Goedhals D., Bester P.A., Burt F. Seroepidemiologic survey of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in selected risk groups, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(7):1360–3. DOI: 10.3201/eid2407.172096.

6. Смирнова С.Е. Мировой ареал вируса Крымской-Конго

6. Смирнова С.Е. Мировой ареал вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки. Бюллетень сибирской медицины. 2006; Приложение 1:79–87.
7. Al-Abri S.S., Hewson R., Al-Kindi H., Al-Abaidani I., Al-Jardani A., Al-Maani A., Almahrouqi S., Atkinson B., Al-Wahaibi A., Al-Rawahi B., Bawikar S., Beeching N.J. Clinical and molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Oman. PLoS Negl. Trop. Dis. 2019; 13(4):e0007100. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007100.

pntd.0007100.

8. Camp J.V., Kannan D.O., Osman B.M., Shah M.S., Howarth B., Khafaga T., Weidinger P., Karuvantevida N., Kolodziejek J., Mazrooei H., Wolf N., Loney T., Nowotny N. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus endemicity in United Arab Emirates, 2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(5):1019–21. DOI: 10.3201/eid2605.191414.

9. Chinikar S., Bouzari S., Shokrgozar M.A., Mostafavi E., Jalali T., Khakifirouz S., Nowotny N., Fooks A.R., Shah-Hosseini N. Genetic diversity of Crimean Congo hemorrhagic fever virus strains from Iran. *J. Arthropod Borne Dis.* 2016; 10(2):127–40.

10. Farhadbour F., Telmadarraiy Z., Chinikar S., Akbarzadeh

10. Farhadpour F., Telmadarraiy Z., Chinikar S., Akbarzadeh K., Moemenbellah-Fard M.D., Faghihi F., Fakoorziba M.R., Jalali T., Mostafayi E., Shahhosseini N., Mohammadian M. Molecular detection of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in ticks collected from infested livestock populations in a New Endemic Area, South of Iran. *Trop. Med. Int. Health.* 2016; 21(3):340–7. DOI: 10.1111/tmi.12667.

11. Saghafipour A., Mousazadeh-Mojarrad A., Arzamani N., Telmadarraiy Z., Rajabzadeh R., Arzamani K. Molecular and seroepidemiological survey on Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Northeast of Iran. *Med. J. Islam. Repub. Iran.* 2019; 33:41. DOI: 10.34171/mjiri.33.41.

12. Zakham F., Alaloui A., Levanov L., Vapalahti O. Viral haemorrhagic fevers in the Middle East. *Rev. Sci. Tech.* 2019; 38(1):185–98. DOI: 10.20506/rst.38.1.2952.

13. Hoch T., Breton E., Vatansever Z. Dynamic modeling of Crimean Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) spread to test control strategies. *J. Med. Entomol.* 2018; 55(5):1124–32. DOI: 10.1093/jme/tjy035.

10.1093/jme/tjy035.

14. Abdiyeva K., Turebekov N., Dmitrovsky A., Tukhanova N., Shin A., Yeraliyeva L., Heinrich N., Hoelscher M., Yegemberdiyeva R., Shapiyeva Z., Kachiyeva Z., Zhalmagambetova A., Montag J., Dobler G., Zinner J., Wagner E., Frey S., Essbauer S. Seroepidemiological and molecular investigations of infections with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Kazakhstan. *Int. J. Infect. Dis.* 2019; 78:121–7. DOI: 10.1016/j.ijid.2018.10.015.

15. Khurshid A., Hassan M., Alam M.M., Aamir U.B., Rehman L., Sharif S., Shaukat S., Rana M.S., Angez M., Zaidi S.S. CCHF virus variants in Pakistan and Afghanistan: Emerging diversity and epidemiology. *J. Clin. Virol.* 2015; 67:25–30. DOI: 10.1016/j. jcv.2015.03.021.

jev.2015.03.021

16. Nurmakhanov T., Sansyzbaev Y., Atshabar B., Deryabin P., Kazakov S., Zholshorinov A., Matzhanova A., Sadvakassova A.,

Saylaubekuly R., Kyraubaev K., Hay J., Atkinson B., Hewson R. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Kazakhstan (1948–2013). *Int. J. Infect. Dis.* 2015; 38:19–23. DOI: 10.1016/j. ijid.2015.07.007.

17. Sahak M.N., Arifi F., Saeedzai S.A. Descriptive epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Afghanistan: Reported cases to National surveillance system, 2016–2018. *Int. J.*

logy of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Afghanistan: Reported cases to National surveillance system, 2016–2018. *Int. J. Infect. Dis.* 2019; 88:135–40. DOI: 10.1016/j.ijid.2019.08.016.

18. Yaqub T., Oneeb M., Mukhtar N., Tahir Z., Shahid F., Subhan S., Salman M. Crimean-Congo haemorrhagic fever: Case study analysis of a sporadic outbreak from Chakwal, Pakistan. *Zoonoses Public Health.* 2019; 66(7):871–3. DOI: 10.1111/zph.12623.

19. Yadav P.D., Cherian S.S., Zawar D., Kokate P., Gunjikar R., Jadhav S., Mishra A.C., Mourya D.T. Genetic characterization and molecular clock analyses of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus from human and ticks in India, 2010–2011. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 14:223–31. DOI: 10.1016/j.meegid.2012.10.005.

20. Ahmeti S., Berisha L., Halili B., Ahmeti F., von Possel R., Thomé-Bolduan C., Michel A., Priesnitz S., Reisinger E.C., Günther S., Krüger A., Sherifi K., Jakupi X., Hemmer C.J., Emmerich P. Crimean-Congo hemorrhagic fever, Kosovo, 2013–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(2):321–4. DOI: 10.3201/eid2502.171999.

21. Papa A., Markatou F., Maltezou H.C., Papadopoulou E., Terzi E., Ventouri S., Pervanidou D., Tsiodras S., Maltezos E. Crimean-Congo haemorrhagic fever in a Greek worker returning from Bulgaria, June 2018. *Euro Surveill.* 2018; 23(35):1800432.

22. Papa A., Pappa S., Panayotova E., Papadopoulou E., Christova I. Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Bulgaria – An update. *J. Med. Virol.* 2016; 88(5):769–73. DOI: 10.1002/jmv.24400.

23. Бутенко А.М., Трусова И.Н. Заболеваемость Крымской геморрагической лихорадкой в странах Европы, Африки и Азии (1943–2012 гг.). *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2013; 5:46–8.

24. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф., Бейер А.П., Санникова И.В., Пасечников В.Д., Ковальчук И.В., Ермаков

1943—2012 П.). Эпиоемиология и инфекционные облезни. 2015; 5:46—8.

24. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Василенко Н.Ф., Бейер А.П., Санникова И.В., Пасечников В.Д., Ковальчук И.В., Ермаков А.В., Бутаев Т.М., Смирнова С.Е., Карань Л.С., Малеев В.В., Платонов А.Е. Крымская геморрагическая лихорадка в Евразии в XXI веке: эпидемиологические аспекты. Эпиоемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2012; 3:42—53.

25. Рара А., Weber F., Hewson R., Weidmann M., Koksal I., Korukluoglu G., Mirazimi A. Meeting report: First International Conference on Crimean-Congo hemorrhagic fever. Antiviral Res. 2015; 120:57—65. DOI: 10.1016/j.antiviral. 2015.05.005.

26. Serretiello E., Astorri R., Chianese A., Stelitano D., Zannella C., Folliero V., Santella B., Galdiero M., Franci G., Galdiero M. The emerging tick-borne Crimean-Congo haemorrhagic fever virus: A narrative review. Travel Med. Infect. Dis. 2020; 37:101871. DOI: 10.1016/j.tmaid.2020.101871.

27. Maltezou H.C., Andonova L., Andraghetti R., Bouloy M., Ergonul O., Jongejan F., Kalvatchev N., Nichol S., Niedrig M., Platonov A., Thomson G., Leitmeyer K., Zeller H. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness.

Ріаtonov A., Thomson G., Leitmeyer K., Zeller H. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Euro Surveill*. 2010; 15(10):19504.
28. Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., редакторы. Крымская геморрагическая лихорадка. Воронеж: Фаворит; 2018. 288 с.
29. Гублер Е.В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов. Л.: Медицина; 1978. 294 с.
30. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. 2-е изд. Л.: Медиа Сфера; 1973. 141 с.
31. Дубянский М.А., Кенжебаев А., Степанов В.М., Асенов Г.А. Лубянская Л. Л. Прогнозирование эпизоотической активно-

Г.А., Дубянская Л.Д. Прогнозирование эпизоотической активности чумы в Приаралье и Кызылкумах. Нукус: Каракалпакстан; 1992. 240 с.

References

1. Smirnova S.E. [Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (Etiology,

1. Smirnova S.E. [Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (Etiology, Epidemiology, Laboratory Diagnostics)]. Moscow; 2007. 304 p.
2. Aristova V.A., Kolobukhina L.V., Shchelkanov M.Yu., L'vov D.K. [Ecology of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus and clinical features in Russia and neighboring countries]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2001; 46(4):7–15.
3. Bente D.A., Forrester N.L., Watts D.M., McAuley A.J., Whitehouse C.A., Bray M. Crimean-Congo hemorrhagic fever: history, epidemiology, pathogenesis, clinical syndrome and genetic diversity. *Antiviral Res*. 2013; 100(1):159–89. DOI: 10.1016/j. antiviral.2013.07.006.

4. Butenko A.M. [Crimean hemorrhagic fever]. *RET-INFO*.

4. Butenko A.M. [Crimean hemorrhagic fever]. RET-INFO.

2005; (3):45–8.

5. VawdaS., Goedhals D., Bester P.A., Burt F. Seroepidemiologic survey of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in selected risk groups, South Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(7):1360–3. DOI: 10.3201/eid2407.172096.

6. Smirnova S.E. [World distribution of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus]. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2006; Appendix 1:79–87.

Appendix 1.79-67.

7. Al-Abri S.S., Hewson R., Al-Kindi H., Al-Abaidani I., Al-Jardani A., Al-Maani A., Almahrouqi S., Atkinson B., Al-Wahaibi A., Al-Rawahi B., Bawikar S., Beeching N.J. Clinical and molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Oman. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(4):e0007100. DOI: 10.1371/journal.

pntd.0007100.

8. Camp J.V., Kannan D.O., Osman B.M., Shah M.S., Howarth B., Khafaga T., Weidinger P., Karuvantevida N., Kolodziejek J., Mazrooei H., Wolf N., Loney T., Nowotny N. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus endemicity in United Arab Emirates, 2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(5):1019–21. DOI: 10.3201/eid2605.191414.

9. Chinikar S., Bouzari S., Shokrgozar M.A., Mostafavi E., Jalali T., Khakifirouz S., Nowotny N., Fooks A.R., Shah-Hosseini N. Genetic diversity of Crimean Congo hemorrhagic fever virus strains from Iran. *J. Arthropod Borne Dis.* 2016; 10(2):127–40.

10. Farhadpour F., Telmadarraiy Z., Chinikar S., Akbarzadeh K., Moemenbellah-Fard M.D., Faghihi F., Fakoorziba M.R., Jalali T., Mostafavi E., Shahhosseini N., Mohammadian M. Molecular detection of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in ticks collected

tion of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in ticks collected from infested livestock populations in a New Endemic Area, South of Iran. *Trop. Med. Int. Health.* 2016; 21(3):340–7. DOI: 10.1111/tmi.12667.

tmi.12667.

11. Saghafipour A., Mousazadeh-Mojarrad A., Arzamani N., Telmadarraiy Z., Rajabzadeh R., Arzamani K. Molecular and seroepidemiological survey on Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Northeast of Iran. *Med. J. Islam. Repub. Iran.* 2019; 33:41. DOI: 10.34171/mjiri.33.41.

12. Zakham F., Alaloui A., Levanov L., Vapalahti O. Viral haemorrhagic fevers in the Middle East. *Rev. Sci. Tech.* 2019; 38(1):185–98. DOI: 10.20506/rst.38.1.2952.

13. Hoch T., Breton E., Vatansever Z. Dynamic modeling of Crimean Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) spread to test control strategies. *J. Med. Entomol.* 2018; 55(5):1124–32. DOI: 10.1093/jme/tjy035.

14. Abdiyeva K., Turebekov N., Dmitrovsky A., Tukhanova N.,

10.1093/jme/tjy035.

14. Abdiyeva K., Turebekov N., Dmitrovsky A., Tukhanova N., Shin A., Yeraliyeva L., Heinrich N., Hoelscher M., Yegemberdiyeva R., Shapiyeva Z., Kachiyeva Z., Zhalmagambetova A., Montag J., Dobler G., Zinner J., Wagner E., Frey S., Essbauer S. Seroepidemiological and molecular investigations of infections with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Kazakhstan. *Int. J. Infect. Dis.* 2019; 78:121–7. DOI: 10.1016/j.ijid.2018.10.015.

15. Khurshid A., Hassan M., Alam M.M., Aamir U.B., Rehman L., Sharif S., Shaukat S., Rana M.S., Angez M., Zaidi S.S. CCHF virus variants in Pakistan and Afghanistan: Emerging diversity and epidemiology. *J. Clin. Virol.* 2015; 67:25–30. DOI: 10.1016/j. jcv.2015.03.021.

jev.2015.03.021

16. Nurmakhanov T., Sansyzbaev Y., Atshabar B., Deryabin P., Kazakov S., Zholshorinov A., Matzhanova A., Sadvakassova A., Saylaubekuly R., Kyraubaev K., Hay J., Atkinson B., Hewson R. Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Kazakhstan (1948–2013). *Int. J. Infect. Dis.* 2015; 38:19–23. DOI: 10.1016/j. ijid.2015.07.007

ijid.2015.07.007.

17. Sahak M.N., Arifi F., Saeedzai S.A. Descriptive epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) in Afghanistan: Reported cases to National surveillance system, 2016–2018. Int. J. Infect. Dis. 2019; 88:135–40. DOI: 10.1016/j.ijid.2019.08.016.

18. Yaqub T., Oneeb M., Mukhtar N., Tahir Z., Shahid F., Subhan S., Salman M. Crimean-Congo haemorrhagic fever: Case study analysis of a sporadic outbreak from Chakwal, Pakistan. Zoonoses Public Health. 2019; 66(7):871–3. DOI: 10.1111/zph.12623.

19. Yadav P.D., Cherian S.S., Zawar D., Kokate P., Gunjikar R. Jadhav S.. Mishra A.C., Mourva D.T. Genetic characterization

Jadhav S., Mishra A.C., Mourya D.T. Genetic characterization

19. Yadav P.D., Cherian S.S., Zawar D., Kokate P., Gunjikar R., Jadhav S., Mishra A.C., Mourya D.T. Genetic characterization and molecular clock analyses of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus from human and ticks in India, 2010–2011. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 14:223–31. DOI: 10.1016/j.meegid.2012.10.005.

20. Ahmeti S., Berisha L., Halili B., Ahmeti F., von Possel R., Thomé-Bolduan C., Michel A., Priesnitz S., Reisinger E.C., Günther S., Krüger A., Sherifi K., Jakupi X., Hemmer C.J., Emmerich P. Crimean-Congo hemorrhagic fever, Kosovo, 2013–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(2):321–4. DOI: 10.3201/eid2502.171999.

21. Papa A., Markatou F., Maltezou H.C., Papadopoulou E., Terzi E., Ventouri S., Pervanidou D., Tsiodras S., Maltezos E. Crimean-Congo haemorrhagic fever in a Greek worker returning from Bulgaria, June 2018. *Euro Surveill.* 2018; 23(35):1800432.

DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.35.1800432.

22. Papa A., Pappa S., Panayotova E., Papadopoulou E., Christova I. Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Bulgaria – An update. *J. Med. Virol.* 2016; 88(5):769–73. DOI: 10.1002/jmv.24400.

23. Butenko A.M., Trusova I.N. [The incidence of Crimean hemorrhagic fever in Europe, Africa, and Asia (1943–2012)]. *Epidemiologya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases*]. 2013; (5):46–8.

24. Kulichenko A.N., Maletskaya O.V., Vasilenko N.F., Beyer A.P., Sannikova I.V., Pasechnikov V.D., Koval'chuk I.V., Ermakov

A.V., Butaev T.M., Smirnova S.E., Karan' L.S., Maleev V.V., Platonov A.E. [Crimean hemorrhagic fever in Eurasia in the 21st century: epidemiological aspects]. *Epidemiologya i Infektsionnye Bolezni. Aktualnye Voprosy [Epidemiology and Infectious Diseases. Relevant Issues].* 2012; (3):42–53.

25. Papa A., Weber F., Hewson R., Weidmann M., Koksal I., Korukluoglu G., Mirazimi A. Meeting report: First International Conference on Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antiviral Res.* 2015; 120:57–65. DOI: 10.1016/j.antiviral. 2015.05.005.

26. Serretiello E., Astorri R., Chianese A., Stelitano D., Zannella C., Folliero V., Santella B., Galdiero M., Franci G., Galdiero M. The emerging tick-borne Crimean-Congo haemorrhagic fever virus: A narrative review. *Travel Med. Infect. Dis.* 2020; 37:101871. DOI: 10.1016/j.tmaid.2020.101871.

27. Maltezou H.C., Andonova L., Andraghetti R., Bouloy M., Ergonul O., Jongejan F., Kalvatchev N., Nichol S., Niedrig M., Platonov A., Thomson G., Leitmeyer K., Zeller H. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Euro Surveill.* 2010; 15(10):19504.

28. Onishchenko G.G., Kulichenko A.N., editors. [Crimean

28. Onishchenko G.G., Kulichenko A.N., editors. [Crimean Hemorrhagic Fever]. Voronezh: "Favorit"; 2018. 288 p.
29. Gubler E.V. [Computational Methods for the Analysis and Recognition of Pathological Processes]. Leningrad: "Medicine";

1978. 294 p.
30. Gubler E.V., Genkin A.A. [Application of Non-Parametric Statistics Criteria in Biomedical Research]. 2nd ed. Leningrad: "Media Sphere"; 1973. 141 p.
31. Dubyansky M.A., Kenzhebaev A., Stepanov V.M., Asenov G.A., Dubyanskaya L.D. Predicting the Epizootic Activity of Plague in the Aral Sea Region and Kyzyl Kum. Nukus: Karakalpakstan; 1992. 240 p.

Volynkina A.S., Maletskaya O.V., Lisitskaya Ya.V., Shaposhnikova L.I., Vasilenko E.I., Tokhov Yu.M., Tishchenko I.V., Kolosov A.V., Rostovtseva D.V., Vasilenko N.F., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Skudareva O.N., Yatsmenko E.V. Federal Service for Surveillance in the

Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Lane, Moscow, 127994, Russian Federation.

Prislegina D.A., Dubyansky V.M. Stavropol Research Anti-Plague Institute; 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. Central Research Institute of Epidemiology; 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation.

Об авторах:

Волынкина А.С., Малецкая О.В., Лисицкая Я.В., Шапошникова Л.И., Василенко Е.И., Тохов Ю.М., Тищенко И.В., Колосов А.В., Ростовцева Д.В., Василенко Н.Ф., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru. Скударева О.Н., Яцменко 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. Прислегина Д.А., Дубянский В.М. Ставропольский научноисследовательский противочумный институт; Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии; Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, За.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-12-19

УДК 616.932:615.371

С.А. Воробьева, О.С. Дуракова, О.В. Громова, О.А. Волох, О.Д. Клокова, А.К. Никифоров

АНТИГЕННЫЕ КОМПОНЕНТЫ ХОЛЕРНОЙ БИВАЛЕНТНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ, МЕТОДЫ ИХ ВЫДЕЛЕНИЯ И КОНТРОЛЯ

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

В статье представлен обзор данных по методам выделения и контроля антигенов Vibrio cholerae холерогенанатоксина и О-антигенов Инаба и Огава – компонентов пероральной холерной бивалентной химической вакцины производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», единственного профилактического препарата против холеры, зарегистрированного на территории Российской Федерации. В настоящий момент в производстве вакцины используется способ раздельного получения холероген-анатоксина и О-антигенов Инаба и Огава с постадийным контролем их основных свойств, который обеспечивает получение качественного готового препарата. Эффективным методом концентрирования полуфабриката, который способствует сокращению потерь и увеличению выхода конечного продукта, является ультрафильтрация. Перспективной остается разработка метода щадящей стерилизации О-антигенов для максимального сохранения специфической активности. Для контроля специфической активности антигенных компонентов и готового препарата вакцины применяют комплекс методов in vivo и in vitro. Однако многостадийность и длительность, применение нескольких видов лабораторных животных, а также современные требования ВОЗ определяют необходимость внедрения альтернативных методов контроля in vitro. В качестве замены биологического метода перспективным является использование клеточных культур, для которого показана положительная корреляция с тестами на животных. Для оценки активности антигенов предлагается применение иммунохимического метода – дот-иммуноанализа с золотыми наночастицами, что позволит унифицировать способ контроля на всех этапах производственного процесса, а также проводить определение серовароспецифичности О-антигенов холерного вибриона. Разработка молекулярно-генетических, микробиологических, иммунохимических методов актуальна для более полного и всестороннего контроля основных иммуногенов производственных штаммов холерного вибриона. Внедрение перспективных методов получения антигенов и контроля их свойств позволит более полно охарактеризовать компонентный состав готовой лекарственной формы холерной химической вакцины.

Ключевые слова: Vibrio cholerae, пероральная холерная вакцина, холерный токсин, холероген-анатоксин, О-антиген.

Корреспондирующий автор: Воробьева Светлана Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Воробьева С.А., Дуракова О.С., Громова О.В., Волох О.А., Клокова О.Д., Никифоров А.К. Антигенные компоненты холерной бивалентной химической вакцины, методы их выделения и контроля. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:12–19. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-12-19

Поступила 01.12.2021. Принята к публ. 17.01.2022.

S.A. Vorob'eva, O.S. Durakova, O.V. Gromova, O.A. Volokh, O.D. Klokova, A.K. Nikiforov Antigenic Components of Chemical Bivalent Cholera Vaccine, Methods of Their Isolation and Control

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

Abstract. The paper presents a review of the data on the methods of isolation and control of Vibrio cholerae antigens - cholerogen-anatoxin and O-antigens of Inaba and Ogawa - components of the oral bivalent chemical cholera vaccine produced by the RusRAPI "Microbe", the only prophylactic drug against cholera registered in the territory of the Russian Federation. Currently, the vaccine is produced using the method of segregated manufacturing of cholerogenanatoxin and O-antigens Inaba and Ogawa with step-by-step control of their main properties, which ensures the production of a high-quality finished product. Ultrafiltration is an effective method for concentrating a semi-finished product. which helps to reduce losses and increases the yield of the final product. It remains promising to develop a method for gentle sterilization of O-antigens to maximize the preservation of specific activity. To control the specific activity of the antigenic components and the finished vaccine preparation, a complex of in vivo and in vitro methods is applied. However, the multi-stage process and duration, the use of several types of laboratory animals, as well as modern WHO requirements determine the need for the introduction of alternative in vitro control methods. The use of cell cultures as a replacement for the biological method appears prospective, and demonstrates a positive correlation with animal tests. To assess the activity of antigens, the use of an immunochemical method – dot-immunoassay with gold nanoparticles – is put forward, which will make it possible to harmonize the control method at all stages of the production process, as well as to determine the serovar specificity of Vibrio cholerae O-antigens. The development of molecular-genetic, microbiological, immunochemical methods is relevant for a more complete and comprehensive control of the main immunogens of industrial strains of cholera vibrio. The introduction of promising methods for obtaining antigens and monitoring their properties will allow for a more complete characterization of the component composition of the finished dosage form of the chemical cholera vaccine.

Key words: Vibrio cholerae, oral cholera vaccine, cholera toxin, cholerogen-anatoxin, O-antigen.

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

Corresponding author: Svetlana A. Vorob'eva, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Vorob'eva S.A., Durakova O.S., Gromova O.V., Volokh O.A., Klokova O.D., Nikiforov A.K. Antigenic Components of Chemical Bivalent Cholera Vaccine, Methods of Their Isolation and Control. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:12–19. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-12-19

Received 01.12.2021. Accepted 17.01.2022.

Vorob'eva S.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3624-0850 Durakova O.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-8823-3524 Gromova O.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0172-2964 Volokh O.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3044-971X Klokova O.D., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7119-0516 Nikiforov A.K., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1130-3504

На сегодняшний день холера остается одной из основных проблем мирового здравоохранения, затрагивающих в основном страны Азии, Африки и Америки. Возбудителями холеры являются токсигенные штаммы Vibrio cholerae серогрупп O1 и O139. По-прежнему актуальна угроза выноса инфекции из эндемичных стран и возникновения заносных эпидемических очагов, что требует постоянной готовности к экстренному проведению мероприятий по локализации и ликвидации очагов холеры. В Российской Федерации неблагоприятный прогноз по холере обусловлен потенциальными рисками завоза болезни, связанными с посещением стран, неблагополучных по холере. Решающую роль в профилактике холеры играет многосторонний подход, заключающийся в сочетании санитарно-гигиенических мероприятий, специфической профилактики и информировании общественности [1]. Официальная стратегия ВОЗ предполагает использование холерных вакцин в качестве дополнительных мер предотвращения возникновения эпидемий холеры вне эндемичных территорий и рекомендует их применение для вакцинации контингентов с повышенным риском заражения (население лагерей беженцев, лица без определенного места жительства и т.д.), а также путешественников и туристов [2].

В настоящее время за рубежом существует три преквалифицированные ВОЗ пероральные вакцины против холеры: Dukoral (Швеция), Shanchol (Индия) и Euvichol (Корея). Dukoral является цельноклеточной вакциной, обогащенной рекомбинантной В-субъединицей холерного энтеротоксина. Она состоит из инактивированных формалином или нагреванием клеток *V. cholerae* О1 группы обоих биоваров (classical и El Tor) и сероваров (Инаба и Огава) и В-субъединицы холерного токсина [3, 4]. Вакцина Dukoral рекомендована для взрослых и детей с двух лет. Вакцинация пероральная двухэтапная проводится с интервалом 1-6 недель. Форма выпуска - суспензия во флаконах с саше, содержащим гранулы буфера. Бивалентные вакцины Shanchol и Euvichol состоят из инактивированных нагреванием или формалином клеток V. cholerae серогрупп О1 и О139 [5]. Данные вакцины представляют собой готовую суспензию для перорального применения по двукратной схеме с 10-14-дневным интервалом. Рекомендованы для взрослых и детей от одного года. Вакцина Shanchol реализуется во флаконах, а Euvichol – во флаконах и пластиковой тубе.

В Российской Федерации зарегистрирована и выпускается вакцина холерная бивалентная химиче-

ская производства ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Ее специфическими компонентами являются: холероген-анатоксин (ХА) и О-антигены (О-АГ), полученные из инактивированных формалином бульонных культур V. cholerae O1 классического биовара серовара Инаба и *V. cholerae* серовара Огава [6]. Вакцина представляет собой таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой. Рекомендована для взрослых и детей с двух лет. В отличие от перечисленных выше препаратов, вакцинацию проводят перорально однократно. В 1992 г. холерная бивалентная химическая вакцина прошла государственные испытания [1] и серийно выпускается с 1995 г. В настоящее время она является единственным профилактическим препаратом против холеры, зарегистрированным на территории Российской Федерации. Холерная бивалентная химическая вакцина включена в Национальный календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям (приказ Минздрава России от 21.03.2014 № 125н (ред. от 03.02.2021) «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям») и входит в Перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов. Отмечается, что российская холерная вакцина не уступает по эффективности зарубежным вакцинам [2, 7], кроме того, является уникальным по составу действующих веществ, форме выпуска и кратности иммунизации современным профилактическим препаратом против холеры.

Целью данной работы является обзор методических подходов, используемых в настоящее время и перспективных для внедрения на этапах выделения специфических антигенных компонентов холерной химической вакцины и контроля их основных свойств.

Методы выделения специфических компонентов вакцины. В настоящее время компоненты вакцины холерной бивалентной химической получают из бульонных культур штаммов V. cholerae, выращенных методом глубинного культивирования в биореакторах. Целевыми продуктами при выращивании штаммов-продуцентов являются холерный токсин, из которого посредством формоловой детоксикации получают холероген-анатоксин, и О-антигены сероваров Инаба и Огава. Продолжается поиск новых штаммов-гиперпродуцентов, для которых характерен высокий уровень продукции основных иммуногенов холерного вибриона [8, 9]. Следует отметить необходимость подбора параметров культивирования для получения увеличенного выхода антигенов.

Перспективным направлением является также разработка и внедрение малоотходных технологий [10].

Группа сотрудников института «Микроб» во главе с М.Н. Джапаридзе разработала способ получения ХА и О-АГ Инаба и Огава [11, 12]. Данные исследования легли в основу нормативной документации на производство вакцины холерной бивалентной химической таблетированной. В качестве основного сырья использовали безмикробный центрифугат культуральной жидкости, полученной в результате глубинного культивирования штаммов-продуцентов V. cholerae О1-серогруппы классического биовара. Детоксикацию проводили добавлением формалина для снижения токсичности О-АГ и образования устойчивого ХА. После чего приступали к выделению, очистке и концентрированию иммуногенов.

При разработке методов получения антигенов, входящих в состав вакцины, отталкивались от уже известных на тот момент способов, однако их недостатком являлось совместное выделение антигенов: термолабильного растворимого белка - холерогенанатоксина и термостабильного липополисахарида – О-антигена Инаба. Для решения данной проблемы, а также для уменьшения трудоемкости, экономии времени и средств был разработан способ раздельного получения ХА и соматического О-АГ Инаба. Антигены из культуральной жидкости выделяли последовательным фракционированием сернокислым аммонием. Осадок использовали для получения О-АГ Инаба, а из центрифугата проводили выделение ХА. После диализа и стерилизации жидкие препараты иммуногенов лиофильно высушивали и использовали для изготовления вакцины.

Выделение и очистку О-АГ Огава проводили осаждением сернокислым аммонием с последующим фракционированием. Однако получение О-АГ (Инаба и Огава) двукратным переводом из растворенного состояния в осадок при помощи сульфата аммония влияло на их нативную структуру и растворимость. Для решения данной проблемы, а также для повышения эффективности процессов концентрирования и очистки О-АГ была разработана масштабируемая технология концентрирования с использованием ультрафильтрационных модулей на полых волокнах. Предварительно из нативного раствора О-АГ удаляются балластные белки путем их осаждения при pH (4,4±0,2), затем проводится мембранная ультрафильтрация центрифугата на автоматизированной установке через полые волокна, пропускающая частицы с молекулярной массой менее 100 кДа, позволяющая очищать О-АГ от неспецифических примесей и одновременно концентрировать его в 20 раз. Путем гель-хроматографии на TSK-геле HW-60 (Toyo Soda MFG, Co LTD, Япония) раствор О-АГ отделяют от оставшихся высокомолекулярных неспецифических примесей с молекулярной массой менее 300 кДа [13]. Такая технология позволяет сохранять однофазное растворенное состояние О-АГ и получать нативный, очищенный, гомогенный и иммуногенный препарат. Однако такой антиген использовался для специфической индикации и в диагностических целях, но не в качестве компонента вакцины. Еще одной разработкой на основе ультрафильтрации была технология получения О-АГ Огава, включающая этап концентрирования с использованием установки с модулями из полых волокон с номинальной отсечкой по молекулярной массе 17 кДа [14].

Описанные выше методы наряду с преимуществами имели и свои недостатки: большие потери выделяемых продуктов, низкую удельную скорость процесса. Двукратное осаждение сернокислым аммонием культуральной среды при получении XA и О-АГ Инаба приводило к существенному расходу осадителя. Таким образом, для устранения всех недостатков необходимо было разработать эффективную технологию получения антигенных препаратов, входящих в состав холерной вакцины. А.В. Комиссаров с соавт. разработали способы концентрирования нативных антигенов холерного вибриона, выделяемых при культивировании производственных штаммов V. cholerae 569В и V. cholerae M-41, внедренные в процесс производства холерной бивалентной химической вакцины [15, 16]. Для увеличения выхода конечного продукта – ХА и О-АГ Инаба – из безмикробного центрифугата и уменьшения количества сернокислого аммония, требуемого для осаждения, было предложено проводить отделение балластных примесей через мембранные фильтры с номинальной отсечкой по молекулярной массе 50 кДа в режиме проточной фильтрации. Использование данной технологической операции позволяет снизить потери антигенов при их выделении в 1,2 раза, а необходимое количество сернокислого аммония сократить в 10 раз. Для увеличения выхода О-АГ Огава с сохранением его показателей качества и повышения удельной скорости фильтрации было предложено проводить концентрирование путем проточной фильтрации через мембранные модули с номинальной отсечкой по молекулярной массе 500 кДа. Данное внедрение позволило увеличить производительность процесса и снизить потери антигена с сохранением качества получаемого препарата.

Основные компоненты вакцины содержат в своем составе и другие сопутствующие биологически активные вещества [17]. Наряду с основными иммуногенами в среде выращивания обнаружен ряд ферментов, а также незначительное количество токсинкорегулируемых пилей адгезии (ТКПА) [18]. ТКПА относятся к основным факторам патогенности и иммуногенности холерного вибриона и отвечают за развитие антиколонизирующего иммунитета. Однако их наличие не контролируется на этапах производства вакцины, что также отмечается и зарубежными коллегами, в частности при производстве вакцины Dukoral [19].

В процессе культивирования холерного вибриона обнаружено присутствие протеаз, фосфолипаз А и С, лизофосфолипаз, ДНК-аз и РНК-аз. Для

большинства из них характерно заметное снижение удельной активности к концу выращивания, однако активность протеаз, фосфолипаз А и С штамма V. cholerae M-41 повышалась вплоть до наступления стационарной фазы. Было установлено, что ферменты, содержащиеся в культуральной жидкости штамма V. cholerae M-41, осаждались из концентрата вместе с О-АГ при высаливании сернокислым аммонием, но их активность была ниже, чем при получении О-АГ без ультрафильтрации. Полученные данные свидетельствовали о содержании ряда ферментов в ультрафильтрате, который являлся отходом производства. Из ультрафильтрата традиционным способом высаливания сульфатом аммония был получен ферментный комплекс протеовибрин с высокой протеазной активностью [20]. При дальнейшем изучении содержания ферментов на этапах получения основных компонентов вакцины было выявлено, что при стерилизующей фильтрации ХА через мембранные фильтры сохранялась активность некоторых ферментов, тогда как при стерилизации О-АГ кипячением все ферменты инактивировались.

Разработки и исследования, проведенные ранее, способствовали развитию и совершенствованию методов получения компонентов, входящих в состав готового препарата. На современном этапе отобраны и адаптированы несколько технологий, которые позволяют получать качественные антигены и уменьшить затраты на дополнительное сырье для их выделения [11, 12, 15, 16]. В настоящий момент используется способ раздельного выделения ХА и О-АГ Инаба, который позволяет получать более специфичные препараты. Внедрен метод ультрафильтрации, применяемый для концентрирования и обессоливания антигенов, что способствует сокращению потерь и увеличению выхода конечного продукта, а также позволяет получать ферментный комплекс протеовибрин. Перспективной остается разработка метода щадящей стерилизации О-антигенов для максимального сохранения специфической активности.

Методы контроля специфической активности компонентов вакцины. Производство вакцин, как и других лекарственных препаратов, должно осуществляться в соответствии с Правилами надлежащей производственной практики (Good manufacturing practice). Контроль готовой лекарственной формы холерной химической вакцины проводится с помощью комплекса методов in vivo и in vitro в соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации [21], а также нормативной документацией производителя.

Токсигенные свойства штамма продуцента V. cholerae 569B изучают молекулярно-генетическим (на присутствие в хромосоме гена ctxA с помощью тест-системы для выявления ДНК $Vibrio\ cholerae\ (ctxA^+)$ методом полимеразной цепной реакции — ГенХол) и иммунохимическим (на способность продуцировать токсин во внешнюю среду в реакции пассивного иммунного гемолиза — РПИГ) метода-

ми. Контроль активности ХТ осуществляется биологическим (кожной пробы по Craig на кроликах) и иммунохимическими (с помощью РПИГ и реакции диффузионной преципитации (РДП) с антихолерогенной сывороткой) методами. Оценку активности О-АГ проводят иммунохимическим методом в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) с использованием набора реагентов для определения содержания О-антигена в РНГА. Завершающая стадия изготовления вакцины - это контроль качества готового препарата по нормируемым физико-химическим, микробиологическим, иммунохимическим ствам. Специфическую активность готовой лекарственной формы оценивают по содержанию О-АГ V. cholerae O1 (РНГА), по антигенной активности в реакции анатоксиносвязывания (ЕС на кроликах) и иммуногенности (на белых мышах).

Комплекс методов, применяемых на разных стадиях производственного цикла, позволяет получить активный, очищенный и качественный антиген, что в свою очередь гарантирует высокое качество готовой вакцины. Следует отметить, что на данном этапе актуальным вопросом остается совершенствование методов контроля компонентов вакцины, поскольку применяемые в настоящее время методы имеют ряд недостатков: многостадийность и длительность, применение нескольких видов лабораторных животных. Актуальными являются исследования, направленные на разработку и модификацию способов оценки активности основных иммуногенов холерного вибриона на разных стадиях производства. В качестве перспективных рассматриваются молекулярногенетические, иммунохимические и методы с использованием клеточных культур. Сегодня вопросы этического, разумного и экономного использования животных в исследованиях в области медицины, биологии и ветеринарии привлекают все большее внимание специалистов и общественности. В 1959 г. У. Рассел и Р. Берч издали книгу «Принципы гуманной экспериментальной техники», в которой обоснована концепция гуманного использования животных в экспериментах, получившая название «Концепция трех R» [22]. На сегодняшний день данная концепция признана общепринятым стандартом, благодаря которому разрабатываются альтернативные методы исследования, что способствует сокращению количества используемых лабораторных животных.

Ранее была показана возможность использования перевиваемых клеточных культур для детекции XT [23]. Нами адаптирован метод оценки активности XT *in vitro* с использованием перевиваемой культуры овариальных клеток китайского хомячка (СНО-К1) [24] для контроля содержания XT на этапах производства холерной вакцины. Полученные результаты коррелируют с данными метода кожной пробы по Craig и РПИГ. Предлагаемый метод позволяет определить активность продукции токсина у штамма *V. cholerae* 569В при глубинном культивировании в биореакторе, а также специфическую актив-

ность холерогена-анатоксина по реакции анатоксиносвязывания с использованием клеточных культур.

Для определения активности XT широко апробированным является метод иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). При этом наибольшей чувствительностью отличаются методы, связанные с использованием ганглиозидов GM1, обладающих сродством к иммуногенной B-субъединице XT [25]. ИФА на основе моноклональных АТ, разработанный сотрудниками нашего института, позволяет проводить детекцию токсигенных штаммов [26], однако данные методы разрабатывались и использовались для диагностических целей. Нами была показана возможность оценки продукции ХТ штамма V. cholerae 569В при глубинном культивировании методом иммуноферментного анализа с использованием GM1-ганлиозидов (GM1-ELISA) [27], что позволяет определить активность ХТ без использования лабораторных животных и подобрать оптимальные условия культивирования для увеличенного синтеза антигена. Следует отметить, что данный метод перспективен для определения остаточной токсичности ХА [19].

К числу чувствительных иммунодиагностических тестов, с помощью которых возможна детекция антигенов, относится твердофазный иммуноферментный анализ и его дот-вариант на нитроцеллюлозной мембране. Дот-иммуноанализ (ДИА) является одним из наиболее эффективных и доступных методов, характеризуется высокой чувствительностью, простотой и быстротой выполнения. Для визуализации и учета результатов в качестве хромогенной метки применяют золотые наночастицы (ЗНЧ) [28, 29]. Нами была изучена возможность применения данного метода для оценки активности антигенов, входящих в состав холерной вакцины. Результаты показали положительную корреляцию активности ХТ, ХА и О-АГ Инаба и Огава в ДИА ЗНЧ с методами, используемыми в производстве [30, 31]. Отмечается перспектива его использования для оценки стабильности антигенных компонентов и готовой лекарственной формы в тестах на длительное и ускоренное старение, что позволит аргументировать увеличение их срока годности. Для определения активности серовароспецифичного О-АГ были подобраны условия постановки прямого варианта ДИА ЗНЧ, где в качестве конъюгата использовались иммуноглобулины G (Ig G), меченные золотыми наночастицами. Поскольку в дот-анализе необходимо использование специфической сыворотки, ее получение остается актуальным. Авторами [32] были получены поликлональные кроличьи сыворотки к антигенам холерного вибриона, конъюгированным с наночастицами коллоидного золота. Иммунохимическими методами определены их титры, чувствительность и специфичность по отношению к растворимым иммуногенам и целым клеткам V. cholerae. Полученные антисыворотки показали высокую специфическую активность и перспективны для оценки активности антигенов.

Сотрудниками нашего института разработаны комплексные гено- и иммунодиагностические тестсистемы для идентификации штаммов V. cholerae и оценки уровня экспрессии генов, ответственных за синтез основных иммуногенов холерного вибриона [33–35]. Однако они предназначены для диагностических целей, а их применение на этапах культивирования производственных штаммов-продуцентов ранее не рассматривалось. В связи с этим перспективным является использование современных молекулярногенетических методов для контроля экспрессии генов, ответственных за синтез антигенных компонентов на этапе культивирования производственных штаммов. Нами была оценена экспрессия гена ctxA при глубинном культивировании производственного штамма V. cholerae 569B классического биовара методами полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией с учетом результатов в режиме реального времени (ОТ-ПЦР) и цифровой капельной полимеразной цепной реакции (цкПЦР). Результаты, полученные с помощью данных методов, свидетельствуют об опережении экспрессии гена ctxA на 1-2 часа относительно прироста биомассы и выхода ХТ в культуральную жидкость, регистрируемого иммунохимическими методами. Для оценки продукции основных иммуногенов на этапе культивирования штаммов V. cholerae 569В и V. cholerae M-41 разрабатывается комплекс молекулярно-генетических методов, что позволит оптимизировать условия культивирования и, как следствие, увеличить выход требуемого антигена.

Таким образом, поэтапный контроль компонентов вакцины на разных стадиях технологического процесса позволяет отследить их активность и качество с момента культивирования штаммовпродуцентов. Разработка и применение молекулярногенетических, микробиологических, иммунохимических методов перспективно для более полного и всестороннего контроля основных иммуногенов производственных штаммов холерного вибриона. Методы контроля, используемые для оценки активности антигенных компонентов холерной вакцины, представлены в таблице.

Перспективными направлениями развития производства холерной бивалентной химической вакцины являются:

- повышение биобезопасности производственного процесса за счет использования авирулентных штаммов-продуцентов;
- увеличение продукции основных иммуногенов холерного вибриона за счет использования штаммов гиперпродущентов;
- оптимизация условий культивирования за счет внедрения молекулярно-генетических методов, позволяющих контролировать продукцию генов, ответственных за синтез основных иммуногенов холерного вибриона;
- внедрение новых методов стерилизации, позволяющих сохранить активность антигенов;

Методы контроля специфической активности антигенных компонентов холерной химической вакцины Methods for monitoring the specific activity of the antigenic components of the chemical cholera vaccine

| Антигенный компонент | Контролируемое свойство | Методы контроля Methods of control | | | |
|--|--|--|---|--|--|
| Antigenic component | Property under monitoring | используемые в настоящее время currently applied | перспективные для внедрения promising for introduction | | |
| Холерный токсин Cholera toxin | Токсигенность Toxigenicity | Тест на кроликах-сосунках, ПЦР для детекции гена $ctxA$ с помощью тест-системы для выявления ДНК V . $cholerae$ $(ctxA^+)$ (ГенХол) Test on suckling rabbits, PCR for the detection of the $ctxA$ gene using a test system for the detection of V . $cholerae$ DNA $(ctxA^+)$ (GenChol) | Метод <i>in vitro</i> с использованием перевиваемых клеточных культур In vitro technique using transplantable cell cultures | | |
| | Активность Activity | Метод кожной пробы по Craig на кроликах, реакция диффузионной преципитации, реакция пассивного иммунного гемолиза Craig skin test on rabbits, diffusive precipitation reaction, passive immune hemolysis test | Метод иммуноферментного анализа с использованием GM1-ганлиозидов и дот-иммуноанализа с золотыми наночастицами Enzyme immunoassay using GM1-ganliosides and dot-immunoassay with gold nanoparticles | | |
| | Уровень экспрессии генов, ответственных за синтез Rate of gene expression, responsible for synthesis | He контролируется Not subjected to monitoring | Метод ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени; метод цифровой капельной ПЦР PCR with real-time registration of results; digital drip PCR | | |
| Холероген-анатоксин Cholerogen-anatoxin | Активность Activity | Реакции анатоксиносвязывания на кроликах Anatoxin binding response in rabbits | Метод иммуноферментного анализа с ис- пользованием GM1-ганлиозидов и дот- иммуноанализа с золотыми наночастицами Enzyme immunoassay using GM1-ganliosides and dot-immunoassay with gold nanoparticles | | |
| | Остаточная токсичность Residual toxicity | Тест на кроликах-сосунках Test on suckling rabbits | Метод in vitro с использованием перевиваемых клеточных культур и иммуноферментного анализа с использованием GM1-ганлиозидов In vitro method using transplantable cell cultures and enzyme immunoassay using GM1-ganliosides | | |
| O-AГ Инаба и Огава Inaba and Ogawa O-antigen | Активность Activity | Реакции непрямой гемагглютинации Indirect hemagglutination reactions | Метод дот-иммуноанализа с золотыми наночастицами на О-АГ Инаба и Огава Dot-immunoassay with gold nanoparticles on Inaba and Ogawa O-antigens | | |
| | Уровень экспрессии генов, ответственных за синтез Rate of gene expression, responsible for synthesis | He контролируется Not subjected to monitoring | Метод ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени; метод цифровой капельной ПЦР PCR with real-time registration of results; digital drip PCR | | |

- переход на малоотходные технологии производства:
- увеличение срока годности готовой продук-

На этапах изготовления холерной вакцины актуальным остается внедрение новых решений, которые позволят минимизировать временные и материальные затраты, увеличить выход готового продукта без потери его свойств, повысить специфичность и чувствительность методов анализа, применяемых для контроля готового препарата и его компонентов.

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

Список литературы

1. Беспалова И.А., Иванова И.А., Омельченко Н.Д., Филиппенко А.В., Труфанова А.А. Современное состояние специфической профилактики холеры. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2018; 17(1):55-61.

2. Щуковская Т.Н., Саяпина Л.В., Кутырев В.В.

2. Щуювская 1.11., Саяпина Л.В., Кутырев В.В. Вакцинопрофилактика холеры: современное состояние вопроса. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2009; 2:62—7.

3. Waldor M.K., Hotez P.J., Clemens J.D. A national cholera vaccine stockpile — a new humanitarian and diplomatic resource. N. Engl. J. Med. 2010; 363(24):2279–82. DOI: 10.1056/NEJMp1012300.

4. Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Кутырев В.В., Смирнова Н.И., Щербакова С.А., Москвитина Э.А., Титова С.В. Актуальные проблемы эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики и профилактики холеры в Российской Федерации. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016; 1:89–101. DOI: 10.36233/0372-9311-2016-1-89-101.
5. WHO — Prequalification of Medical Products (IVDs.)

5. WHO — Prequalification of Medical Products (IVDs, Medicines, Vaccines and Immunization Devices, Vector Control) [Электронный ресурс]. URL: https://extranet.who.int/pqweb/vaccines/prequalified-vaccines (дата обращения 20.09.2021).
6. Джапаридзе М.Н., Караева Л.Т., Сумароков А.А., Марчук Л.М., Никитина Г.П., Наумов А.В., Попов А.А., Коткина Т.А., Петяев И.М., Павлова Л.П. О-антиген Vibrio cholerae серовара (Сара, рекомецикурация датация органия) кумерчую бира-Огава, рекомендуемый для создания оральной холерной бива-лентной химической вакцины. Журнал микробиологии, эпиде-миологии и иммунобиологии. 1981; 11:75–81. 7. Горяев А.А., Саяпина Л.В., Обухов Ю.И., Бондарев В.П. Эффективность и безопасность вакцин для профилактики холе-

эффективность и сезопасность вакцин для профилактики холеры. *Биопрепараты*. *Профилактика, диагностика, лечение*. 2018; 18(1):42–9. DOI: 10.30895/2221-996X-2018-18-1-42-49. 8. Джапаридзе М.Н., Наумов А.В., Никитина Г.П., Мелещенко М.В., Доброва В.Г., Заворотных В.И., Грачева В.П.,

Захарова Т.Л. Оральная химическая вакцина из гипертоксигенных штаммов КМ-76 Инаба и КМ-68 Огава возбудителя холеры. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1991;

4.31–3. 9. Топорков А.В., Заднова С.П., Смирнова Н.И. Сравнительный анализ продукции основных протективных антигенов у рекомбинантных и производственных штаммов Vibrio

тигенов у рекомоинантных и производственных штаммов *rtorto cholerae* классического биовара. *Журнал микробиологии, эпиде-миологии и иммунобиологии.* 2005; 1:53–7.

10. Вольников В.Р., Ульянов А.Ю., Салихов Р.Р., Дуракова О.С., Авдеева Н.Г., Самохвалова Ю.И., Волох О.А. Экологическая безопасность и перспективы развития малоотходных технологий в биотехнологическом производстве. *Испектива Сарамованаева, учиваемия нова сепце.* стве. Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2021; 21(3):317–23. DOI: 10.18500/1816-9775-2021-21-3-317-323.

11. Джапаридзе М.Н., Наумов А.В., Мелещенко М.В., Никитина Г.П. Способ получения пероральной химической вакцины. Патент РФ № 2076734, опубл. 10.04.1997. Бюл. № 13.

12. Анисимов П.И., Адамов А.К., Джапаридзе М.Н., Наумов А.В., Никитина Г.П. Способ производства вакцины для профилактики холеры. Патент РФ № 2080121, опубл. 27.05.1997. Бюл. № 15.

13. Громова О.В., Джапаридзе М.Н., Дятлов И.А., Елисеев Ю.Ю., Киреев М.Н., Космаенко О.М. Способ получения О-антигена холерного очищенного. Патент РФ № 2143280, опубл. 27.12.1999. Бюл. № 36.

14. Дятлов И.А., Нижегородцев С.А., Громова О.В., Васин Ю.Г., Бутов А.С., Клокова О.Д., Белякова Н.И. Разработка ультрафильтрационной технологии получения О-антигена холерно-

го вибриона для производства вакцин. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2001; 2(82):133-9.

15. Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Алешина Ю.А., Еремин С.А., Васин Ю.Г., Клокова О.Д., Белякова Н.И., Крайнова А.Г. Способ концентрирования нативных холерогена-анатоксина и О-антигена *Vibrio cholerae* О1 классического бърговатильной пределение от классического пределение от кла биовара штамма 569В серовара Инаба. Патент РФ № 2451522, опубл. 27.05.2012. Бюл. № 15.

опуол. 27.03.2012. ВЮЛ. № 15.
16. Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Еремин С.А., Алешина Ю.А., Громова О.В., Крайнова А.Г., Клокова О.Д., Белякова Н.И., Васин Ю.Г. Способ концентрирования нативного О-антигена Vibrio cholerae. Патент РФ № 2445116, опубл. 20.03.2012. Бюл. № 13.

17. Кузьмиченко И.А., Громова О.В., Киреев М.Н., Еремин С.А., Белякова Н.И., Клокова О.Д., Нижегородцев С.А. Мониторинг активности ферментов при производстве вакцины холерной бивалентной таблетированной. Биотехнология. 2010;

18. Заднова С.П., Волох О.А., Крепостнова И.М., Щелканова Е.Ю., Ливанова Л.Ф., Захарова Т.Л., Шепелев И.А., Еремин С.А., Смирнова Н.И. Изучение продукции основных факторов патогенности и иммуногенности различными штамма-

факторов патогенности и иммуногенности различными штаммами Vibrio cholerae при их культивировании в производственных условиях. Проблемы особо опасных инфекций. 2007; 1:51–5.

19. Dukoral, INN — Oral Cholera vaccine [Электронный ресурс]. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/dukoral-epar-scientific discussion_en.pdf (дата обраще-

ния 20.10.2021).

20. Громова О.В., Кузьмиченко И.А., Киреев М.Н., Нижегородцев С.А., Корсуков В.Н. Новый способ получения комплекса ферментов холерного вибриона – протеовибрина с помощью ультрафильтрации. Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2012; 5-1:201–5.

меоицинских наук. 2012; 5-1:201-5.
21. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 4. М.; 2018. С. 5326-36.
22. Russell W.M.S., Burch R.L. The Principles of Humane Experimental Technique. London: Methuen; 1959. 238 р.
23. Алексеева Л.П., Якушева О.А., Зюзина В.П., Дуванова О.В., Шипко Е.С., Писанов Р.В. Современные методические приемы очистки холерного токсина. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2019; 15(1):5-9

15(1):5–9.
24. Гаева А.В., Громова О.В., Дуракова О.С., Генералов С.В., Ливанова Л.Ф., Волох О.А. Определение специфической активности компонентов холерной химической вакцины с истранующей пределения 2020: 36(3):82–9

пользованием культуры клеток. Биотехнология. 2020; 36(3):82–9. DOI: 10.21519/0234-2758-2020-36-3-82-89. 25. Маркина О.В., Алексева Л.П., Телесманич Н.Р., Чемисова О.С., Акулова М.В., Маркин Н.В. GM1-ДОТ-ИФА для выявления токсинпродуцирующих штаммов Vibrio cholerae. Клиническая даборатерная диагиостита. 2011: 5-40-52

для выявления токсинпродуцирующих штаммов Vibrio cholerae. Клиническая лабораторная диагностика. 2011; 5:49–52. 26. Михеева Е.А., Девдариани З.Л., Осина Н.А., Захарова Т.Л. Получение и характеристика антителопродуцирующих гибридом и моноклональных иммуноглобулинов к энтеротоксину Vibrio cholerae. Биотехнология. 2014; 30(3):49–54. 27. Гаева А.В., Громова О.В., Дуракова О.С., Генералов С.В., Волох О.А. Современные подходы к контролю активных

компонентов холерной химической вакцины. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018; 1:152–7. 28. Полтавченко А.Г., Ерш А.В., Крупницкая Ю.А. Выбор

28. Полтавченко А.Т., Ерш А.В., Крупницкая Ю.А. Выоор системы детекции для мультиплексного дот-иммуноанализа антител. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61(4):229—33. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-229-233.

29. Дыкман Л.А., Хлебцов Н.Г. Золотые наночастицы в биологии и медицине: достижения последних лет и перспективы. Acta Naturae. 2011; 3(2):36–58.

30. Дуракова О.С., Громова О.В., Киреев М.Н., Воробьева С.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Волох О.А.

Применение дот-иммуноанализа для определения специфической активности антигенов в производстве холерной вак-

цины. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2018; 14(4):10–3.

31. Воробьева С.А., Дуракова О.С., Волох О.А., Громова О.В. Возможность определения специфической активности О-АГ в производстве холерной химической вакцины

тивности О-А1 в производстве холерной химической вакцины с помощью дот-анализа. Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2018; 18(3):318–9. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319. 32. Дыкман Л.А., Волох О.А., Громова О.В., Дуракова О.С., Воробьева С.А., Киреев М.Н., Ливанова Л.Ф., Никифоров А.К., Щеголев С.Ю., Кутырев В.В. Получение и характеристика антител к протективным антигенам холерного вибриона, конъюгированным с наночастицами золота. Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. 2020; 490(1):27–30. DOI: 10.31857/ \$2686738920010084.

33. Плеханов Н.А., Заднова С.П., Агафонов Д.А., Смирнова Н.И. Конструирование мультиплексной ПЦР для идентификации токсигенных штаммов генетических вариантов

идентификации токсигенных штаммов генетических вариантов Vibrio cholerae эльтор и их дифференциации по эпидемическому потенциалу. Биотемнология. 2015; 31(2):82–90.

34. Заднова С.П., Ливанова Л.Ф., Крепостнова И.М., Захарова Т.Л., Осин А.В., Смирнова Н.И. Комплексная гено- и иммунодиагностическая тест-система для идентификации холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп и оценки их вирулентности. Патент РФ № 2404257, опубл. 20.11.2010. Бюл. № 32.

35. Абдрашитова А.С., Яцышина С.Б., Осина Н.А., Астахова Т.С., Портенко С.А., Саяпина Л.В., Шипулин Г.А., Щербакова С.А. Разработка мультилокусных амплификационных тест-систем для выявления ускоренной идентификации эпидемически значимых штаммов холерных вибрионов. Биозащита и биобезопасность. 2014; 6(2):34–41. и биобезопасность. 2014; 6(2):34-41.

References

1. Bespalova I.A., Ivanova I.A., Omel'chenko N.D., Filippenko A.V., Trufanova A.A. [The current state of specific prophylaxis of cholera]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention*]. 2018; 17(1):55–61.

2. Shchukovskaya T.N., Sayapina L.V., Kutyrev V.V. [Vaccine prophylaxis of cholera: present status]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention*]. 2009; (2):62–7.

(2):62-7

3. Waldor M.K., Hotez P.J., Clemens J.D. A national cholera vaccine stockpile – a new humanitarian and diplomatic resource. *N. Engl. J. Med.* 2010; 363(24):2279–82. DOI: 10.1056/NEJMp1012300.

4. Onischenko G.G., Popova A.Yu., Kutyrev V.V., Smirnova N.I., Shcherbakova S.A., Moskvitina E.A., Titova S.V. Actual problems of epidemiologic control, laboratory diagnostics and prophylaxis of cholera in the Russian Federation. *Zhurnal Mikrobiologii*, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2016; (1):89–101. DOI: 10.36233/0372-9311-2016-1-89-101.

5. WHO - Prequalification of Medical Products (IVDs,

5. WHO — Prequalification of Medical Products (IVDs, Medicines, Vaccines and Immunization Devices, Vector Control). (Cited 20 Sept 2021). [Internet]. Available from: https://extranet.who.int/pqweb/vaccines/prequalified-vaccines.
6. Dzhaparidze M.N., Karaeva L.T., Sumarokov A.A., Marchuk L.M., Nikitina G.P., Naumov A.V., Popov A.A., Kotkina T.A., Petyaev I.M., Pavlova L.P. [O-antigen of Vibrio cholerae, serovar Ogawa, for the preparation of oral cholera bivalent chemical vaccine]. Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 1981; (11):75–81.

(11):75–81.
7. Goryaev A.A., Sayapina L.V., Obukhov Yu.I., Bondarev V.P.

7. Goryaev A.A., Sayapina L.V., Obukhov Yu.I., Bondarev V.P. Efficacy and safety of vaccines for the prevention of choleral *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie [Biopreparations. Prevention, Diagnostis, Treatment].* 2018; 18(1):42–9. DOI: 10.30895/2221-996X-2018-18-1-42-49.

8. Dzhaparidze M.N., Naumov A.V., Nikitina G.P., Meleshchenko M.V., Dobrova V.G., Zavorotnykh V.I., Gracheva V.P., Zakharova T.L. [Oral chemical vaccine prepared on the basis of hypertoxigenic strains KM-76 Inaba and KM-68 Ogawa of the causative agent of choleral. *Thurnal Mikrobiologii. Enidamiologii* causative agent of cholera]. Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii

i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 1991; (4):31–3.

9. Toporkov A.V., Zadnova S.P., Smirnova N.I. [Comparative]

analysis of the major protective antigens production in Vibrio cholerae recombinant and producer strains of the classical biovar].
Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2005; (1):53–7.

10. Vol'nikov V.R., Ul'yanov A.Yu., Salikhov R.R., Durakova O.S., Avdeeva N.G., Samokhvalova Yu.I., Volokh O.A. [Ecological safety and prospects of development of low-waste technologies in the biotophologies in the company of the same strains.

satety and prospects of development of low-waste technologies in the biotechnology industry]. Izvestiya Saratovskogo Universiteta. Novaya Seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya [Bulletin of the Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology]. 2021; 21(3):317–23. DOI: 10.18500/1816-9775-2021-21-3-317-323.

3-317-323.

11. Dzhaparidze M.N., Naumov A.V., Meleshchenko M.V., Nikitina G.P. [Method for the production of oral chemical vaccine]. RF patent No. 2076734, publ. April 10, 1997. Bull. No. 13.

12. Anisimov P.I., Adamov A.K., Dzhaparidze M.N., Naumov A.V., Nikitina G.P. [Method for the production of a vaccine for the prevention of cholera]. RF patent No. 2080121, publ. May 27, 1997. Bull. No. 15.

13. Gromova O.V., Dzhaparidze M.N., Dyatlov I.A., Eliseev Yu.Yu., Kireev M.N., Kosmaenko O.M. [Method for obtaining purified cholera O-antigen]. RF patent No. 2143280, publ. December 27, 1999. Bull. No. 36.

1999. Bull. No. 36.

1999. Bull. No. 36.

14. Dyatlov I.A., Nizhegorodtsev S.A., Gromova O.V., Vasin Yu.G., Butov A.S., Klokova O.D., Belyakova N.I. [Development of an ultrafiltration technology for obtaining O-antigen of cholera vibrio for the production of vaccines]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2001; 2(82):133–9.

15. Komissarov A.V., Nikiforov A.K., Aleshina Yu.A., Eremin S.A., Vasin Yu.G., Klokova O.D., Belyakova N.I., Krainova A.G. [Method for concentrating native cholerogen-anatoxin and O-antigen of *Vibrio cholerae* O1 of the classical biovar, strain 569B of the serovar Inaba]. RF patent No. 2451522, publ. May 27, 2012. Bull. No. 15.

No. 15.

16. Komissarov A.V., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Aleshina Yu.A., Gromova O.V., Krainova A.G., Klokova O.D., Belyakova N.I., Vasin Yu.G. [Method for concentrating native O-antigen of *Vibrio cholerae*]. RF patent No. 2445116, publ. March 20, 2012. Bull. No. 13.

17. Kuz'michenko I.A., Gromova O.V., Kireev M.N., Eremin S.A., Belyakova N.I., Klokova O.D., Nizhegorodtsev S.A. [Monitoring of enzyme activity in the production of tableted by Slant.

[Monitoring of enzyme activity in the production of tableted bivalent

cholera vaccine]. Biotekhnologiya [Biotechnology]. 2010; (2):87–92.

18. Zadnova S.P., Volokh O.A., Krepostnova I.M., Shchelkanova E.Yu., Livanova L.F., Zakharova T.L., Shepelev I.A., Eremin S.A., Smirnova N.I. Study of the generation of the main factors of pathogenicity and immunogenicity by various strains of Vibrio cholerae during their cultivation under production conditions. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2007; (1):51–5.

19. Dukoral, INN – Oral Cholera vaccine. (Cited 20 Oct 2021). [Internet]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/

[Internet]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/dukoral-epar-scientific discussion_en.pdf.

20. Gromova O.V., Kuz'michenko I.A., Kireev M.N., Nizhegorodtsev S.A., Korsukov V.N. [A new method for obtaining a complex of Vibrio cholerae enzymes – proteovibrin, using ultrafiltration]. Bulleten' Vostochno-Sibirskogo Nauchnogo Tsentra Sibirskogo Otdeleniya Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk [Bulletin of the East Siberian Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2012; (5-1):201–5.

21. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation]. XIV edition. Vol. 4. Moscow; 2018. P. 5326–36.

22. Russell W.M.S., Burch R.L. The Principles of Humane Experimental Technique. London: Methuen; 1959. 238 p.

23. Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Zyuzina V.P., Duvanova O.V., Shipko E.S., Pisanov R.V. [Modern methodological approaches to purification of cholera toxin]. Vestnik Biotekhnologii I Phiziko-Khimicheskoi Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physico-Chemical Biology Named after Yu.A. Ovchinnikov]. 2019; 15(1):5–9.

24. Gaeva A.V., Gromova O.V., Durakova O.S., Generalov S.V., Livanova L.F., Volokh O.A. [Determination of the specific ac-

tivity of the components of the chemical cholera vaccine using cell cultures]. *Biotekhnologiya* [*Biotechnology*]. 2020; 36(3):82–9. DOI: 10.21519/0234-2758-2020-36-3-82-89.

25. Markina O.V., Alekseeva L.P., Telesmanich N.R., Chemisova O.S., Akulova M.V., Markin N.V. [GM1-DOT-ELISA for the detection of toxin-producing strains of Vibrio cholerae]. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]. 2011; (5):49–52. 26. MikheevaE.A., Devdariani Z.L., Osina N.A., Zakharova T.L.

[Obtaining and characterization of antibody-producing hybridomas and monoclonal immunoglobulins to Vibrio cholerae enterotoxin].

Biotekhnologiya [Biotechnology]. 2014; 30(3):49–54.
27. Gaeva A.V., Gromova O.V., Durakova O.S., Generalov S.V., Volokh O.A. [Modern approaches to the control of active components of cholera chemical vaccine]. Razrabotka i Registratsiya Lekarstvennykh Sredstv [Drug Development and Registration].

2018; (1):152–7.

28. Poltavchenko A.G., Ersh A.V., Krupnitskaya Yu.A. [Selection of system of detection for multiplex dot-immune analyisis of antibodies]. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]. 2016; 61(4):229–33. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-229-233. 29. Dykman L.A., Khlebtsov N.G. [Gold nanoparticles in biol-

ogy and medicine: recent achievements and prospects]. Acta Naturae.

2011; 3(2):36–58.

30. Durakova O.S., Gromova O.V., Kireev M.N., Vorob'eva S.A., Klokova O.D., Livanova L.F., Belyakova N.I., Volokh O.A. [The use of dot-immunoassay to determine the specific activity of

The use of dot-immunoassay to determine the specific activity of antigens in the production of cholera vaccine]. Vestnik Biotekhnologii I Phiziko-Khimicheskoi Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physico-Chemical Biology Named after Yu.A. Ovchinnikov]. 2018; 14(4):10–3.

31. Vorob'eva S.A., Durakova O.S., Volokh O.A., Gromova O.V. [The possibility of determining the specific activity of O-AG in the production of cholera chemical vaccine using dotassay]. Izvestiya Saratovskogo Universisteta. Novaya Seriya: Scriya: Khimiya, Biologiya, Ekologiya [Bulletin of the Saratov University

assay]. Izvestiya Saratovskogo Universisteta. Novaya Seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya [Bulletin of the Saratov University. New Series: Chemistry. Biology. Ecology]. 2018; 18(3):318–9. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319.

32. Dykman L.A., Volokh O.A., Gromova O.V., Durakova O.S., Vorob'eva S.A., Kireev M.N., Livanova L.F., Nikiforov A.K., Shchegolev S.Yu., Kutyrev V.V. [Preparation and characterization of antibodies to protective antigens of Vibrio cholerae, conjugated with gold nanoparticles]. Dokladv Rossiiskoi Akademii Nauk. Nauki o

antibodies to protective antigens of *Vibrio cholerae*, conjugated with gold nanoparticles]. *Doklady Rossiiskoi Akademii Nauk. Nauki o Zhizni [Reports of the Russian Academy of Sciences. Life Sciences]*. 2020; 490(1):27–30. DOI: 10.31857/S2686738920010084.

33. Plekhanov N.A., Zadnova S.P., Agafonov D.A., Smirnova N.I. [Construction of multiplex PCR for identification of toxigenic strains of genetic variants of El Tor *Vibrio cholerae* and their differentiation by epidemic potential]. *Biotekhnologiya [Biotechnology]*. 2015; 31(2):82–90.

34. Zadnova S.P., Livanova L.F., Krepostnova I.M., Zakharova T.L., Osin A.V., Smirnova N.I. [Complex geno- and immunodiagnostic test system for identification of *Vibrio cholerae* O1 and O139 serogroups and assessment of their virulence]. RF patent No. 2404257.

tic test system for identification of *Vibrio cholerae* O1 and O139 serogroups and assessment of their virulence]. RF patent No. 2404257, publ. November 20, 2010. Bull. No. 32.

35. Abdrashitova A.S., Yatsyshina S.B., Osina N.A., Astakhova T.S., Portenko S.A., Sayapina L.V., Shipulin G.A., Shcherbakova S.A. [Development of multilocus amplification test systems for the detection of accelerated identification of epidemically significant strains of *V. cholerae*]. *Biozashchita i Biobezopasnost'* [Biosecurity and Biosafety]. 2014; 6(2):34–41.

Authors:

Vorob'eva S.A., Durakova O.S., Gromova O.V., Volokh O.A., Klokova O.D., Nikiforov A.K. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Воробьева С.А., Дуракова О.С., Громова О.В., Волох О.А., Клокова О.Д., Никифоров А.К. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-20-26

УДК 616.98:579.842.23

С.В. Дентовская, А.С. Трунякова, А.С. Вагайская, М.Е. Платонов, Е.А. Тюрин, А.П. Анисимов

К ВОПРОСУ О КРИТЕРИЯХ ПЕРЕВОДА АТТЕНУИРОВАННЫХ ШТАММОВ YERSINIA PESTIS ИЗ І В ІІІ ГРУППУ ПАТОГЕННОСТИ (ОПАСНОСТИ)

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», р.п. Оболенск, Российская Федерация

Живые вакцины индуцируют и клеточный, и гуморальный иммунитет, дешевы и просты в применении. Индукция иммунитета обеспечивается размножением вакцинного штамма в организме без развития заболевания, так как бактерия, к которой необходимо вызвать иммунитет, характеризуется ослабленной вирулентностью (аттенуацией). Первое поколение аттенуированных штаммов отбирали из множества спонтанных или индуцированных физическими, химическими и биологическими факторами мутантов после оценки вирулентности. Стремительное развитие молекулярной генетики позволяет значительно сократить время аттенуации патогенов путем получения нокаутных мутантов по определенным исследователем генам или введения в их геном «генов авирулентности». Но если методологические аспекты конструирования аттенуированных штаммов практически решены, то отсутствие в нормативных документах официально установленных критериев оценки их опасности затрудняет определение степени аттенуации. В публикации приводятся доводы в пользу необходимости изменений в порядке учета и хранения культур, а также регламентации процесса перевода аттенуированных штаммов возбудителя чумы из I в III группу опасности для последующего использования в работах по конструированию вакцинных препаратов. При этом требования к методологическим аспектам безопасного конструирования аттенуированных штаммов Yersinia pestis и критериям проверки утраты вирулентности не должны снижаться.

Ключевые слова: Yersinia pestis, группа патогенности (опасности), аттенуация.

Корреспондирующий автор: Анисимов Андрей Павлович, e-mail: anisimov@obolensk.org. Для цитирования: Дентовская С.В., Трунякова А.С., Вагайская А.С., Платонов М.Е., Тюрин Е.А., Анисимов А.П. К вопросу о критериях перевода аттенуированных штаммов Yersinia pestis из Í в III группу патогенности (опасности). Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:20-26. DOI: 10.21055/0370-

Поступила 15.10.2021. Отправлена на доработку 25.10.2021. Принята к публ. 11.01.2022.

S.V. Dentovskaya, A.S. Trunyakova, A.S. Vagaiskaya, M.E. Platonov, E.A. Tyurin, A.P. Anisimov Concerning Criteria for Transfer of Attenuated Yersinia pestis Strains from Pathogenicity (Hazard) Group I into Pathogenicity Group III

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

Abstract. Live vaccines induce both cellular and humoral immunity and are cheap and easy to use. The induction of immunity is provided through the reproduction of the vaccine strain in the host body without the development of the disease, since the bacterium to which it is necessary to induce the immunity is characterized by reduced virulence (attenuation). The first generation of attenuated strains was chosen from a variety of spontaneous or physically, chemically and biologically induced mutants after virulence assessment. The rapid development of molecular genetics makes it possible to significantly reduce the time of pathogen attenuation via obtaining knockout mutants with genes selected by a researcher or by inserting "avirulence genes" into the genome. But, given that the methodological aspects of the design of avirulent strains are basically clarified, the absence of officially established criteria for assessing the hazard in regulatory documents hinders the determination of the degree of attenuation. In this regard, there is a need for changes in the procedure for accounting and storage of bacterial cultures, as well as regulation of the process of transferring plague pathogen avirulent strains from the 1st into the 3rd pathogenicity group for subsequent use in the vaccine preparations development. Thereat, the requirements to methodological aspects of the safe generation of attenuated Yersinia pestis strains and the criteria for testing the virulence loss should be maintained at high levels.

Key words: Yersinia pestis, pathogenicity (hazard) group, attenuation.

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

Funding: The work was carried out with the support of a grand from the Russian Science Foundation No 19-1500072.

Corresponding author: Andrey P. Anisimov, e-mail: anisimov@obolensk.org.

Citation: Dentovskaya S.V., Trunyakova A.S., Vagaiskaya A.S., Platonov M.E., Tyurin E.A., Anisimov A.P. Concerning Criteria for Transfer of Attenuated Yersinia pestis Strains from Pathogenicity (Hazard) Group I into Pathogenicity Group III. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:20-26. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-20-26

Received 15.10.2021. Revised 25.10.2021. Accepted 11.01.2022.

Dentovskava S.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1996-8949 Trunyakova A.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9223-2105 Vagaiskaya A.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7280-3660

Platonov M.E., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3946-1755 Tyurin E.A., ORCID: https://orcid.org/0000-00015304-0469 Anisimov A.P., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5499-7999

Живые бактериальные вакцины способны индуцировать как клеточный, так и гуморальный иммунитет; они относительно дешевы в производстве и просты в применении. Индукция поствакцинального иммунитета достигается за счет способности вакцинного штамма колонизировать организм хозяина и размножаться в нем, не вызывая заболевания. По этой причине живые вакцины требуют ослабления вирулентности (аттенуации) бактерии, к которой необходимо вызвать иммунитет [1]. «Аттенуация (лат. attenuatio – уменьшение, ослабление) – стойкое необратимое ослабление вирулентности патогенных микроорганизмов» [2]. Л. Пастер первым получил аттенуированные штаммы возбудителей куриной холеры, сибирской язвы и бешенства, а затем использовал их в качестве основы вакцинных препаратов [3]. В настоящее время продолжают применять и разрабатывать живые вакцины на основе аттенуированных штаммов вирусов и бактерий для профилактики таких особо опасных и социально значимых инфекций, как чума, туляремия, бруцеллез, сибирская язва, туберкулез, бешенство, грипп, желтая лихорадка, корь, полиомиелит и др. [4]. Первое поколение аттенуированных штаммов получали путем отбора спонтанных, а затем индуцированных физическими, химическими и/или биологическими факторами мутантов с помощью многократных пассажей на устойчивых к инфекции животных / культурах тканей и/или на искусственных питательных средах с последующим отбором клонов, обладающих сниженной вирулентностью. Так, вакцинный штамм чумного микроба EV76 получен в Институте Пастера в Антананариву (Мадагаскар) после 76 серийных пересевов на плотной питательной среде в течение 6 лет [5], а вакцинный штамм БЦЖ (BCG) – после 230 пассажей в течение 18 лет. Так как механизмы аттенуации оставались неизвестны, у исследователей сохранялись опасения возможной реверсии вирулентности отобранного штамма, что, соответственно, потребовало экспериментального обоснования безопасности введения «в одном шприце» в организм иммунизируемого одновременно аттенуированных и вирулентных бактерий, при содержании в смеси последних менее 1/1000 [6]. Основанная на феномене Гинсбурга теория безопасности введения иммунизируемому смеси аттенуированных бактерий с менее чем одним промилле высоковирулентных ревертантов победила в нашей стране, но ряд вопросов работы с аттенуированными штаммами бактерий до сих пор остаются без ответа. Поскольку вакцинные штаммы потенциально могут выйти из вакцинируемого организма в окружающую среду, необходимо учитывать не только вероятность обратной мутации, но и возможное восстановление вирулентности за счет горизонтального переноса чужеродных генов, комплементирующих мутацию, а также распространение нежелательных генов, таких как гены устойчивости к антибиотикам [1].

Стремительное развитие молекулярной генетики, генной инженерии, а затем и редактирования геномов позволило значительно сократить время, необходимое для аттенуации патогенов, путем получения нокаутных мутантов по определенным исследователем генам [7] или введения в их геном «генов авирулентности (антивирулентности)» [8] (одна-две

недели), их комплементации (одна-две недели), а также оценки степени аттенуации и других характеристик (включая полногеномный сиквенс), необходимых для составления паспорта (один-два месяца). Однако если методологические аспекты конструирования аттенуированных штаммов бактериальных патогенов практически решены, то «отсутствие в нормативных документах официально установленных критериев оценки опасности биологических факторов затрудняет... определение степени аттенуации патогенных микроорганизмов», необходимое для обеспечения биобезопасности при исследованиях с использованием этих штаммов [9]. Эта проблема в части, касающейся аттенуированных штаммов Yersinia pestis, довольно подробно обсуждается в публикации Е.В. Сазановой с соавт. [10], но только с точки зрения их использования при обучении микробиологическим методам лабораторной диагностики чумы.

Цель настоящей публикации — обсуждение критериев и методических подходов для перевода аттенуированных штаммов возбудителя чумы из I в III группу патогенности (опасности) для их последующего использования в работах по конструированию диагностических и вакцинных препаратов.

В статье проанализированы научные публикации в области молекулярной микробиологии чумы, а также отечественные нормативные и методические документы по обеспечению биобезопасности работ с патогенными биологическими агентами.

Конструирование аттенуированных итаммов чумного микроба. В середине прошлого века Т.W. Burrows [11] описал набор детерминант вирулентности, присутствующий у всех изученных им вирулентных штаммов Y. pestis. Две из этих классических детерминант Т.W. Burrows: способность клеток сорбировать экзогенные красители и гемин (Pgm⁺), а также зависимость роста при 37 °C от наличия в среде ионов Ca²⁺ (Ca⁻), сочетающаяся с синтезом V-антигена, — прошли проверку временем и получили статус обязательных факторов патогенности чумного микроба [12], утрата которых безусловно ведет к авирулентности.

Современная методология молекулярной микробиологии позволяет прицельно редактировать геномы, убирая, модифицируя или добавляя целые наборы определенных генов, что позволяет бактериям вакцинного штамма приживаться в тканях хозяина в течение времени, достаточного для развития напряженного иммунного ответа преимущественно на протективные иммунодоминантные антигены. Однако владение современными знаниями и современной методологией не должно создавать ложного впечатления всезнания и всемогущества. Природа постоянно готовит нам сюрпризы, и, как правило, неприятные. Так, 18 сентября 2009 г. в Чикаго скончался научный сотрудник университетской лаборатории, работавший с Pgm⁻ штаммом Y. pestis KIM D27 [13], аттенуированным, как и вакцинный штамм EV, за

счет делеции рдт-локуса. До этого момента живой чумной вакциной на основе штамма EV были проиммунизированы миллионы людей [14], а с аттенуированным Pgm- штаммом КІМ D27 в США работали в условиях BSL-2-лаборатории [15], но не было зарегистрировано ни одного летального случая. Штамм KIM D27 используют в качестве одного из суррогатов тест-заражающих штаммов дикого типа на модели мышей, которым парентерально вводят препараты декстрана гидроксида железа [15]. У погибшего в Чикаго исследователя из предсмертных проб крови была выделена культура Y. pestis, идентифицированная как штамм KIM D27. Посмертный диагноз наследственного гемохроматоза поставлен на основании гистопатологических, лабораторных и генетических исследований. Наиболее вероятным объяснением фатального исхода у этого больного является вызванное гемохроматозом избыточное содержание железа в организме, достаточное для удовлетворения питательных потребностей Pgm⁻ штамма Y. pestis и обеспечения в результате этого условий проявления его вирулентности на уровне таковой у штаммов дикого типа.

Нельзя исключать возможности повторения этой трагедии и на других парах: аттенуированный штамм чумного микроба (дефектный по синтезу и/или поглощению незаменимых питательных веществ) / исследователь или вакцинируемый (с пониженным иммунным статусом или метаболическими нарушениями). Отсюда вытекает требование к персоналу, работающему с аттенуированными штаммами чумного микроба, переведенными в III группу патогенности: к работам с аттенуированными штаммами Y. pestis в условиях BSL-2-лаборатории допускается только персонал без нарушений иммунного статуса и без метаболических нарушений. В случае учреждений, обслуживаемых медико-санитарными частями (МСЧ) ФМБА России, организовать подобное обследование не является проблемой, так как основное направление деятельности этих МСЧ медико-санитарное обеспечение работников прикрепленных предприятий, условия работы которых связаны с воздействием опасных для здоровья биологических факторов, а именно с работой с микроорганизмами I-IV групп патогенности (опасности) (https://msch164.ru/o-klinike). Что же касается обследования сотрудников противочумных учреждений, то решение данной задачи выходит за рамки этой дискуссионной статьи, основная цель которой – привлечь к этой проблеме внимание людей, уполномоченных принимать решения в области санитарноэпидемиологического нормирования.

Необходимо также учитывать принципиальную возможность передачи живых бактерий вакцинного штамма от вакцинированного неиммунизированному человеку, что может привести к довольно серьезным последствиям, если реципиент страдает иммунодефицитом (например, вследствие ВИЧ-инфекции или при химиотерапии рака).

Еще одним важным вопросом процедуры перевода аттенуированных штаммов чумного микроба в III группу патогенности (опасности) является предотвращение возможности реверсии их вирулентности. Баланс между частичной аттенуацией и способностью вызывать заболевание, с одной стороны, и полной авирулентностью, сопровождаемой низкой иммуногенностью, является деликатным и не всегда технически достижим, что побуждает большинство исследователей конструировать аттенуированные штаммы со значительной остаточной вирулентностью. Такие условно-патогенные кандидаты в вакцинные штаммы теоретически могут вернуться к своей исходной патогенной форме, если они не несут множественных ослабляющих мутаций. Для решения этой проблемы ряд исследователей используют как минимум двойные или даже тройные нокаутные мутанты (содержащие две/три независимые делеции), обеспечивающие гораздо более низкую вероятность реверсии к вирулентности дикого типа по сравнению с одиночными мутантами [16].

Что же касается конкретных генов, делеция которых безусловно приводит к аттенуации, то их список постоянно расширяется (таблица).

Прежде чем разрешить применение живой вакцины на основе аттенуированого штамма, необходимо в каждом конкретном случае тщательно изучить вопросы безопасности. Оценка безопасности включает в себя владение информацией о точной функции и местоположении генов, подлежащих мутагенезу, их генетической стабильности, потенциальных механизмах реверсии, возможных событиях рекомбинации с неактивными генами, передаче генов другим организмам, а также приобретении генов от других организмов путем фаговой трансдукции, транспозиции или переноса плазмиды и цис- или транс-комплементации. В этом отношении аттенуированные штаммы, созданные с помощью современных методов генной инженерии/редактирования геномов, демонстрируют значительное преимущество перед штаммами, полученными при случайном мутагенезе. Предварительный отбор подходящих штаммов - кандидатов в вакцинные может проводиться в условиях in vitro с использованием базовых знаний о молекулярных механизмах патогенности соответствующих видов бактерий, а не путем тестирования *in vivo* большого числа случайных мутантов. Это приводит к научно обоснованному сокращению экспериментов на животных [1], особенно в ходе «юстировки» сконструированного аттенуированного мутанта, направленной на повышение его иммуногенности и снижение реактогенности.

Общепринятым методом определения как вирулентности, так и степени аттенуации является оценка величин ЛД₅₀ при подкожном заражении мышей [21]. Однако в единственном найденном нами нормативно-методическом документе [Основные требования к вакцинным штаммам чумного микроба: Методические указания. М.: Федеральный

| Некоторые из аттенуированных мутантов Y. pestis [17-20] |] |
|---|---|
| Some of attenuated Y. pestis mutants [17–20] | |

| Штаммы <i>Y. pestis Y. pestis</i> strains | ЛД ₅₀ мутанта для мышей, КОЕ Mutant's LD ₅₀ for mice, CFU | $\Pi \Pi_{50}$ исходного штамма для мышей, KOE LD_{50} of the parent strain for mice, CFU | Индекс аттенуации Attenuation index |
|---|---|---|--|
| Kimberley53∆pcm | >10 ⁷ (π/κ) / (s.c.) | 1~3 (π/κ) / (s.c.) | $>10^{7} (\pi/\kappa) / (s.c.)$ |
| Kimberley53∆nlpD | >10 ⁷ (π/κ) / (s.c.) >10 ⁷ (и/н) / (i.n.) | 1~3 (п/к) / (s.c.) 550 (и/н) / (i.n.) | >10 ⁷ (π/κ) / (s.c.) >1,8·10 ⁴ (и/н) / (i.n.) |
| 231\DalpD | >10 ⁷ (π/κ) / (s.c.) | <10 (π/κ) / (s.c.) | >106 |
| GB∆dam | 2,3·10 ³ (π/κ) / (s.c.) | 1 (π/κ) / (s.c.) | 2,3·10³ |
| СО92∆уорН | >10 ⁷ (π/κ) / (s.c.) >10 ⁷ (μ/H) / (i.n.) | 1,9 (п/к) / (s.c.) ~250 (и/н) / (i.n.) | 5,3·10 ⁶ ~4·10 ⁴ |
| CO92∆pgm∆smpB-ssrA | >10 ⁸ (и/н) / (i.n.) | 2·10 ⁴ (и/н) / (i.n.) | >5.103 |
| GB∆guaBA | >7·10 ⁴ (π/κ) / (s.c.) | 1 (π/κ) / (s.c.) | >7·104 |
| CO92ΔyscN | >4,44·10 ⁶ (π/κ) / (s.c.) | 1,9 (п/к)/ (s.c.) | >2,3·107 |
| CO92Δlpp ΔmsbB | >30 (π/κ) / (s.c.) ~10 ³ (и/н) / (i.n.) | 1,9 (п/к) / (s.c.) ~250 (и/н) / (i.n.) | >15,8 ~4 |
| CO92ΔailΔlppΔmsbB | 1,3·104 | 1,9 (π/κ) / (s.c.) | $6.8 \cdot 10^3$ |

 Π римечания: КОЕ – колониеобразующие единицы; ЛД $_{50}$ – 50 % летальная доза; п/к – подкожное заражение; и/н – интраназальное заражение. Индекс аттенуации – это отношение величины ЛД $_{50}$ аттенуированного штамма к величине ЛД $_{50}$ исходного штамма.

Notes: CFU – colony forming units; LD_{50} – 50 % lethal dose; s.c. – subcutaneous; i.n. – intranasal. The attenuation index is the ratio of the LD_{50} of the attenuated strain to the LD_{50} of the original strain.

центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2002. 63 с. URL: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4717] речь идет уже об использовании двух видов лабораторных животных в девяти тестах, направленных в основном на определение степени остаточной вирулентности (безвредности), распространяемости и приживаемости в органах, стойкости утраты вирулентности, реактогенности. Целесообразность таких развернутых исследований на стадии доклинических испытаний кандидатов в вакцинные штаммы очевидна.

Однако такая полномасштабная проверка безвредности сконструированных мутантов-полупродуктов в соответствии с методическими указаниями МУ 3.3.1.1113-02 «Основные требования к вакцинным штаммам чумного микроба» весьма дорогостояща (примерно 500 тыс. руб. только на покупку лабораторных животных для проверки одного испытуемого штамма вместе с контрольным), что на стадии первичной оценки препятствует отбору кандидатных штаммов в количестве, достаточном для дальнейших исследований. В подобных ситуациях целесообразно ограничиться использованием оценки величин ЛД₅₀ при подкожном заражении мышей, но надо учитывать, что разные филогенетические группы мышей обладают разной чувствительностью к заражению Y. pestis. С учетом этого на проверку одного препарата необходимо использовать 24 мыши (с двумя контролями – 72). Стоимость животных в этом случае составит не более 36 тыс. руб. Таким образом, полномасштабную проверку на соответствие требованиям к вакцинным штаммам целесообразно проводить только с прошедшими этап первичного отбора единичными кандидатами в вакцинные штаммы.

Соблюдение требований санитарных правил.

При работе с любыми живыми бактериальными культурами, даже ослабленными штаммами, исследователи должны неукоснительно придерживаться предписанных санитарными правилами практик биобезопасности, а локальные комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности должны внедрять и поддерживать эффективные системы эпиднадзора для выявления и мониторинга неожиданных острых заболеваний у сотрудников лабораторий. Несоблюдение этих правил может привести к трагедии. Так, в 1930 г. из Института Пастера в Париже в Любек передали маточную культуру вакцинного штамма BCG (Bacillus Calmette – Guérin), но при приготовлении вакцины в туберкулезной лаборатории Любека ее контаминировали вирулентным штаммом Micobacterium tuberculosis. Через 4-6 недель у большого числа вакцинированных младенцев развился туберкулез. Из 250 вакцинированных 73 погибли, а 135 были инфицированы, но выздоровели [22].

Санитарные правила постоянно совершенствуются, но в них еще недостаточно проработаны положения об официальном отнесении аттенуированных штаммов к ІІІ группе патогенности (опасности). В примечании 1 приложения 5.4 к СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов І–ІV групп патогенности» записано, что «аттенуированные штаммы возбудителей І–ІІ групп относят к микроорганизмам ІІІ группы патогенности», но нет ни слова о механизмах придания им статуса аттенуированных. В п. 3.2.11 тех же санитарных правил читаем: «В подразделениях научно-исследовательских институтов допускается хранение в лиофилизированном состоянии ПБА

III—IV групп (бактерии и риккетсии)... а также хранение авирулентных, комиссионно проверенных ПБА I—II групп, список которых утверждает руководитель организации». Так как раздел 3.2 посвящен «требованиям к учету и хранению ПБА», то не ясно, можно ли в этих подразделениях работать с указанными аттенуированными штаммами или только учитывать и хранить. Кроме того, в СП 1.2.036-95 не указан порядок комиссионной проверки авирулентности.

В новых санитарных правилах и нормах СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», утвержденных 28.01.2021 и введенных в действие с 01.09.2021, также написано, что «паспортизированные аттенуированные штаммы возбудителей І–ІІ групп относятся к микроорганизмам ІІІ группы патогенности», но снова нет ни слова о механизмах придания им статуса аттенуированных (приложение 1).

Описание порядка проверки степени аттенуации штаммов чумного микроба, стабильно утративших патогенность для человека и животных, нам удалось найти только в методических указаниях МУ 3.3.1.1113-02 «Основные требования к вакцинным штаммам чумного микроба»: «Все исследования по испытанию кандидатов в вакцинные штаммы чумного микроба должны проводиться в изолированном помещении, в котором не должно быть микроорганизмов I-II групп патогенности», но вся «работа... до отнесения испытуемого штамма к ІІІ группе патогенности должна проводиться как с микроорганизмами I группы патогенности». Далее в п. 15.5 записано: «Испытуемый штамм чумного микроба, удовлетворяющий всем перечисленным требованиям, прошедший с положительным заключением государственные испытания, может быть признан как вакцинный, утвержден Министерством здравоохранения Р Φ », т.е. переведен в III группу опасности, но приказа директора учреждения, где он был получен, уже недостаточно. Перевод должен быть утвержден министром здравоохранения после проведения полномасштабных государственных испытаний.

Описанный в санитарных правилах алгоритм, вполне пригодный для работы со случайными мутантами, для которых возникшие мутации являются конечным этапом модификации генома, нерационален при конструировании современных кандидатов в вакцинные штаммы и/или продуцентов протективных антигенов, для которых аттенуация - это только первый этап редактирования генома. Вслед за аттенуацией исследователь может оптимизировать структуру и уровень продукции протективных антигенов [23], а также наличие или структуру обладающих адъювантной активностью молекул патогенассоциированных паттернов (липополисахарид, пептидогликан, флагеллин) [24], меняя степень узнаваемости этих агонистов рецепторами, распознающими патогены, и, соответственно, направленно регулировать напряженность и длительность иммунного ответа. С учетом необходимости проведения большого объема молекулярно-генетических работ по конструированию и изучению сотен клонов наиболее целесообразно вначале сконструировать прецизионно аттенуированный штамм (полупродукт), всесторонне его охарактеризовать (включая полногеномное секвенирование и определение величин $\Pi Д_{50}$), перевести его в ІІІ группу патогенности, а дальнейшие исследования по получению конечного продукта (кандидата в вакцинные штаммы) проводить уже в BSL-2-лаборатории.

Таким образом, на основании проведенного анализа считаем необходимым рекомендовать разработку методических указаний, касающихся алгоритма определения степени аттенуации и работы с аттенуированными (авирулентными) штаммами *Y. pestis*, или аналогичного по содержанию специального раздела включенных в план доработки методических документов Роспотребнадзора на 2022–2024 гг. МУ «Основные требования к оценке кандидатов в вакцинные штаммы, перспективные для создания на их основе средств специфической профилактики чумы». Особое внимание при разработке этих нормативных документов, на наш взгляд, должно быть уделено следующим вопросам:

- 1. Работы по редактированию геномов штаммов Y. pestis дикого типа могут проводиться в организациях, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I-IV групп патогенности (опасности), генноинженерно-модифицированными микроорганизмами согласно СП 1.2.1318-03 «Порядок выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I-IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами», а также в соответствии с положениями главы IV санитарных правил и норм «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» СП 3.3686-21.
- 2. К работам с аттенуированными штаммами *Y. pestis*, переведенными в III группу патогенности (опасности), в условиях BSL-2-лаборатории допускается только персонал, соответствующий требованиям действующих санитарно-эпидемиологических правил, а также без нарушений иммунного статуса и без метаболических нарушений.
- 3. Генно-инженерный протокол планируемых исследований должен быть рассмотрен и одобрен учрежденческими комиссиями по контролю за соблюдением требований биологической безопасности и комиссиями по проблемам генно-инженерной деятельности, а затем утвержден директором организации.
- 4. В состав комиссии по проверке аттенуации штаммов *Y. pestis* с отредактированными геномами

наряду с представителем авторского коллектива необходимо включать сотрудников других подразделений, допущенных к работам с Y. pestis, в том числе в обязательном порядке представителя лаборатории биологической безопасности.

- 5. Определение ЛД₅₀ аттенуированного штамма Y. pestis следует проводить при подкожном заражении мышей (четыре группы по шесть животных в каждой) в дозах 10 КОЕ, 10³ КОЕ, 10⁵ КОЕ и 10⁷ КОЕ. В качестве контроля нужно использовать высоковирулентный штамм дикого типа (231 или аналогичный) и вакцинный штамм EV.
- 6. На основании анализа генно-инженерного протокола и результатов заражения мышей комиссия составляет акт, в котором дается заключение о степени аттенуации штамма Y. pestis, и, в случае $\Pi \coprod_{50}$ более 107 КОЕ, готовится проект приказа директора о переводе штамма в III группу патогенности.

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

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ *19–15–00072*.

Список литературы

Список литературы

1. Frey J. Biological safety concepts of genetically modified live bacterial vaccines. Vaccine. 2007; 25(30):5598–605. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.11.058.

2. Петровский Б.В. Большая медицинская энциклопедия. 3-е изд. Т. 2. М.: Советская энциклопедия; 1975. С. 356.

3. Pasteur L., Chamberland C., Roux E. Nouvelle com-municationsur la rage. C. R. Acad. Sci. Paris. 1884; 98:457–63.

4. Feodorova V.A., Sayapina L.V., Corbel M.J., Motin V.L. Russian vaccines against especially dangerous bacterial pathogens. Emerg. Microbes Infect. 2014; 3(12):e86. DOI: 10.1038/emi.2014.82.

5. Cui Y., Yang X., Xiao X., Anisimov A.P., Li D., Yan Y., Zhou D., Rajerison M., Carniel E., Achtman M., Yang R., Song Y. Genetic variations of live attenuated plague vaccine strains (Yersinia pestis EV76 lineage) during laboratory passages in different countries. Infect. Genet. Evol. 2014; 26:172–9. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.05.023.

6. Гинсбург Н.Н. Живые вакцины. История, элементы теории, практика. М.: Медицина; 1969. 336 с.

7. Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Kondakova A.N., Lindner В., Bystrova O.V., Svetoch Т.Е., Shaikhutdinova R.Z., Ivanov S.A., Bakhteeva I.V., Titareva G.M., Knirel А.Y. Functional characterization and biological significance of Yersinia pestis lipopolysaccharide biosynthesis genes. Biochemistry (Moscow). 2011; 76(7):808–22. DOI: 10.1134/S0006297911070121.

8. Montminy S.W., Khan N., McGrath S., Walkowicz M.J., Sharp F., Conlon J.E., Fukase K., Kusumoto S., Sweet C., Miyake K., Akira S., Cotter R.J., Goguen J.D., Lien E. Virulence factors of Yersinia pestis are overcome by a strong lipopolysaccharide response. Nat. Immunol. 2006; 7(10):1066–73. DOI: 10.1038/ni1386.

К., Акіга S., Cotter К.J., Goguen J.D., Lien E. Viruience factors of *Yersinia pestis* are overcome by a strong lipopolysaccharide response. *Nat. Immunol.* 2006; 7(10):1066–73. DOI: 10.1038/ni1386.

9. Онищенко Г.Г., Дроздов И.Г., Малюкова Т.А., Ляпин М.Н., Пчелинцева М.В., Безсмертный В.Е., Кривуля С.Д., Федоров Ю.М., Нетесов С.В., Кутырев В.В. Нормирование как элемент системы обеспечения безопасности работ с биологическими агентами I–II групп патогенности. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2005; 2:5–11.

10. Сазанова Е.В., Малюкова Т.А., Попов Ю.А., Ляпин М.Н.

Разработка методических подходов и критериев для отнесения учебных штаммов Yersinia pestis к III группе патогенности (опасности). Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 3:139—45. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-139-145.

11. Burrows T.W. Virulence of Pasteurella pestis. Nature. 1957; 179(4572):1246–7. DOI: 10.1038/1791246a0.

12. Анисимов А.П. Факторы Yersinia pestis, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Сообщение 1. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2002; 3:3–23.

13. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Fatal laboratory-acquired infection with an attenuated Yersinia pestis strain – Chicago, Illinois, 2009. MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep. 2011; 60(7):201–5.

14. Дентовская С.В., Копылов П.Х., Иванов С.А., Агеев С.А., Анисимов А.П. Молекулярные основы вакцинопрофилактики чумы. Молекулярная генетика, микробиология и вирусоло-

2us. 2013; 3:3–12.
15. Galván E.M., Nair M.K., Chen H., Del Piero F., Schifferli D.M. Biosafety level 2 model of pneumonic plague and protection studies with F1 and Psa. *Infect. Immun.* 2010; 78(8):3443–

53. DOI: 10.1128/IAI.00382-10.

53. DOI: 10.1128/IAI.00382-10.

16. Ellis R.W. New technologies for making vaccines. Vaccine.
1999; 17(13–14):1596–604. DOI: 10.1016/s0264-410x(98)00416-2.
17. Sun W. Plague vaccines: status and future. Adv. Exp. Med.
Biol. 2016; 918:313–60. DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4 12.
18. Dentovskaya S.V., Ivanov S.A., Kopylov P.Kh.,
Shaikhutdinova R.Z., Platonov M.E., Kombarova T.I., Gapel'chenkova
T.V., Balakhonov S.V., Anisimov A.P. Selective protective potency of
Yersinia pestis \text{\text{AnIpD}} mutants. \text{\text{Acta Naturae}}. 2015; 7(1):102–8.
19. Feodorova V.A., Pan'kina L.N., Savostina E.P., Sayapina
L.V., Motin V.L., Dentovskaya S.V., Shaikhutdinova R.Z., Ivanov
S.A., Lindner B., Kondakova A.N., Bystrova O.V., Kocharova N.A.,
Senchenkova S.N., Holst O., Pier G.B., Knirel Y.A., Anisimov A.P.
A Yersinia pestis \text{\text{lpxM-mutant}} ive vaccine induces enhanced immu-A Yersinia pestis lpxM-mutant live vaccine induces enhanced immuntersima pesus ipxm-mutant live vaccine induces enhanced immunity against bubonic plague in mice and guinea pigs. Vaccine. 2007; 25(44):7620–8. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.08.055.

20. Feodorova V.A., Devdariani Z.L. Immunogeneity and structural organisation of some pLCR-encoded proteins of Yersinia pestis. J. Med. Microbiol. 2001; 50(1):13–22. DOI: 10.1099/0022-1317-50-1-13.

1317-50-1-13.
21. Finney D.J. Statistical Methods in Biological Assay. Charles Griffin. London, UK; 1978.
22. Luca S., Mihaescu T. History of BCG vaccine. *Maedica (Bucur)*. 2013; 8(1):53–8.
23. Quenee L.E., Ciletti N.A., Elli D., Hermanas T.M., Schneewind O. Prevention of pneumonic plague in mice, rats, guinea pigs and non-human primates with clinical grade rV10, rV10-2 or F1-V vaccines. *Vaccine*. 2011; 29(38):6572–83. DOI: 10.1016/j. vaccine.2011.06.119.
24. Uematsu S. Akira S. Toll-Like recentors (TLRs) and their

24. Uematsu S., Akira S. Toll-Like receptors (TLRs) and their ligands. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2008; 183:1–20. DOI: 10.1007/978-

3-540-72167-3 1.

References

References

1. Frey J. Biological safety concepts of genetically modified live bacterial vaccines. *Vaccine*. 2007; 25(30):5598–605. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.11.058.

2. Petrovsky B.V. [Big Medical Encyclopedia]. 3rd ed. Vol. 2. Moscow: Soviet Encyclopedia; 1975. P. 356.

3. Pasteur L., Chamberland C., Roux E. Nouvelle com-municationsur la rage. *C. R. Acad. Sci. Paris*. 1884; 98:457–63.

4. Feodorova V.A., Sayapina L.V., Corbel M.J., Motin V.L. Russian vaccines against especially dangerous bacterial pathogens. *Emerg. Microbes Infect*. 2014; 3(12):e86. DOI: 10.1038/emi.2014.82.

5. Cui Y., Yang X., Xiao X., Anisimov A.P., Li D., Yan Y., Zhou D., Rajerison M., Carniel E., Achtman M., Yang R., Song Y. Genetic variations of live attenuated plague vaccine strains (*Yersinia pestis* EV76 lineage) during laboratory passages in different countries. *Infect. Genet. Evol*. 2014; 26:172–9. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.05.023.

6. Ginsburg N.N. [Live Vaccines. History, Elements of Theory, Practice]. Moscow: "Medicine"; 1969. 336 p.

7. Dentovskaya S.V., Anisimov A.P., Kondakova A.N., Lindner B., Bystrova O.V., Svetoch T.E., Shaikhutdinova R.Z., Ivanov S.A., Bakhteeva I.V., Titareva G.M., Knirel A.Y. Functional characterization and biological significance of *Yersinia pestis* lipopolysaccharide biosynthesis genes. *Biochemistry (Moscow)*. 2011; 76(7):808–22. DOI: 10.1134/S0006297911070121.

8. Montminy S.W., Khan N., McGrath S., Walkowicz M.J., Sharp F., Conlon J.E., Fukase K., Kusumoto S., Sweet C., Miyake K., Akira S., Cotter R.J., Goguen J.D., Lien E. Virulence factors of *Yersinia pestis* are overcome by a strong lipopolysaccharide response. *Nat. Immunol.* 2006; 7(10):1066–73. DOI: 10.1038/ni1386.

K., Akira S., Cotter R.J., Goguen J.D., Lien E. Virulence factors of *Yersinia pestis* are overcome by a strong lipopolysaccharide response. *Nat. Immunol.* 2006; 7(10):1066–73. DOI: 10.1038/ni1386.

9. Onishchenko G.G., Drozdov I.G., Malyukova T.A., Lyapin M.N., Pchelintseva M.V., Bezsmertny V.E., Krivulya S.D., Fedorov Yu.M., Netesov S.V., Kutyrev V.V. [Rationing as an element of the system for ensuring the safety of work with biological agents of I–II pathogenicity groups]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [*Problems of Particularly Dangerous Infections*]. 2005; (2):5–11.

10. Sazanova E.V., Malyukova T.A., Popova Yu.A., Lyapin M.N. [Development of methodological approaches and cri-

10. Sazanova E.V., Malyukova T.A., Popova Yu.A., Lyapin M.N. [Development of methodological approaches and criteria to classify *Yersinia pestis* training strains as an agent of pathogenicity (hazard) group III]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [*Problems of Particularly Dangerous Infections*]. 2020; (3):139–45. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-139-145.

11. Burrows T.W. Virulence of *Pasteurella pestis*. *Nature*. 1957; 179(4572):1246–7. DOI: 10.1038/1791246a0.

12. Anisimov A.P. [Factors of *Yersinia pestis* that ensure the circulation and preservation of the plague pathogen in the ecosys-

tems of natural foci. Communication 1]. Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology, and Virology]. 2002; (3):3–23.

13. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Fatal laboratory-acquired infection with an attenuated Yersinia pestis strain – Chicago, Illinois, 2009. MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep. 2011; 60(7):201–5.

strain — Chicago, Illinois, 2009. MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep. 2011; 60(7):201–5.

14. Dentovskaya S.V., Kopylov P.Kh., Ivanov S.A., Ageev S.A., Anisimov A.P. [Molecular basis of preventive vaccination against plague]. Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology, and Virology]. 2013; (3):3–12.

15. Galván E.M., Nair M.K., Chen H., Del Piero F., Schifferli D.M. Biosafety level 2 model of pneumonic plague and protection studies with F1 and Psa. Infect. Immun. 2010; 78(8):3443–53. DOI: 10.1128/IAI.00382-10.

16. Ellis R.W. New technologies for making vaccines. Vaccine. 1999; 17(13–14):1596–604. DOI: 10.1016/s0264-410x(98)00416-2.

17. Sun W. Plague vaccines: status and future. Adv. Exp. Med. Biol. 2016; 918:313–60. DOI: 10.1007/978-94-024-0890-4 12.

18. Dentovskaya S.V., Ivanov S.A., Kopylov P.Kh., Shaikhutdinova R.Z., Platonov M.E., Kombarova T.I., Gapel'chenkova T.V., Balakhonov S.V., Anisimov A.P. Selective protective potency of Yersinia pestis \(\Delta nlp D \) mutants. Acta Naturae. 2015; 7(1):102–8.

19. Feodorova V.A., Pan'kina L.N., Savostina E.P., Sayapina L.V., Motin V.L., Dentovskaya S.V., Shaikhutdinova R.Z., Ivanov S.A., Lindner B., Kondakova A.N., Bystrova O.V., Kocharova N.A., Senchenkova S.N., Holst O., Pier G.B., Knirel Y.A., Anisimov A.P. A Yersinia pestis \(\Delta nlp M \)-mutant live vaccine induces enhanced immunity against bubonic plague in mice and guinea pigs. Vaccine. 2007; 25(44):7620–8. DOI: 10.1016/j. vaccine. 2007 08.055 nity against bubonic plague in mice and guinea pigs. *Vaccine*. 2007; 25(44):7620–8. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.08.055.

20. Feodorova V.A., Devdariani Z.L. Immunogeneity and structural organisation of some pLCR-encoded proteins of *Yersinia pestis. J. Med. Microbiol.* 2001; 50(1):13–22. DOI: 10.1099/0022-1317-50-1-13.

21. Finney D.J. Statistical Methods in Biological Assay. Charles Griffin. London, UK; 1978.
22. Luca S., Mihaescu T. History of BCG vaccine. *Maedica (Bucur)*. 2013; 8(1):53–8.

23. Quenee L.E., Ciletti N.A., Elli D., Hermanas T.M., Schneewind O. Prevention of pneumonic plague in mice, rats, guinea pigs and non-human primates with clinical grade rV10, rV10-2 or F1-V vaccines. *Vaccine*. 2011; 29(38):6572–83. DOI: 10.1016/j. vaccine.2011.06.119.

24. Uematsu S., Akira S. Toll-Like receptors (TLRs) and their ligands. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2008; 183:1–20. DOI: 10.1007/978-3-540-72167-3_1.

Authors:

Dentovskaya S.V., Trunyakova A.S., Vagaiskaya A.S., Platonov M.E., Tyurin E.A., Anisimov A.P. State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obolensk.org.

Об авторах:

Дентовская С.В., Трунякова А.С., Вагайская А.С., Платонов М.Е., Тюрин Е.А., Анисимов А.П. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская область, р.п. Оболенск. E-mail: info@obolensk.org.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-27-35

УДК 616.932:579.222

С.П. Заднова¹, Н.А. Плеханов¹, Т.А. Кульшань², И.Г. Швиденко², А.А. Крицкий¹

СИСТЕМА СЕКРЕЦИИ ШЕСТОГО ТИПА VIBRIO CHOLERAE

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского», Саратов, Российская Федерация

В обзоре обобщены данные литературы о системе секреции 6-го типа холерного вибриона. Данная система является контакт-зависимым макромолекулярным механизмом, с помощью которого бактерии транслоцируют внутрь клеток-мишеней токсические белки-эффекторы. Она присутствует у многих грамотрицательных бактерий, включая Vibrio cholerae. С помощью указанной системы холерный вибрион поражает фагоцитирующих амеб, нематод, инфузории, бактерии, принадлежащие к разным видам, а также неродственные штаммы V. cholerae. Освобождаемая после лизиса бактерий-конкурентов ДНК может поглощаться клетками холерного вибриона, что приводит к приобретению нового генетического материала. Система секреции 6-го типа участвует в инфекционном процессе. Уничтожение макрофагов и микробиоты способствует активному размножению патогена и колонизации эпителиоцитов хозяина, а продукция эффекторных белков вызывает развитие диареи и воспаление кишечника. Система секреции 6-го типа холерного вибриона имеет схожее с другими грамотрицательными бактериями строение. Гены, кодирующие белки данной системы, расположены на одном большом участке второй хромосомы и в нескольких дополнительных кластерах. Показано, что токсигенные штаммы V. cholerae содержат идентичный набор генов системы секреции, в то же время в нетоксигенных изолятах их состав вариабелен. Регуляция экспрессии белков системы секреции отличается в разных по токсигенности штаммах V. cholerae, зависит от ряда сигналов внешней среды и связана с другими регуляторными сетями клетки. Представлены экспериментальные данные по анализу структуры глобального регуляторного гена vasH системы секреции 6-го типа у токсигенных и нетоксигенных штаммов V. cholerae O1-серогруппы биовара Эль Тор, выделенных на территории Российской Федерации. Таким образом, система секреции 6-го типа является важным механизмом, способствующим выживанию V. cholerae в сложных сообществах in vitro, защищающим от повреждающих факторов макроорганизма и повышающим вирулентность *in vivo*, а также обеспечивающим эволюционные преобразования холерного вибриона. Дальнейшее изучение данной системы позволит лучше понять процессы взаимодействия «патоген – хозяин», а также механизмы адаптации *V. cholerae* во внешней среде.

Ключевые слова: Vibrio cholerae, структура и функция генов системы секреции 6-го типа холерного вибриона, структура регуляторного гена *vasH*.

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

Для цитирования: Заднова С.П., Плеханов Н.А., Кульшань Т.А., Швиденко И.Г., Крицкий А.А. Система секреции шестого типа Vibrio cholerae. Проблемы особо опасных инфекций. 2022: 2:27–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-27–35

Поступила 25.06.2021. Отправлена на доработку 19.11.2021. Принята к публ. 03.12.2021.

S.P. Zadnova¹, N.A. Plekhanov¹, T.A. Kul'shan², I.G. Shvidenko², A.A. Kritsky¹ Vibrio cholerae Secretion System of the Type VI

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

²Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky, Saratov, Russian Federation

Abstract. The review summarizes literature data on the Vibrio cholerae secretion system of the 6th type. This system is a contact-dependent macromolecular mechanism through which bacteria translocate toxic effector proteins into target cells. It is found in many Gram-negative bacteria, including Vibrio cholerae. V. cholerae infects phagocytic amoebae, nematodes, ciliates, bacteria belonging to different species, as well as unrelated strains of *V. cholerae* using this system. DNA released after lysis of competing bacteria can be taken up by Vibrio cholerae cells, which leads to the acquisition of new genetic material. The type VI secretion system is involved in the infectious process. The destruction of macrophages and microbiota contributes to the active reproduction of the pathogen and colonization of host epitheliocytes, and the production of effector proteins causes the development of diarrhea and intestinal inflammation. Cholera vibrio secretion system of the 6th type has a structure similar to other gram-negative bacteria. The genes encoding the proteins of this system are located in one large region of the second chromosome and in several additional clusters. It has been shown that toxigenic strains of V. cholerae contain an identical set of secretion system genes, while their composition is variable in non-toxigenic isolates. The regulation of secretion system protein expression differs in V. cholerae strains of different toxigenicity, depends on a number of environmental signals, and is associated with other cell regulatory networks. The paper provides experimental data on the analysis of the structure of the global regulatory gene, vasH, of the type VI secretion system in toxigenic and non-toxigenic V. cholerae O1, biovar El Tor strains isolated in the Russian Federation. Thus, the type VI secretion system is an important mechanism that facilitates the survival of V. cholerae in complex communities in vitro, protects against damaging factors of the macroorganism and increases virulence in vivo, and also provides evolutionary transformations of cholera vibrio. Further study of this system will allow a better understanding of the pathogen-host interaction processes, as well as the adaptation mechanisms of V. cholerae in the external environment.

Key words: Vibrio cholerae, structure and function of the genes of the type VI secretion system in cholera vibrio, structure of the *vasH* regulatory gene.

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

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

Citation: Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Kul'shan' T.A., Shvidenko I.G., Kritsky A.A. Vibrio cholerae Secretion System of the Type VI. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:27–35. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-27-35

Received 25.06.2021. Revised 19.11.2021. Accepted 03.12.2021.

Zadnova S.P., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4366-0562 Plekhanov N.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2355-7018 Kul'shan' T.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0904-1186 Kritsky A.A. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5506-4285

Грамотрицательные микроорганизмы Vibrio cholerae по структуре поверхностного О-антигена подразделяются на более чем 200 серогрупп. Однако только токсигенные изоляты О1-серогруппы (классического и Эль Тор биоваров) и О139-серогруппы вызывают особо опасную инфекционную болезнь холеру. Данные штаммы содержат мобильные элементы с генами основных факторов вирулентности: профаг СТХ с генами ctxAB, кодирующими продукцию холерного токсина, вызывающего развитие профузной диареи, а также остров патогенности VPI-1 с генами tcpA-F, ответственными за биосинтез токсин-корегулируемых пилей адгезии, необходимых для первого этапа инфекционного процесса колонизации вибрионами эпителиоцитов кишечника. Нетоксигенные штаммы серогрупп О1 и О139, а также холерные вибрионы серогрупп неО1/неО139, часто выделяемые из открытых водоемов, могут вызывать диарейные заболевания в результате продукции дополнительных факторов патогенности, которые могут иметь характер локальных вспышек [1]. Для выживания в таких разных экологических нишах V. cholerae выработал механизмы, позволяющие ему эффективно конкурировать с бактериями, составляющими микробиом кишечника человека, а также являющимися постоянными обитателями открытых водоемов. Одним из таких механизмов является контакт-зависимая система секреции 6-го типа (СС6Т). Гены, кодирующие данную систему, присутствуют в геноме 25 % секвенированных патогенных видов грамотрицательных бактерий. При этом V. cholerae был одним из первых микроорганизмов, у которого обнаружена данная система [2-4]. С помощью СС6Т бактерии уничтожают конкурентов (как прокариот, так и эукариот), транслоцируя внутрь них токсические белки-эффекторы. Холерный вибрион, используя СС6Т, поражает фагоцитирующих амеб, нематод, инфузории, бактерии разных видов, а также неродственные штаммы V. cholerae. Освобождаемая после лизиса бактерий-конкурентов ДНК может поглощаться холерным вибрионом. Эта естественная трансформация позволяет ему приобретать новые гены. Необходимо отметить, что в токсигенных штаммах V. cholerae O1 биовара Эль Тор поглощение ДНК и экспрессия генов СС6Т регулируются одновременно [5–7]. Высказывается предположение, что уничтожение с помощью СС6Т макрофагов, а также микробиоты, населяющей кишечный тракт человека, способствует активному размножению патогена и колонизации эпителиоцитов тонкой кишки. На лабораторных животных показано, что белки-эффекторы вызывают воспаление кишечника и развитие диареи

[3, 8–12]. Кроме того, биосинтез белков-эффекторов СС6Т может быть одной из причин высокой реактогенности вакцинных препаратов против холеры, созданных на основе аттенуированных штаммов [8].

Таким образом, система секреции 6-го типа является важным механизмом, способствующим выживанию *V. cholerae* в сложных сообществах *in vitro*, защищающим от повреждающих факторов макроорганизма и повышающим вирулентность *in vivo*, а также обеспечивающим дальнейшую эволюцию патогена. Учитывая значительную роль указанного механизма в биологии холерного вибриона, **целью** обзора является рассмотрение структуры, генетической организации и функции белков системы секреции 6-го типа у *V. cholerae*.

Строение системы секреции 6-го типа. Первые исследования СС6Т у холерного вибриона были проведены на нетоксигенном штамме V. cholerae V52 О37-серогруппы при его взаимодействии с амебой Dictyostelium discoideum. В данном штамме эффекторы активно экспрессируются в лабораторных условиях [4]. В результате было установлено, что система секреции 6-го типа холерного вибриона, как и других бактерий, представляет собой макромолекулярную структуру, очень схожую по строению и функциям с компонентами бактериофага Т4. Она состоит из основания (базальная плита), которое расположено на цитоплазматической мембране, мембранного комплекса, проходящего через периплазматическое пространство и соединяющего цитоплазматическую и внешнюю мембраны, а также внешней (сократительной) и внутренней трубок (рис. 1). Сборка СС6Т в клетке начинается с мембранного комплекса, включающего три белка Vas (virulence-associated secretion): VasD (липопротеин внешней мембраны), VasF (белок цитоплазматической мембраны) и VasK, соединяющий белки внешней и внутренней мембран. При этом последний является важным белком СС6Т, мутации в гене vasK приводят к отсутствию секреции эффекторов. На цитоплазматической мембране данный комплекс прикрепляется к основанию, состоящему из белков HsiF, VasA, VasB, VasE [4, 12, 13].

Со стороны цитоплазмы к основанию присоединяется внешняя сократительная трубка (оболочка), основу которой составляют белки VipA и VipB (рис. 1). На конце данной трубки находится белок VasJ, способствующий полимеризации и стабилизации указанной структуры, а также TagA, ограничивающий ее полимеризацию. При мутации в гене tagA формируется очень длинная сократительная трубка, образующая изгибы, которая в итоге может оторваться от основания [14, 15].

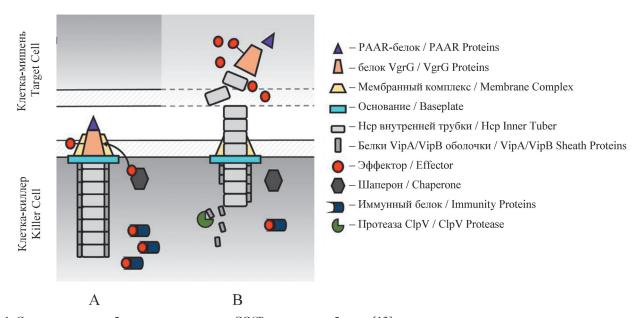


Рис. 1. Схематическое изображение компонентов СС6Т холерного вибриона [13]: A – в интактном состоянии; B – при поражении клетки-мишени

Fig. 1. Schematic representation of the components of *Vibrio cholerae* SS6T [13]: A – in intact state; B – when the target cell is damaged

Внутри сократительной трубки расположена внутренняя трубка, включающая кольца белка Нср (hemolysin-coregulated protein). На верхнем конце Нер-трубки находятся белки VgrG (valine-glycine repeat protein G), образующие треугольный наконечник. Разные штаммы холерного вибриона могут содержать несколько (от 1 до 5) видов белка VgrG, имеющих идентичный аминотерминальный (N) конец, но различающихся по энзиматической активности в карбоксильном (C) участке. К белкам VgrG присоединяются эффекторы, которые доставляются на наконечник внутренней трубки с помощью адапторов или белков-шаперонов, а также белки PAAR (prolinealanine-alanine-arginine). PAAR-белки образуют конусообразную структуру («копье»), которая как шприц прокалывает мембрану клетки-мишени при сжимании сократительной трубки (рис. 1) [4, 13, 16].

Внешняя и внутренняя трубки собираются в клетке примерно в течение 30 секунд и могут оставаться в неактивном состоянии несколько минут, пока не поступит сигнал, вызывающий быстрое сокращение внешней оболочки и перемещение внутренней трубки в клетку-мишень [12]. В отличие от токсичного комплекса (Hcp/VgrG/PAAR/эффектор), доставляемого в клетки-мишени, сократительная трубка остается в клетках хозяина и впоследствии разрушается протеазой ClpV [17, 12].

Тенетическая организация и характеристика эффекторов. Гены, кодирующие белки СС6Т, расположены на одном большом участке (VCA0105-VCA0124) второй хромосомы *V. cholerae* и нескольких дополнительных или вспомогательных (auxiliary) кластерах (рис. 2). Установлено, что все токсигенные пандемические штаммы *V. cholerae* содержат иден-

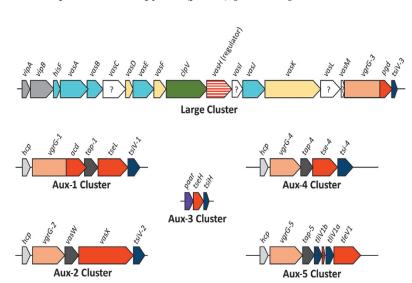


Рис. 2. Генетическое строение СС6Т холерного вибриона [13]:

Large cluster – большой кластер; Aux-1, 2, 3, 4, 5 – вспомогательные кластеры. Гены, кодирующие белки с идентичной функцией, отмечены одинаковым цветом. Цвет генов соответствует кодируемым белкам, приведенным на рис. 1

Fig. 2. Genetic structure of SS6T in cholera vibrio [13]: Large cluster; Aux-1, 2, 3, 4, 5 – auxiliary clusters. Genes encoding proteins with identical function are marked with the same color. The color of the genes corresponds to the encoded proteins shown in Fig. 1

тичный набор СС6Т-генов, или А-тип (большой кластер, Aux-1, Aux-2), в то же время в водных нетоксигенных штаммах их состав вариабелен [18, 19].

В центральной части большого кластера расположен ген vasH, кодирующий регуляторный белок VasH. Для активации транскрипции генов СС6Т данный регулятор взаимодействует с альтернативным сигма-фактором σ^{54} (белок RpoN) [4, 12, 13, 20]. Белок VasH имеет молекулярную массу 59 kD, включает 530 аминокислот и состоит из трех функциональных участков: N-терминального; центрального, обеспечивающего связывание с RpoN; и С-терминального ДНК-связывающего. Ген vasH имеется в геноме всех штаммов холерного вибриона, но его структура отличается значительным полиморфизмом [21, 22].

Учитывая ключевую роль регуляторного белка VasH в функционировании СС6Т, мы изучили структуру гена vasH у 40 токсигенных и нетоксигенных штаммов V. cholerae O1-серогруппы биовара Эль Тор, выделенных от больных и из внешней среды на территории Российской Федерации в разные периоды текущей седьмой пандемии холеры (с 1970 по 2014 год). У всех изученных токсигенных штаммов $ctxA^+tcpA^+$ структура гена vasH соответствовала нуклеотидной последовательности данного гена референс-штамма V. cholerae N16961 O1-серогруппы биовара Эль Тор. В то же время нетоксигенные $(ctxA^{-})$ штаммы образовывали две группы. В первую вошли клинические и водные изоляты, имеющие, как и токсигенные штаммы, интактный ген vasH. Отличительной генетической особенностью данной группы нетоксигенных штаммов является наличие гена tcpA, кодирующего биосинтез основной субъединицы токсин-корегулируемых пилей адгезии (изоляты $ctxA^{-}tcpA^{+}$). Вторую группу составили штаммы $ctxA^{-}tcpA^{-}$, у которых структура гена vasH была вариабельной со множеством единичных замен нуклеотидов (SNP) и делеций. Необходимо отметить, что в ранее проведенной работе отмечена гетерогенность данных штаммов и по структуре других генов в геноме [23]. Таким образом, при анализе штаммов *V. cholerae* О1 биовара Эль Тор, выделенных на территории России, подтверждены ранее полученные данные литературы о наличии интактного гена vasH у токсигенных штаммов $ctxA^+tcpA^+$ V. chole*rae* и вариабельного – у изолятов $ctxA^{-}tcpA^{-}$. В то же время установлено, что нетоксигенные изоляты $ctxA^{-}tcpA^{+}$, так же как и токсигенные штаммы $ctxA^+tcpA^+$, содержат интактный ген vasH. На основе полученных данных можно высказать предположение, что механизмы регуляции СС6Т у изолятов ctxA-tcpA+ V. cholerae O1 биовара Эль Тор будут подобны таковым токсигенных штаммов, но для подтверждения данного предположения необходимы дальнейшие исследования.

Кроме гена vasH большой кластер также содержит гены, кодирующие структурные белки мембранного комплекса, базальной структуры, наружной и внутренней трубок, наконечника (vgrG-3) и протеазу

СlpV (рис. 2) [4, 12, 13]. Белок VgrG-3, кодируемый соответствующим геном большого кластера, обладает эффекторными свойствами. На его карбоксильном конце расположен домен с лизоцимной активностью, который разрушает пептидогликановый слой бактерий. Рядом с геном vgrG-3 находится ген иммунного белка tsiV-3 [19, 24]. Большой кластер не содержит гены, отвечающие за продукцию гемолизина Нср, которые размещены на дополнительных Аих-кластерах.

Аих-кластеры, кроме гена hcp, включают гены, отвечающие за биосинтез эффекторов, иммунных белков и белков-шаперонов (рис. 2). Так, на Aux-1 находится ген tseL, отвечающий за биосинтез липазы TseL, разрушающей цитоплазматическую мембрану прокариотических клеток и оболочку эукариотических клеток. Рядом с tseL расположен ген иммунного белка TsiV-1. В доставке липазы TseL на конус внутренней трубки участвует шаперон Тар-1, кодируемый соответствующим геном. Тар-1 является химерным белком, содержащим VgrG-связывающий N-концевой домен и TseL-связывающий С-концевой участок. Белок VgrG-1, кодируемый расположенным на данном кластере геном vgrG-1, содержит С-концевой домен, связывающий мономеры актина, что приводит к повреждению цитоскелета эукариотических клеток. На кластере Aux-2 расположен ген vasX, кодирующий порообразующий токсин, обладающий колицин-подобной активностью и разрушающий цитоплазматическую мембрану как эукариотических, так прокариотических клеток. Доставку VasX-эффектора на наконечник Нсртрубки, где он связывается с белком VgrG-2, осуществляет шаперон VasW. Гены vgrG-2 и vasW также расположены на кластере Aux-2 [3, 24-26].

Многие штаммы *V. cholerae* содержат дополнительные кластеры Aux-4 и Aux-5, которые имеют схожую с кластерами Aux-1 и Aux-2 структурную организацию. Функция эффектора, расположенного на Aux-4, неизвестна, а Aux-5 содержит ген *tleV1*, кодирующий липазу TleV1, которая разрушает цитоплазматическую мембрану прокариот [13, 16].

Отличающийся от других Аих-кластеров, Аих-3 впервые обнаружен в 2015 г. Е. Altindis et al. [27] в токсигенных штаммах V. cholerae O1-серогруппы классического и Эль Тор биоваров. Данный элемент размером 6 kb получил обозначение Aux-3^P. На хромосоме рядом с участком Aux-3 расположены гены сайт-специфической рекомбиназы и интегразы. Данный кластер заметно короче других Аих-локусов СС6Т и имеет уникальное строение (рис. 2). Кроме генов, кодирующих эффектор (гидролаза TseH) и иммунный (TsiH) белок, данный участок содержит ген, ответственный за продукцию адапторного РААR-белка. Гидролаза TseH разрушает пептидогликановый слой прокариот. Установлено, что данный эффектор начинает активно экспрессироваться при наличии в среде обитания определенных видов бактерий, в том числе Aeromonas и Edwardsiella.

Указанные бактерии являются распространенными патогенами рыб, и, возможно, экспрессия TseH дает конкурентные преимущества холерному вибриону при колонизации рыб [28, 29]. Некоторые нетоксигенные водные штаммы холерного вибриона также содержат Аих-3, но размер данного кластера, обозначенного как Aux-3^E, намного больше Aux-3^P и составляет примерно 40 kb. Высказывается предположение, что редукция указанного мобильного элемента способствовала повышению конкурентных свойств патогена и была важным шагом при формировании пандемических клонов V. cholerae [27, 29, 30]. Aux-3^P является стабильным элементом, в то же время Аих-3^E может быть легко удален из хромосомы водных вибрионов или интегрирован в нее посредством сайт-специфической рекомбинации. Высказано предположение, что причинами стабильности данного кластера у пандемических штаммов являются наличие неактивной интегразы, имеющей усеченный С-концевой участок, а также отсутствие гена, кодирующего фактор направленной рекомбинации (RDF), который имеется на Aux-3^E водных штаммов [29].

Стоит отметить, что гены, кодирующие эффекторные белки, располагаются рядом с генами, ответственными за биосинтез иммунных белков, нейтрализующих действие соответствующего эффектора при его нахождении в цитоплазме собственных клеток [13, 16, 18]. Обычно при повреждении гена иммунного белка клетки становятся чувствительными к действию соответствующего эффектора. Однако установлено, что при делеции в гене *tsiH*, расположенном на Aux-3, двухкомпонентная система VxrAB реагирует на повреждение клеточной стенки *V. cholerae*, вызванное TseH, и быстро индуцирует экспрессию генов репарации пептидогликанового слоя [28].

Структура генов, кодирующих эффекторы и соответствующие им иммунные белки у нетоксигенных водных штаммов *V. cholerae*, сильно изменчива [18]. Возможно, разнообразие пар «эффектор — иммунитет» способствует повышению конкурентных свойств данных штаммов *V. cholerae*. Стоит отметить, что механизмы доминирования одного штамма холерного вибриона над другим до конца не установлены. Возможно, кроме различий в скорости роста бактериальной популяции, весомый вклад в данный процесс вносит и СС6Т. При этом селективное преимущество штамма определяется как арсеналом синтезируемых эффекторов, так и скоростью активации СС6Т и механизмом ее регуляции [31, 32].

Некоторые исследователи отмечают, что повышенная экспрессия ряда эффекторов коррелирует с увеличенной способностью *V. cholerae* к колонизации кишечника лабораторных животных (крольчатасосунки, новорожденные мыши), что доказывает участие СС6Т в инфекционном процессе [8, 9, 11]. А. Joshi *et al.* высказали предположение, что эффективная колонизация кишечника штаммами *V. cholerae* с повышенным биосинтезом эффекторных

белков происходит в результате уничтожения ими микробиоты хозяина, населяющей кишечный тракт и препятствующей прикреплению патогена к эпителиоцитам тонкой кишки [12].

Таким образом, у холерного вибриона выявлено значительное количество белков, обладающих эффекторными свойствами. Часть из них поражают исключительно эукариотические (VgrG-1) или бактериальные (TleV-1, TseH, VgrG-3) формы, а некоторые (VasX, TseL) разрушают как эукариотические, так и прокариотические клетки. Установлено, что пандемические штаммы *V. cholerae* содержат гены, кодирующие идентичный набор эффекторов, включающий липазу TseL, порообразующий колицин VasX, лизоцим VgrG-3 и гидролазу TseH. Активность этих эффекторов в собственных клетках нейтрализуется взаимодействием с иммунными белками соответственно TsiV1, TsiV2, TsiV3 и TsiH.

Регуляция системы секреции 6-го типа. Регуляция СС6Т у холерного вибриона до конца не изучена и отличается в разных штаммах V. cholerae. Показано участие различных глобальных регуляторных белков и сигналов внешней среды в данном процессе (рис. 3). Регуляция экспрессии белков СС6Т наиболее изучена у штамма V. cholerae V52 О37-серогруппы, а также у токсигенных изолятов V. cholerae O1-серогруппы биовара Эль Тор. В нетоксигенных штаммах V. cholerae O1 биовара Эль Тор, выделенных из внешней среды, наблюдается активная экспрессия белков СС6Т, что, видимо, обусловлено необходимостью выживать в условиях большой конкуренции со стороны многочисленных бактерий и простейших в водной среде. Однако механизмы и сигналы внешней среды, регулирующие работу СС6Т у данных изолятов, пока не исследова-

В штамме V52 транскрипция генов большого кластера СС6Т, а также Aux-1 и Aux-2 контролируется белком TfoY, структура которого подобна регулятору TfoX токсигенных клинических штаммов V. cholerae O1-серогруппы. Экспрессия TfoY зависит от концентрации в клетках вторичного мессенджера — циклического дигуанилата (c-di-GMP), который регулирует транскрипцию значительного количества генов в штаммах холерного вибриона [34]. Повышенное содержание c-di-GMP в клетках блокирует экспрессию белка TfoY, в то же время при уменьшении концентрации c-di-GMP его биосинтез возрастает и начинается продукция белков СС6Т (рис. 3) [13, 34].

Согласно данным литературы, типичные токсигенные штаммы *V. cholerae* O1-серогруппы биовара Эль Тор, явившиеся возбудителями текущей (седьмой) пандемии холеры, содержат полностью функциональную СС6Т, но при их культивировании на питательных средах она является неактивной. Биосинтез белков СС6Т в данных штаммах происходит *in vitro* только в определенных условиях (повышенная осмолярность, сниженная температура),

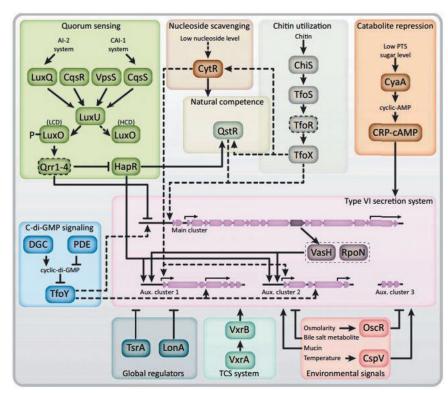


Рис. 3. Модель регуляторной сети, контролирующей экспрессию белков системы секреции 6-го типа в различных штаммах *V. chole-rae* [12]:

Сплошные линии указывают на установленный механизм регуляции; пунктирные — на предполагаемый

Fig. 3. Model of the regulatory network that controls the expression of proteins of the type VI secretion system in various strains of *V. cholerae* [12]:

The solid lines indicate the established regulatory mechanism; the dotted lines indicate the putative one

а также *in vivo* [22, 33]. Ранее нами было проведено сравнительное масс-спектрометрическое сканирование белков из лизатов клеток двух токсигенных клинических штаммов V. cholerae O1-серогруппы биовара Эль Тор: типичного М1062 (Астрахань, 1970) и генетически измененного М1509 (Москва, 2012), выращенных на LB-агаре при температуре 37 °C. Среди 787 белков типичного штамма М1062 действительно не выявлено ни одного белка СС6Т, в то же время у генетически измененного штамма М1509 обнаружено два белка: VipA и VipB, – участвующих в формировании внешней трубки [35]. Возможно, в циркулирующих в настоящее время генетически измененных штаммах V. cholerae O1 биовара Эль Тор произошло изменение регуляторных механизмов, что способствовало активации СС6Т, и продукция белков-эффекторов происходит при культивировании данных штаммов в лабораторных условиях, но для проверки данного предположения необходимы дополнительные исследования.

При установлении причины отсутствия экспрессии белков СС6Т у типичных токсигенных штаммов *V. cholerae* О1 биовара Эль Тор *in vitro* было выявлено, что их продукция репрессируется глобальными регуляторами LuxO и TsrA. Белок LuxO входит в состав системы Quorum Sensing (QS), контролирующей экспрессию различных генов в зависимости от плотности бактериальной популяции. QS обеспечивает взаимодействие между бактериальными клетками за счет секреции/детекции низкомолекулярных сигнальных молекул — аутоиндукторов (AI) [36]. У возбудителя холеры обнаружены несколько видов АI, среди которых наиболее хорошо изучены CAI-1 — (S)-3-гидрокситридекан-4-он и AI-2 — (2S,4S)-2-метил2,3,3,4-тетрагидрокситетрагидрофуран-борат [37].

При низкой плотности микробных клеток и, соответственно, низкой концентрации секретируемых АІ происходит фосфорилирование регуляторного белка LuxO. Взаимодействие фосфорилированного LuxO~P и сигма-субъединицы RpoN индуцирует транскрипцию малых некодирующих РНК -OrrsRNAs (Ouorum Regulatory small RNA). OrrsRNAs блокируют транскрипцию генов большого кластера СС6Т, а также связываются с белком-шапероном Hfq, образуя комплекс, подавляющий экспрессию важного QS-регулятора – белка НарR. В отсутствие НарR транскрипция генов СС6Т, расположенных на кластерах Aux-1 и Aux-2, а также регуляторного белка QstR, контролирующего экспрессию генов большого кластера, блокируется (рис. 3). В экспериментально полученных штаммах V. cholerae, имеющих мутацию в гене *luxO*, белки СС6Т активно синтезировались в токсигенных штаммах, но оставались в клетках. Для их последующей экспрессии необходимо было нарушение транскрипции гена tsrA, кодирующего негативный регулятор TsrA [8, 13, 38]. Необходимо отметить, что белок TsrA является репрессором транскрипции не только генов СС6Т, но и основных генов вирулентности – ctxAB и tcpA-F, а также генов, участвующих в образовании биопленки [8, 39]. Высказано предположение, что появление мутации в гене tsrA в природных штаммах V. cholerae O1 биовара Эль Тор приведет к появлению гипервирулентного клона [40]. Также выявлено, что кроме TsrA репрессором СС6Т являются белок FliA, участвующий в биосинтезе жгутика, и протеаза LonA [41, 42].

Еще одним сигналом, оказывающим влияние на активность СС6Т, является хитин. Как известно, холерный вибрион хорошо сохраняется в воде открытых водоемов, образуя биопленку на фитопланк-

тоне и хитиновых поверхностях зоопланктона [43]. Хитин представляет собой полимер, состоящий из повторяющихся N-ацетилглюкозаминовых остатков (GlcNAc). Активно продуцируя хитиназы ChiA-1 и ChiA-2, V. cholerae разлагает хитин до мономерных остатков GlcNAc, которые усваиваются клетками и выступают в роли сигнальных молекул. В том числе GlcNAc индуцируют способность бактерий к трансформации чужеродной ДНК, увеличивая транскрипцию главного регулятора компетентности белка TfoX. Данный белок в свою очередь повышает транскрипцию генов большего кластера (рис. 3).

Транскрипцию генов, расположенных на дополнительных кластерах Aux-1 и Aux-2, контролирует регуляторный белок CytR, участвующий в метаболизме нуклеозидов. Сигналы от HapR, TfoX и CytR интегрируются глобальным регулятором QstR, экспрессии которого достаточно для активации СС6Т [5, 6, 13, 44].

Из других сигналов внешней среды, влияющих на экспрессию белков СС6Т, активно изучается повышение осмолярности среды (340 мМ NaCl) и снижение температуры (23 °C) (данные условия подобны тем, в которых находится холерный вибрион во внешней среде). Показано, что при культивировании токсигенных штаммов V. cholerae O1-серогруппы в данных условиях увеличивается не только транскрипция осморегулятора OscR и белка теплового шока CspV, но и регистрируется активная экспрессия белков СС6Т. Например, транскрипция регуляторного белка VasH в токсигенном штамме V. cholerae A1552 О1 биовара Эль Тор увеличивалась в 2,0–2,5 раза и соответственно возрастали биосинтез и секреция гемолизина Нср [20, 33, 45].

Необходимо отметить участие в активации СС6Т еще нескольких регуляторных комплексов по не изученному пока механизму. Так, в условиях низкого содержания глюкозы циклический аденозин монофосфат (сАМР) связывается с глобальным регулятором CRP (cAMP receptor protein), который увеличивает биосинтез белка Нср [13, 46]. Недавно показано участие двухкомпонентной VxrAB-системы в позитивной регуляции экспрессии СС6Т [11]

Относительно экспрессии белков СС6Т при нахождении V. cholerae in vivo имеется очень мало данных. Показано влияние желчи, муцина и индола. Индол, присутствующий в высоких концентрациях в кишечном тракте млекопитающих, активирует экспрессию генов СС6Т in vitro, что может указывать на его участие в регуляции СС6Т и в организме человека [12, 47]. Муцин является основным компонентом слизистой оболочки кишечника. Он активирует СС6Т-опосредованный киллинг клетокмишеней, в то время как соли желчных кислот оказывают подавляющее действие, ингибируя сборку СС6Т-аппарата [48]. Активировать или подавлять работу СС6Т, а также влиять на восприимчивость макроорганизма к возбудителю могут и другие вещества, вырабатываемые естественной микрофлорой кишечника. Например, клетки Bifidobacterium bifidum способны превращать желчные кислоты в дезоксихолиевую кислоту, которая снижает активность СС6Т [48].

Таким образом, механизм функционирования СС6Т V. cholerae активно изучается, и проведение дальнейших исследований позволит лучше понять ее роль в процессах взаимодействия холерного вибриона с макроорганизмом, а также при его адаптации во внешней среде.

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

Список литературы

1. 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.
2. Bingle L.E., Bailey C.M., Pallen M.J. Type VI secretion: a beginner's guide. Curr. Opin. Microbiol. 2008; 11(1):3–8. DOI: 10.1016/j.mib.2008.01.006.

3. Ma A.T., McAuley S., Pukatzki S., Mekalanos J.J. Translocation of a *Vibrio cholerae* type VI secretion effector requires bacterial endocytosis by host cells. *Cell Host Microbe*. 2009; 5(3):234–43. DOI: 10.1016/j.chom.2009.02.005.

4. Pukatzki S., Ma A.T., Sturtevant D., Krastins B., Sarracino D., Nelson W.C., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Identification D., conserved becterial protons correction system in *Vibrio cholorga*.

a conserved bacterial protein secretion system in Vibrio cholerae

using the *Dictyostelium* host model system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2006; 103(5):1528–33. DOI: 10.1073/pnas.0510322103.

5. Watve S.S., Thomas J., Hammer B.K. CytR is a global positive regulator of competence, type VI secretion, and chitinases in *Vibrio cholerae*. *PLoS One*. 2015; 10(9):e0138834. DOI: 10.1371/ journal.pone.0138834

6. Borgeaud S., Metzger L.C., Scrignari T., Blokesch M. The type VI secretion system of *Vibrio cholerae* fosters horizontal gene

type VI secretion system of *Vibrio cholerae* tosters horizontal gene transfer. *Science*. 2015; 347:63–7. DOI: 10.1126/science.1260064.

7. Matthey N., Stutzmann S., Stoudmann C., Guex N., Iseli C., Blokesch M. Neighbor predation linked to natural competence fosters the transfer of large genomic regions in *Vibrio cholerae*. *eLife*. 2019; 8:e48212. DOI: 10.7554/eLife.48212.

8. Zheng J., Shin O.S., Cameron D.E., Mekalanos J.J. Quorum sensing and a global regulator TsrA control expression of type VI servation and virulence in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*.

sensing and a global regulator 1stA control expression of type V1 secretion and virulence in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2010; 107(49):21128–33. DOI: 10.1073/pnas.1014998107.

9. Fu Y., Waldor M.K., Mekalanos J.J. Tn-Seq analysis of *Vibrio cholerae* intestinal colonization reveals a role for T6SS-mediated antibacterial activity in the host. *Cell Host Microbe*. 2013; 14(6):652–63. DOI: 10.1016/j.chom.2013.11.001.

10. Монахова Е.В. Стратегия вирулентности холерных вибрионов и пути ее реализации (обзор). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 4:60–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-60-68.

инфекции. 2013, 4.00-6. DOI. 10.2103/03/0-1009-2015-4-00-68.

11. Cheng A.T., Ottemann K.M., Yildiz F.H. Vibrio cholerae response regulator VxrB controls colonization and regulates the type VI secretion system. PLoS Pathog. 2015; 11(5):e1004933. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004933.

12. Joshi A., Kostiuk B., Rogers A., Teschler J., Pukatzki S., Yildiz F.H. Rules of engagement: the type VI secretion system in *Vibrio cholerae. Trend. Microbiol.* 2017; 25(4):267–79. DOI: 10.1016/j.tim.2016.12.003.

13. Crisan C.V., Hammer B.K. The Vibrio cholerae type VI

13. 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. 14. Schneider J.P., Nazarov S., Adaixo R., Liuzzo M., Ringel P.D., Stahlberg H., Basler M. Diverse roles of TssA-like proteins in the assembly of bacterial type VI secretion systems. *EMBO J*. 2019; 38(18):e100825. DOI: 10.15252/embj.2018100825. 15. Bernal P., Furniss R.C.D., Fecht S., Leung R.C.Y., Spiga L., Mavridou D.A.I., Filloux A. A novel stabilization mechanism for the type VI secretion system sheath. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2021.

L., Mavridou D.A.İ., Filloux A. A novel stabilization mechanism for the type VI secretion system sheath. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2021; 118(7):e2008500118. DOI: 10.1073/pnas.2008500118.

16. Crisan C.V., Chande A.T., Williams K., Raghuram V., Rishishwar L., Steinbach G., Watve S.S., Yunker P., Jordan I.K., Hammer B.K. Analysis of *Vibrio cholerae* genomes identifies new type VI secretion system gene clusters. *Genome Biol.* 2019; 20(1):163. DOI: 10.1186/s13059-019-1765-5.

17. Bönemann G., Pietrosiuk A., Diemand A., Zentgraf H., Mogk A. Remodelling of VipA/VipB tubules by ClpV-mediated threading is crucial for type VI protein secretion. *EMBO J.* 2009; 28(4):315–25. DOI: 10.1038/emboj.2008.269.

18. Unterweger D., Miyata S.T., Bachmann V., Brooks T.M., Mullins T., Kostiuk B., Provenzano D., Pukatzki S. The *Vibrio chole-rae* type VI secretion system employs diverse effector modules for intraspecific competition. *Nat. Commun.* 2014; 5:3549. DOI: 10.1038/ncomms4549

10.1038/ncomms4549.
19. Kirchberger P.C., Unterweger D., Provenzano D., Pukatzki S., Boucher Y. Sequential displacement of type VI secretion system effector genes leads to evolution of diverse immunity gene arrays in Vibrio cholerae. Sci. Rep. 2017; 7:45133. DOI: 10.1038/srep45133.
20. Seibt H., Aung K.M., Ishikawa T., Sjöström A., Gullberg M., Atkinson G.C., Wai S.N., Shingler V. Elevated levels of VCA0117.

20. Seibt H., Aung K.M., Ishikawa T., Sjöström A., Gullberg M., Atkinson G.C., Wai S.N., Shingler V. Elevated levels of VCA0117 (VasH) in response to external signals activate the type VI secretion system of Vibrio cholerae O1 El Tor A1552. Environ. Microbiol. 2020; 22(10):4409–23. DOI: 10.1111/1462-2920.15141.

21. Bernard C.S., Brunet Y.R., Gavioli M., Lloubès R., Cascales E. Regulation of type VI secretion gene clusters by sigma54 and cognate enhancer binding proteins. J. Bacteriol. 2011; 193(9):2158–67. DOI: 10.1128/JB.00029-11.

22. Kitaoka M., Miyata S.T., Brooks T.M., Unterweger D., Pukatzki S. VasH is a transcriptional regulator of the type VI secretion system functional in endemic and pandemic Vibrio cholerae. J. Bacteriol. 2011; 193(23):6471–82. DOI: 10.1128/JB.05414-11.

23. Смирнова Н.И., Крицкий А.А., Альхова Ж.В., Агафонова Е.Ю., IЩелканова Е.Ю., Баданин Д.В., Кутырев В.В. Вариабельность генома островов патогенности нетоксигенных штаммов Vibrio cholerae O1 биовара Эль Тор. Генетика. 2020; 56(9): 1018–33. DOI: 10.31857/S0016675820080147.

24. Zheng J., Но В., Мекаlanos Ј.J. Genetic analysis of antiamoebae and anti-bacterial activities of the type VI secretion system in Vibrio cholerae. PLoS One. 2011; 6(8):e23876. DOI: 10.1371/journal.pone.0023876.

25. Dong T.G., Ho B.T., Yoder-Himes D.R., Mekalanos J.J. Identification of T6SS-dependent effector and immunity proteins by Tn-seq in Vibrio cholerae. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2013; 110(7):2623–8. DOI: 10.1073/pnas.1222783110.

26. Miyata S.T., Unterweger D., Rudko S.P., Pukatzki S. Dual expression profile of type VI secretion system immunity genes protects pandemic Vibrio cholerae. PLoS Pathog. 2013: 9(12):e1003752.

expression profile of type VI secretion system immunity genes protects pandemic *Vibrio cholerae*. *PLoS Pathog*. 2013; 9(12):e1003752.

DOI: 10.1371/journal.ppat.1003752.
27. Altindis E., Dong T., Catalano C., Mekalanos J. Secretome analysis of *Vibrio cholerae* type VI secretion system reveals a new effector-immunity pair. *mBio*. 2015; 6(2):e00075. DOI: 10.1128/ mBio.00075-15.

28. Hersch S.J., Watanabe N., Stietz M.S., Manera K., Kamal F., Burkinshaw B., Lam L., Pun A., Li M., Savchenko A., Dong T.G. Envelope stress responses defend against type six secretion system

attacks independently of immunity proteins. *Nat. Microbiol.* 2020; 5(5):706–14. DOI: 10.1038/s41564-020-0672-6.

29. Santoriello F.J., Pukatzki S. When the pandemic opts for the lockdown: Secretion system evolution in the cholera bacterium. *Microb. Cell.* 2021; 8(3):69–72. DOI: 10.15698/mic2021.03.744.

30. Santoriello F.J., Michel L., Unterweger D., Pukatzki S. Pandemic *Vibrio cholerae* shuts down site-specific recombination to retain an interpacterial defence mechanism. *Nat. Commun.* 2020:

to retain an interbacterial defence mechanism. Nat. Commun. 2020;

11(1):6246. DOI: 10.1038/s41467020-20012-7.
31. Borenstein D.B., Ringe P., Basler M., Wingreen N.S. Established microbial colonies can survive type VI secretion assault. *PLoS Comput. Biol.* 2015; 11(10):e1004520. DOI: 10.1371/journal. pcbi.1004520.

32. Wong M., Liang X., Smart M., Tang L., Moore R., Ingalls B., Dong T.G. Microbial herd protection mediated by antagonistic

B., Dong T.G. Microbial herd protection mediated by antagonistic interaction in polymicrobial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82(23):6881–8. DOI: 10.1128/AEM.02210-16.
33. Ishikawa T., Sabharwal D., Bröms J., Milton D.L., Sjöstedt A., Uhlin B.E., Wai S.N. Pathoadaptive conditional regulation of the type VI secretion system in *Vibrio cholerae* O1 strains. *Infect. Immun.* 2012; 80(2):575–84. DOI: 10.1128/IAI.05510-11.
34. Metzger L.C., Stutzmann S., Scrignari T., Van der Henst C., Matthey N., Blokesch M. Independent regulation of type VI secretion in *Vibrio cholerae* by TfoX and TfoY. *Cell Rep.* 2016; 15(5):951–8. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.03.092.
35. Заднова С.П., Баданин Д.В., Плеханов Н.А., Полунина Т.А., Котова Н.В., Крицкий А.А., Федоров А.В., Краснов Я.М. Сравнительные протеомные профили типичного штамма и генетически измененного варианта *Vibrio cholerae* Q1 серогрупсравнительные протеомные профили типичного штамма и гренентически измененного варианта Vibrio cholerae O1 серогрупны биовара Эль Тор. Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 3:150–3. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-150-153.

36. Waters C.M., Bassler B.L. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2005; 21:319–46. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131001.

37. Higgins D.A., Pomianek M.E., Kraml C.M., Taylor R.K., Semmelhack M.F., Bassler B.L. The major *Vibrio cholerae* auto-inducer and its role in virulence factor production. *Nature*. 2007; 450:883–6. DOI: 10.1038/nature06284.

38. Shao Y., Bassler B.L. Quorum regulatory small RNAs repress type VI secretion in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol*. 2014; 92(5):921–30. DOI: 10.1111/mmi.12599.

39. Frederick A., Huang Y., Pu M., Rowe-Magnus D.A. *Vibrio cholerae* type VI activity alters motility behavior in mucin. *J. Bacteriol.* 2020; 202(24):e00261-20. DOI: 10.1128/JB.00261-20. 40. Caro F., Caro J.A., Place N.M., Mekalanos J.J. Transcriptional silencing by TsrA in the evolution of pathogenic *Vibrio cholerae* biotypes. *mBio.* 2020; 11(6):e02901-20. DOI: 10.1128/mBio.02901-20.

10.1128/mBio.02901-20.
41. Syed K.A., Beyhan S., Correa N., Queen J., Liu J., Peng F., Satchell K.J.F., Yildiz F., Klose K.E. The *Vibrio cholerae* flagellar regulatory hierarchy controls expression of virulence factors. *J. Bacteriol.* 2009; 191(21):6555–70. DOI: 10.1128/JB.00949-09.
42. Liu Z., Miyashiro T., Tsou A., Hsiao A., Goulian M., Zhu J. Mucosal penetration primes *Vibrio cholerae* for host colonization by repressing quorum sensing. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008; 105(28):9769–74. DOI: 10.1073/pnas.0802241105.
43. Vezzulli L., Pruzzo C., Huq A., Colwell R.R. Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae* and their role in cholera. *Environ. Microbiol. Rep.* 2010; 2(1):27–33. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2009.00128.x.
44. Meibom K.L., Blokesch M., Dolganov N.A., Wu C.Y.

10.1111/j.1758-2229.2009.00128.x.

44. Meibom K.L., Blokesch M., Dolganov N.A., Wu C.Y., Schoolnik G.K. Chitin induces natural competence in *Vibrio cholerae*. Science. 2005; 310:1824–7. DOI: 10.1126/science.1120096.

45. Townsley L., Mangus M.P.S., Mehic S., Yildiz F.H. Response of *Vibrio cholerae* to low-temperature shifts: CspV regulation of type VI secretion, biofilm formation, and association with zooplankton. Appl. Environ. Microbiol. 2016; 82(14):4441–52. DOI: 10.1128/AEM.00807-16.

46. Ishikawa T., Rompikuntal P.K., Lindmark B., Milton D.L., Wai S.N. Quorum sensing regulation of the two hcp alleles in Vibrio cholerae OI strains. PLoS One. 2009; 4(8):e6734. DOI: 10.1371/journal.pone.0006734.

journal.pone.0006734. 47. Mueller R S Journal.pone.0006/34.
47. Mueller R.S., Beyhan S., Saini S.G., Yildiz F.H., Bartlett D.H. Indole acts as an extracellular cue regulating gene expression in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol*. 2009; 191(11):3504–16.

DOI: 10.1128/JB.01240-08. 48. Bachmann V., Kostiuk B., Unterweger D., Diaz-Satizabal L Ogg S., Pukatzki S. Bile salts modulate the mucin-activated type VI secretion system of pandemic *Vibrio cholerae*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(8):e0004031. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004031.

References

1. 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.
2. Bingle L.E., Bailey C.M., Pallen M.J. Type VI secretion: a beginner's guide. *Curr. Opin. Microbiol.* 2008; 11(1):3–8. DOI: 10.1016/j.mib.2008.01.006.
3. Ma A.T., McAuley S., Pukatzki S., Mekalanos J.J. Translocation of a *Vibrio cholerae* type VI secretion effector requires bacterial endocytosis by host cells. *Cell Host Microbe.* 2009; 5(3):234–43. DOI: 10.1016/j.chom.2009.02.005

5(3):234–43. DOI: 10.1016/j.chom.2009.02.005.
4. Pukatzki S., Ma A.T., Sturtevant D., Krastins B., Sarracino D., Nelson W.C., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Identification of a conserved bacterial protein secretion system in Vibrio cholerae

using the *Dictyostelium* host model system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103(5):1528–33. DOI: 10.1073/pnas.0510322103.

5. Watve S.S., Thomas J., Hammer B.K. CytR is a global positive regulator of competence, type VI secretion, and chitinases in *Vibrio cholerae. PLoS One.* 2015; 10(9):e0138834. DOI: 10.1371/

journal.pone.0138834.

Journal.pone.0138834.
6. Borgeaud S., Metzger L.C., Scrignari T., Blokesch M. The type VI secretion system of *Vibrio cholerae* fosters horizontal gene transfer. *Science*. 2015; 347:63–7. DOI: 10.1126/science.1260064.
7. Matthey N., Stutzmann S., Stoudmann C., Guex N., Iseli C., Blokesch M. Neighbor predation linked to natural competence fosters the transfer of large genomic regions in *Vibrio cholerae*. *eLife*. 2019; 8:e48212. DOI: 10.7554/eLife.48212.
8. Zheng J., Shin O.S., Cameron D.E., Mekalanos J.J. Quorum sensing and a clobal regulator TsrA control expression of type VI sensing and a clobal regulator.

sensing and a global regulator TsrA control expression of type VI secretion and virulence in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2010; 107(49):21128–33. DOI: 10.1073/pnas.1014998107.

9. Fu Y., Waldor M.K., Mekalanos J.J. Tn-Seq analysis of Vibrio cholerae intestinal colonization reveals a role for T6SS-mediated antibacterial activity in the host. Cell Host Microbe. 2013; 14(6):652–63. DOI: 10.1016/j.chom.2013.11.001.

10. Monakhova E.V. [Cholera vibrio virulence strategy and ways of its realization (scientific review)]. Problemy Osobo Operated Infections of Particularly Degreeous Infections of

and ways of its realization (scientific review)]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (4):60–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-60-68.

11. Cheng A.T., Ottemann K.M., Yildiz F.H. *Vibrio cholerae* response regulator VxrB controls colonization and regulates the type VI secretion system. *PLoS Pathog*. 2015; 11(5):e1004933. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004933.

12. Joshi A., Kostiuk B., Rogers A., Teschler J., Pukatzki S., Yildiz F.H. Rules of engagement: the type VI secretion system in *Vibrio cholerae*. *Trend. Microbiol*. 2017; 25(4):267–79. DOI: 10.1016/j. tim. 2016. 12.003 10.1016/j.tim.2016.12.003.

13. 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.

14. Schneider J.P., Nazarov S., Adaixo R., Liuzzo M., Ringel P.D., Stahlberg H., Basler M. Diverse roles of TssA-like proteins in the assembly of bacterial type VI secretion systems. *EMBO J.* 2019; 38(18):e100825. DOI: 10.15252/embj.2018100825.

15. Bernal P., Furniss R.C.D., Fecht S., Leung R.C.Y., Spiga L., Mavridou D.A.I., Filloux A. A novel stabilization mechanism for the true VI coercition with the Pres. VI coercition with the vivial with the pres. VI coercition with th

L., Mavridou D.A.I., Filloux A. A novel stabilization mechanism for the type VI secretion system sheath. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2021; 118(7):e2008500118. DOI: 10.1073/pnas.2008500118.

16. Crisan C.V., Chande A.T., Williams K., Raghuram V., Rishishwar L., Steinbach G., Watve S.S., Yunker P., Jordan I.K., Hammer B.K. Analysis of *Vibrio cholerae* genomes identifies new type VI secretion system gene clusters. *Genome Biol.* 2019; 20(1):163. DOI: 10.1186/s13059-019-1765-5.

17. Bönemann G., Pietrosiuk A., Diemand A., Zentgraf H., Mogk A. Remodelling of VipA/VipB tubules by ClpV-mediated threading is crucial for type VI protein secretion. *EMBO J.* 2009; 28(4):315–25. DOI: 10.1038/emboj.2008.269.

18. Unterweger D., Miyata S.T., Bachmann V., Brooks T.M., Mullins T., Kostiuk B., Provenzano D., Pukatzki S. The *Vibrio cholerae* type VI secretion system employs diverse effector modules for intraspecific competition. *Nat. Commun.* 2014; 5:3549. DOI: 10.1038/ncomms4549.

ncomms4549

19. Kirchberger P.C., Unterweger D., Provenzano D., Pukatzki Boucher Y. Sequential displacement of type VI secretion system

Si. Bottellar I. Sederlard insplacement of type VI secterior system effector genes leads to evolution of diverse immunity gene arrays in Vibrio cholerae. Sci. Rep. 2017; 7:45133. DOI: 10.1038/srep45133.

20. Seibt H., Aung K.M., Ishikawa T., Sjöström A., Gullberg M., Atkinson G.C., Wai S.N., Shingler V. Elevated levels of VCA0117 (VásH) in response to external signals activate the type VI secretion system of *Vibrio cholerae* O1 El Tor A1552. *Environ. Microbiol.* 2020; 22(10):4409–23. DOI: 10.1111/1462-2920.15141.

2020; 22(10):4409–23. DOI: 10.1111/1462-2920.15141.

21. Bernard C.S., Brunet Y.R., Gavioli M., Lloubès R., Cascales E. Regulation of type VI secretion gene clusters by sigma54 and cognate enhancer binding proteins. *J. Bacteriol.* 2011; 193(9):2158–67. DOI: 10.1128/JB.00029-11.

22. Kitaoka M., Miyata S.T., Brooks T.M., Unterweger D., Pukatzki S. VasH is a transcriptional regulator of the type VI secretion system functional in endemic and pandemic *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2011; 193(23):6471–82. DOI: 10.1128/JB.05414-11.

23. Smirnova N.I., Kritsky A.A., Al'khova J.V., Agafonova E.Yu., Shchelkanova E.Yu., Badanin D.V., Kutyrev V.V. [Genomic variability of pathogenicity islands in nontoxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor]. *Russian J. Genetics*. 2020; 56(9):1018–33. DOI: 10.31857/S0016675820080147.

24. Zheng J., Ho B., Mekalanos J.J. Genetic analysis of antiamoebae and anti-bacterial activities of the type VI secretion system in *Vibrio cholerae*. *PLoS One*. 2011; 6(8):e23876. DOI: 10.1371/journal.pone.0023876.

in *Vibrio cholerae*. *PLoS One*. 2011; 6(8):e23876. DOI: 10.1371/journal.pone.0023876.

25. Dong T.G., Ho B.T., Yoder-Himes D.R., Mekalanos J.J. Identification of T6SS-dependent effector and immunity proteins by Tn-seq in *Vibrio cholerae*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(7):2623–8. DOI: 10.1073/pnas.1222783110.

26. Miyata S.T., Unterweger D., Rudko S.P., Pukatzki S. Dual expression profile of type VI secretion system immunity genes protects pandemic *Vibrio cholerae*. *PLoS Pathog*. 2013; 9(12):e1003752. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003752.

27. Altindis E., Dong T., Catalano C., Mekalanos J. Secretome analysis of *Vibrio cholerae* type VI secretion system reveals a new effector-immunity pair. *mBio*. 2015; 6(2):e00075. DOI: 10.1128/mBio.00075-15.

28. Hersch S.J., Watanabe N., Stietz M.S., Manera K., Kamal F., Burkinshaw B., Lam L., Pun A., Li M., Savchenko A., Dong T.G. Envelope stress responses defend against type six secretion system attacks independently of immunity proteins. *Nat. Microbiol.* 2020; 5(5):706–14. DOI: 10.1038/s41564-020-0672-6.

29. Santoriello F.J., Pukatzki S. When the pandemic opts for the lockdown: Secretion system evolution in the cholera bacterium. *Microb. Cell.* 2021; 8(3):69–72. DOI: 10.15698/mic2021.03.744.

30. Santoriello F.J., Michel L., Unterweger D., Pukatzki S.

Pandemic Vibrio cholerae shuts down site-specific recombination ranuemic viorio cnoierae snuts down site-specific recombination to retain an interbacterial defence mechanism. Nat. Commun. 2020; 11(1):6246. DOI: 10.1038/s41467020-20012-7.

31. Borenstein D.B., Ringe P., Basler M., Wingreen N.S. Established microbial colonies can survive type VI secretion assault. PLoS Comput. Biol. 2015; 11(10):e1004520. DOI: 10.1371/journal. pcbi.1004520.

32. Wong M., Liang X., Smart M., Tang L., Moore R., Ingalls B., Dong T.G. Microbial herd protection mediated by antagonistic interaction in polymicrobial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82(23):6881–8. DOI: 10.1128/AEM.02210-16.

33. Ishikawa T., Sabharwal D., Bröms J., Milton D.L., Sjöstedt Uhlin B.E., Wai S.N. Pathoadaptive conditional regulation of the type VI secretion system in Vibrio cholerae O1 strains. Infect.

the type VI secretion system in Vibrio cholerae OI strains. Inject. Immun. 2012; 80(2):575–84. DOI: 10.1128/IAI.05510-11.

34. Metzger L.C., Stutzmann S., Scrignari T., Van der Henst C., Matthey N., Blokesch M. Independent regulation of type VI secretion in Vibrio cholerae by TfoX and TfoY. Cell Rep. 2016; 15(5):951–8.

DOI: 10.1016/j.celrep.2016.03.092.

35. Zadnova S.P., Badanin D.V., Plekhanov N.A., Polunina T.A., Kotova N.V., Kritsky A.A., Fedorov A.V., Krasnov Ya.M. [Comparative proteomic profiles of typical strain and genetically altered variant of Vibrio cholerae O1 biovar Fl Torl. Problemy Osoba. comparative proteonic profiles of typical strain and genetically aftered variant of Vibrio cholerae O1, biovar El Tor]. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; (3):150–3. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-150-153.

36. Waters C.M., Bassler B.L. Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 2005; 21:319–46. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131001.

37. Higgins D.A., Pomianek M.E., Kraml C.M., Taylor R.K.,

46. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131001.
37. Higgins D.A., Pomianek M.E., Kraml C.M., Taylor R.K., Semmelhack M.F., Bassler B.L. The major *Vibrio cholerae* autoinducer and its role in virulence factor production. *Nature*. 2007; 450:883–6. DOI: 10.1038/nature06284.
38. Shao Y., Bassler B.L. Quorum regulatory small RNAs repress type VI secretion in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol*. 2014; 92(5):921–30. DOI: 10.1111/mmi.12599.
39. Frederick A., Huang Y., Pu M., Rowe-Magnus D.A. *Vibrio cholerae* type VI activity alters motility behavior in mucin. *J. Bacteriol*. 2020; 202(24):e00261-20. DOI: 10.1128/JB.00261-20.
40. Caro F., Caro J.A., Place N.M., Mekalanos J.J. Transcriptional silencing by TsrA in the evolution of pathogenic *Vibrio cholerae* biotypes. *mBio*. 2020; 11(6):e02901-20. DOI: 10.1128/mBio.02901-20.
41. Syed K.A., Beyhan S., Correa N., Queen J., Liu J., Peng F., Satchell K.J.F., Yildiz F., Klose K.E. The *Vibrio cholerae* flagellar regulatory hierarchy controls expression of virulence factors. *J. Bacteriol*. 2009; 191(21):6555–70. DOI: 10.1128/JB.00949-09.
42. Liu Z., Miyashiro T., Tsou A., Hsiao A., Goulian M., Zhu J. Mucosal penetration primes *Vibrio cholerae* for host colonization by repressing quorum sensing. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2008; 105(28):9769–74. DOI: 10.1073/pnas.0802241105.
43. Vezzulli L., Pruzzo C., Huq A., Colwell R.R. Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae* and their role in cholera. *Environ. Microbiol. Rep.* 2010; 2(1):27–33. DOI: 10.1111/j.1758-2229.2009.00128.x.
44. Meibom K.L., Blokesch M., Dolganov N.A., Wu C.Y., Schoolnik G.K. Chitin induces natural competence in *Vibrio chole-*

10.1111/j.1758-2229.2009.00128.x.

44. Meibom K.L., Blokesch M., Dolganov N.A., Wu C.Y., Schoolnik G.K. Chitin induces natural competence in *Vibrio cholerae*. Science. 2005; 310:1824–7. DOI: 10.1126/science.1120096.

45. Townsley L., Mangus M.P.S., Mehic S., Yildiz F.H. Response of *Vibrio cholerae* to low-temperature shifts: CspV regulation of type VI secretion, biofilm formation, and association with zooplankton. Appl. Environ. Microbiol. 2016; 82(14):4441–52. DOI: 10.1128/AEM.00807-16.

46. Ishikawa T., Rompikuntal P.K., Lindmark B., Milton D.L., Wai S.N. Quorum sensing regulation of the two hcp alleles in Vibrio cholerae O1 strains. PLoS One. 2009; 4(8):e6734. DOI: 10.1371/journal.pone.0006734.

journal.pone.0006734. 47. Mueller R.S., Beyhan S., Saini S.G., Yildiz F.H., Bartlett D.H. Indole acts as an extracellular cue regulating gene expression in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol*. 2009; 191(11):3504–16. DOI: 10.1128/JB.01240-08.

48. Bachmann V., Kostiuk B., Unterweger D., Diaz-Satizabal L., Ogg S., Pukatzki S. Bile salts modulate the mucin-activated type VI secretion system of pandemic *Vibrio cholerae*. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(8):e0004031. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004031.

Authors:

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

Kul'shan'T.A., Shvidenko I.G. Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky. 112, Bol'shaya Kazachya St., 410012, Saratov, Russian Federation. E-mail: meduniv@sgmu.ru.

Об авторах:

Оо авторах: Заднова С.П., Плеханов Н.А., Крицкий А.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Фелерания 410005. Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Кульшань Т.А., Швиденко И.Г. Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского. Российская Федерация, 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, 112. E-mail: meduniv@sgmu.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-36-45

УДК 616.98:579.841.93

Д.Г. Пономаренко¹, О.Н. Скударева², А.А. Хачатурова¹, Д.Е. Лукашевич¹, И.В. Жаринова¹, А.В. Даурова¹, А.Н. Германова¹, О.В. Логвиненко¹, Е.Л. Ракитина¹, М.В. Костюченко¹, Е.А. Манин¹, О.В. Малецкая¹, А.Н. Куличенко¹

БРУЦЕЛЛЕЗ: ТЕНДЕНЦИИ РАЗВИТИЯ СИТУАЦИИ В МИРЕ И 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

Представлен анализ тенденций развития ситуации по бруцеллезу в мире за последние десять лет и данные об основных факторах риска возникновения эпидемиологических осложнений по бруцеллезу в различных регионах мира. Дана экспертная оценка современной эпизоотолого-эпидемиологической обстановки по бруцеллезу, объемов иммунизации населения и животных в Российской Федерации. За 9 месяцев 2021 г. в России зарегистрировано 210 неблагополучных пунктов по бруцеллезу крупного рогатого скота (КРС) и 24 – по бруцеллезу мелкого рогатого скота (МРС). По сравнению с аналогичным периодом 2020 г. отмечается снижение на 35,8 % (117 пунктов) количества впервые выявленных неблагополучных пунктов по бруцеллезу КРС. Сохраняется многолетний восходящий тренд эпизоотологического неблагополучия по бруцеллезу КРС в России. Эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в стране за период 2012-2021 гг. характеризуется как неблагополучная. Снижение количества впервые выявленного бруцеллеза у людей (на 25,1 % от среднемноголетних значений) наблюдается на фоне стойкого эпизоотического неблагополучия среди эпидемиологически значимых видов МРС и КРС в регионах с развитым животноводством. В 2021 г. зарегистрированы случаи группового заболевания людей в Республике Дагестан и Пензенской области. В Республике Дагестан на фоне ухудшения эпизоотолого-эпидемиологической обстановки отмечается тревожная тенденция по сохранению относительно высокой заболеваемости бруцеллезом среди несовершеннолетних. Доля случаев бруцеллеза среди детей до 17 лет в республике составила 60,3 % от общего числа несовершеннолетних с впервые выявленным бруцеллезом в России за последние десять лет. С учетом текущих эпизоотической, эпидемической ситуаций и многолетней динамики развития ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации, в 2022 г. прогнозируется заболеваемость людей бруцеллезом на 10-15 % ниже средних многолетних значений – 0,18–0,20 на 100 тыс. населения. Количество заболеваний людей бруцеллезом может находиться в диапазоне 250-300 случаев.

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

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

Для цитирования: Пономаренко Д.Г., Скударева О.Н., Хачатурова А.А., Лукашевич Д.Е., Жаринова И.В., Даурова А.В., Германова А.Н., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Манин Е.А., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Бруцеллез: тенденции развития ситуации в мире и прогноз на 2022 г. в Российской Федерации. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:36–45. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-36-45 Поступила 17.03.2022. Принята к публ. 29.03.2022.

D.G. Ponomarenko¹, O.N. Skudareva², A.A. Khachaturova¹, D.E. Lukashevich¹, I.V. Zharinova¹, A.V. Daurova¹, A.N. Germanova¹, O.V. Logvinenko¹, E.L. Rakitina¹, M.V. Kostyuchenko¹, E.A. Manin¹, O.V. Maletskaya¹, A.N. Kulichenko¹

Brucellosis: Trends in the Development of Situation in the World and 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

Abstract. An analysis of trends in the development of situation on brucellosis in the world over past decade and the data on the main risk factors for the occurrence of epidemiological complications regarding this infection in various regions of the world are provided in the paper. An expert assessment of the current epizootiological and epidemiological situation on brucellosis, the coverage of population and animals with immunization in the Russian Federation is given. Over 9 months of 2021, 210 potentially hazardous as regards brucellosis in cattle areas and 24 sites – as regards brucellosis in small ruminants - were registered in Russia. Compared to the same period in 2020, there was a decrease in the number of newly identified hazardous sites for bovine brucellosis by 35.8 % (117 areas). However, long-term upward trend in epizootiological adversity for bovine brucellosis in Russia persists. The epidemiological situation on brucellosis in the country for the period of 2012–2021 is characterized as unfavorable. Decrease in the number of newly detected human brucellosis cases (by 25.1 % of long-term average values) is observed against the background of persistent unfavorable epizootic conditions for brucellosis among epidemiologically significant species of small ruminants and cattle in regions with developed animal husbandry. In 2021, clusters of human cases were registered in the Republic of Dagestan and Penza Region. In the Republic of Dagestan, against the background of aggravation of epizootiological and epidemiological situation on brucellosis, there was also an alarming trend towards prevalence of a relatively high incidence among minors. The proportion of cases of brucellosis among children under the age of 17 in the Republic amounted to 60.3 % of the total number of minors with newly diagnosed brucellosis in Russia over the past 10 years. Taking into account current epizootic, epidemic situations and the long-term dynamics of the development of situation on brucellosis

in the Russian Federation, the incidence of brucellosis among the population is predicted to be 10-15 % lower than the average long-term values -0.18-0.20 per 100000 of the population - in 2022. The number of human cases of brucellosis can range from 250 to 300.

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

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

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

Citation: Ponomarenko D.G., Skudareva O.N., Khachaturova A.A., Lukashevich D.E., Zharinova I.V., Daurova A.V., Germanova A.N., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Manin E.A., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Brucellosis: Trends in the Development of Situation in the World and Forecast for 2022 in the Russian Federation. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:36–45. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-36-45

Received 17.03.2022. Accepted 29.03.2022.

Ponomarenko D.G., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0422-6755 Logvinenko O.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1054-8937 Rakitina E.L., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6073-6544 Kostyuchenko M.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6068-6655 Manin E.A., ORCID: https://orcid.org/ 0000-0001-8163-7844 Maletskaya O.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3003-4952 Kulichenko A.N., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9362-3949

Бруцеллез остается одной из наиболее распространенных инфекций в группе особо опасных зоонозов. По уровню наносимого экономического ущерба бруцеллез продолжает занимать одно из ведущих мест, а его ликвидация остается крайне трудно решаемой проблемой. В мире ежегодно подтверждается более 500 тыс. случаев впервые выявленной бруцеллезной инфекции среди людей. До 70-80 % заболеваемости бруцеллезом в мире регистрируется на территориях интенсивного разведения скота в регионах Ближнего Востока, Средиземноморья, Африки, Юго-Восточной Азии, Южной и Центральной Америки. Наиболее часто инфекция передается человеку при прямом или косвенном контакте с больными бруцеллезом животными, употреблении в пищу сырых молочных и мясных продуктов, контаминированных бруцеллами [1, 2].

К наиболее неблагополучным по бруцеллезу относят страны Восточного Средиземноморья и Ближнего Востока. Высокие уровни заболеваемости бруцеллезом людей регистрируются в Йемене (88,6 случаев на 100 тыс. населения), Сирии (43,9), Палестине (19,1), Иране (18,6), Кувейте (10,8), Омане (9,0), Турции (8,0), Саудовской Аравии (6,22), Иордании (4,5), Катаре (4,3), Израиле (4,0), Ираке (2,6). Вместе с тем в последние годы в неблагополучных по бруцеллезу государствах Ближнего Востока отмечается тенденция к снижению заболеваемости людей бруцеллезом, чему способствует усиление контроля муниципалитетами за производством молока и запрет на продажу местных непастеризованных молочных продуктов, особенно сыров кустарного производства [1–3].

К общим для региона Восточного Средиземноморья и Ближнего Востока факторам, оказывающим существенное влияние на сохранение неблагополучия по бруцеллезу, можно отнести социальную и политическую нестабильность в наиболее неблагополучных по бруцеллезу странах, нехватку ресурсов и недостаточную развитость инфраструктуры для надлежащей диагностики, недостаточный надзор за системой ведения животноводства, наличие национальных обычаев приготовления и употребления непастеризованных молочных продуктов, низкую грамотность населения в вопросах профилактики

зоонозных инфекций. Специфические геоклиматические и агроландшафтные условия (засушливость и высокогорье) обусловили высокую популярность в регионе пастбищного скотоводства, в котором задействована существенная доля населения региона. Численность поголовья овец и коз в странах Ближнего Востока составляет более 85 % от общего количества мелких жвачных в мире, при этом плотность мелкого рогатого скота (МРС) почти в два раза выше мировых значений [1, 3–8].

В последние годы на Африканском континенте отмечается существенное ухудшение эпизоотологоэпидемиологической ситуации по бруцеллезу в государствах центральной и восточной части континента. Распространенность бруцеллеза среди крупного рогатого скота (КРС) в этих регионах в среднем может достигать 30 %, МРС – до 12,5 %. В последние годы наблюдается увеличение количества эпизоотий на территории к югу от Сахары и центральной части материка. Кроме того, имеются сведения, указывающие на увеличение за последние 20 лет заболеваемости бруцеллезом среди диких животных в странах южной и восточной частей континента. Наибольшая серопревалентность к возбудителю бруцеллеза регистрировалась в популяции буйволов (10,3-17,3 %), диких плотоядных (1,1-15,5%) и антилоп (0,1-4,9 %). В районах с наибольшим распространением бруцеллеза среди буйволов отмечалось более широкое распространение инфекции и среди других видов диких животных [9–12].

Практически ежегодно в странах Африки регистрируются групповые вспышки острого бруцеллеза, связанные с употреблением сырого молока и кисломолочных продуктов, полученных от больных бруцеллезом животных. В апреле 2021 г. на территории Алжира выявлено два случая группового заболевания людей бруцеллезом: в г. Батне (31 человек) и в г. Хамма Бузиане (7) после употребления непастеризованного молока от коз и коров. Аналогичные случаи в 2021 г. подтверждены в алжирских провинциях Джиджель, Мсила и Буира. В последнее десятилетие высокие уровни заболеваемости людей бруцеллезом ежегодно регистрируются в Кении (203,1 на 100 тыс. населения), Танзании (25,0), Эритрее (21,8), Алжире (8,4), Тунисе (8,94), Египте (3,89) [2, 13, 14].

Напряженная ситуация по бруцеллезу сохраняется на территории государств Восточной Европы и Центральной Азии (ВЕЦА). Суммарный среднегодовой уровень заболеваемости людей бруцеллезом в неблагополучных по бруцеллезу странах ВЕЦА, по разным оценкам, составляет более 80 случаев на 100 тыс. населения. К наиболее неблагополучным по бруцеллезу относят Киргизию (более 18 случаев на 100 тыс. населения), Казахстан (16), Туркменистан (7), Таджикистан (9), Армению (8,5–9), Грузию (5), Монголию (4), Азербайджан (4) и Узбекистан (2,5–3). Однако в последние годы можно отметить наметившуюся тенденцию к снижению заболеваемости людей бруцеллезом в большинстве указанных стран [1, 15–27].

В Китае за последние десятилетия заболеваемость людей бруцеллезом увеличилась в 2,5-3 раза. В период 1950-2019 гг. в материковом Китае зарегистрировано в общей сложности 731080 случаев бруцеллеза среди людей. Бруцеллез человека широко распространен в Северном, Северо-Восточном и Западном Китае. Вместе с тем прослеживается тренд по распространению инфекции от севера на южные провинции, а также с востока на запад, что связано с ростом объемов внутренней миграции людей, перемещением животных и ввозом продуктов животного происхождения на юг и юго-запад страны из эпизоотически неблагополучных по бруцеллезу северных регионов. Отмечается тенденция к увеличению заболеваемости бруцеллезом среди городского населения (урбанизация бруцеллеза). Интенсивный показатель заболеваемости на 100 тыс. населения в Китае составляет в среднем 2,82 за последние пять лет [1, 2, 21, 22].

На территории Индии насчитывается одна из крупнейших популяций крупных жвачных животных в мире. В последние десятилетия бруцеллез в Индии приобрел эндемичный характер и постоянно регистрируется среди животных и людей. Серологический скрининг бруцеллеза, проведенный в штатах Индии за последние десять лет, показал широкую распространенность инфекции среди поголовья домашнего скота (среди стад КРС – 1,8–65,5 %, MPC – 4,1-5,8 %). Наиболее высокие показатели серопревалентности среди животных отмечались в штатах Карнатака, Махараштра, Дели, Керала и Кашмир. Доля серопозитивных на бруцеллез среди лиц, профессионально связанных с животноводством, составляла 7,5-31,25 % [23-25]. В соседних странах - Бангладеш и Пакистане - распространенность бруцеллеза среди групп профессионального риска (мясников, ветеринаров, животноводов, дояров) в среднем может составлять 2-22 и 7 % соответственно [26].

За последние десять лет в странах Европейского союза (ЕС), где регистрировался бруцеллез, можно отметить тенденцию к снижению заболеваемости. За период 2011–2020 гг. выявлено более 4 тыс. случаев бруцеллеза среди людей, из которых в среднем

около 30 % (13,1÷43,4 %, *Me* 30,5 %) были связаны с путешествиями в неблагополучные по бруцеллезу регионы мира. Ежегодно отмечаются случаи заболевания людей бруцеллезом после употребления продуктов животноводства, ввезенных из эндемичных стран. Бруцеллез у людей в странах Евросоюза регистрировался в Боснии и Герцеговине (7,2 на 100 тыс. населения), Греции (1,28–1,43), Македонии (1,06), Португалии (0,48), Италии (0,35), Испании (0,15), Сербии (0,1), Бельгии (0,07), Германии (0,05), Ирландии (0,04) и Хорватии (0,02) [2, 27].

В Англии за последние три года в несколько раз увеличилось количество случаев заболевания бруцеллезом среди собак (основной хозяин патогенного для человека вида бруцелл Brucella canis), при этом большинство фактов заражения бруцеллами обнаружено у собак-спасателей, импортированных из Румынии (в 2020 г. из Румынии в Великобританию было ввезено почти 30 тыс. собак). В последние годы не менее чем в 14 странах ЕС (Австрия, Англия, Бельгия, Венгрия, Германия, Дания, Италия, Нидерланды, Норвегия, Польша, Финляндия, Франция, Швейцария, Швеция) регистрировался бруцеллез среди собак, в том числе импортированных из Восточной Европы (Молдавия, Румыния, Македония) [28, 29].

В странах Центральной и Южной Америки наиболее часто эпизоотии бруцеллеза регистрируются среди поголовья КРС. К неблагополучным по бруцеллезу КРС относят Гватемалу, Коста-Рику, Белиз, Аргентину, Мексику, Бразилию, Гондурас, Никарагуа, Сальвадор и Панаму. По разным оценкам, серопревалентность к возбудителю бруцеллеза среди КРС в этих странах может составлять от 1 до 25 %. Самые высокие уровни заболеваемости людей бруцеллезом регистрируются в Перу (1,42 на 100 тыс. населения) и Мексике (1,24). Случаи бруцеллеза среди людей ежегодно подтверждаются в Коста-Рике (0,65), на Кубе (0,41), в Парагвае (0,32), Аргентине (0,2), Панаме (0,12), Бразилии (0,1), Уругвае (0,09) и Гондурасе (0,08) [2, 30].

В Соединенных Штатах Америки бруцеллез среди людей регистрируется преимущественно в южных штатах. Среднемноголетние значения показателя заболеваемости составляют 0,03-0,04 на 100 тыс. населения (в среднем ежегодно выявлялось 100-200 случаев). Наиболее часто случаи заболевания были связаны с употреблением непастеризованного молока и молочных продуктов, незаконно ввезенных из Мексики. Кроме того, в последние годы регистрировались случаи заболевания людей бруцеллезом после употребления сырого молока, полученного от коров, иммунизированных вакциной на основе штамма В. abortus RB51. С 2017 г. в США зарегистрировано как минимум четыре случая инфицирования людей этим вакцинным штаммом, в том числе в штате Техас, где у 18-летней латиноамериканки был установлен нейробруцеллез, вызванный RB51 [31–34]. Вместе с тем южные и юго-восточные территории США (штаты Гавайи (о. Оаху), Алабама, Миссисипи, Луизиана, Арканзас, Южная Каролина, Техас и Оклахома) относятся к эндемичным по бруцеллезу диких свиней (Sus scrofa) — носителей высокопатогенного для человека вида бруцелл В. suis. Отмечается, что в ряде эпизоотических очагов серопревалентность к возбудителю бруцеллеза в популяциях диких свиней достигает 50 %, регистрируются случаи передачи инфекции домашним животным и людям. По разным оценкам, в 35 штатах США насчитывается около 6 млн кабанов, при этом в последние годы в стране существенно возрос коммерческий спрос на мясо диких свиней, в т.ч. среди городского населения [35, 36].

Анализ эпизоотической и эпидемической ситуации в Российской Федерации проведен на основе данных Роспотребнадзора и Россельхознадзора о заболеваемости бруцеллезом людей и сельскохозяйственных животных, Департамента ветеринарии Минсельхоза России (ФГБУ «Центр ветеринарии») об объемах иммунизации скота против бруцеллеза, материалов и сообщений, представленных в специальных научных и информационных изданиях по вопросам бруцеллеза сельскохозяйственных животных и людей, результатов эпидемиологических расследований случаев заболевания, предоставленных Референс-центру по мониторингу за бруцеллезом управлениями Роспотребнадзора по субъектам РФ, а также сведений, представленных Федеральным центром гигиены и эпидемиологии по заболеваемости бруцеллезом, объемам вакцинации и ревакцинации подлежащих контингентов против бруцеллеза в разрезе субъектов РФ [1].

В Российской Федерации в последние десятилетия отмечается отсутствие стойкой тенденции к улучшению эпизоотической обстановки по бруцеллезу среди эпидемиологически значимых видов КРС и МРС в регионах страны с развитым скотоводством. В период с 2011 по 2020 год зарегистрировано 4490 неблагополучных пунктов (н.п.) по бруцеллезу КРС, в которых выявлено 95668 голов (гол.) больных жи-

вотных, и 376 н.п. по бруцеллезу MPC, 14533 больных бруцеллезом животных. Анализ заболеваемости сельскохозяйственных животных бруцеллезом свидетельствует о сохранении многолетнего восходящего тренда эпизоотологического неблагополучия по бруцеллезу КРС в России.

В 2021 г. (9 мес.) в сравнении со средними многолетними данными за период с 2011 по 2020 год можно отметить уменьшение значения показателя очаговой инцидентности на 25,4 % (рис. 1), что указывает на сохранение тренда по снижению количества заболевшего бруцеллезом КРС в пересчете на один неблагополучный пункт. Эта тенденция обусловлена наибольшей вовлеченностью в эпизоотический процесс бруцеллеза поголовья КРС из хозяйств индивидуального сектора, где численность животных существенно ниже, чем на животноводческих предприятиях и других хозяйствах общественной формы собственности.

За 9 месяцев 2021 г. в России зарегистрировано 210 н.п. по бруцеллезу КРС и 24 н.п. по бруцеллезу МРС. По сравнению с аналогичным периодом 2020 г. отмечается снижение на 35,8 % (117 н.п.) количества впервые выявленных н.п. по бруцеллезу КРС.

В период с января по сентябрь 2021 г. в 27 субъектах Российской Федерации зарегистрировано 210 н.п. по бруцеллезу КРС, в которых выявлено 4432 гол. больного бруцеллезом скота. Наибольшее количество н.п. и заболевших животных зарегистрировано в Северо-Кавказском федеральном округе (СКФО) – 138 н.п., 2388 гол. (65,7 % – от общего количества н.п. в России). Больной бруцеллезом скот в округе выявлен в республиках Дагестан (34 н.п., 1557 гол.), Кабардино-Балкария (32 н.п., 225 гол.), Карачаево-Черкесия (15 н.п., 117 гол.), Северная Осетия – Алания (13 н.п., 135 гол.), Ингушетия (4 н.п., 7 гол.), Ставропольском крае (20 н.п., 293 гол.) и Чеченской Республике (20 н.п., 54 гол.).

На территории Южного федерального округа (Ю Φ О) установлено 50 н.п. по бруцеллезу КРС, в которых выявлено 1320 больных бруцеллезом жи-

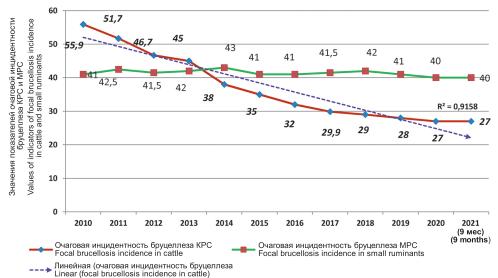


Рис. 1. Динамика значений показателя очаговой инцидентности бруцеллеза КРС и МРС в Российской Федерации с 2010 по 2021 (9 мес.) год

Fig. 1. Indicator value dynamics of the focal brucellosis incidence in cattle and small ruminants in the Russian Federation between 2010 and 2021 (9 months)

вотных (23,8 % от общего количества н.п. в России). Больной скот регистрировали в Астраханской (18 н.п., 529 гол.), Ростовской (8 н.п., 389 гол.), Волгоградской (5 н.п., 188 гол.) областях, Краснодарском крае (7 н.п., 128 гол.), республиках Калмыкия (11 н.п., 82 гол.) и Адыгея (1 н.п., 4 гол.).

В последние десять лет сохраняется достаточно напряженная эпизоотическая ситуация в Приволжском федеральном округе (ПФО). За 9 месяцев 2021 г. на территории округа зарегистрировано 13 н.п. по бруцеллезу КРС. Больной бруцеллезом скот выявляли в Саратовской (4 н.п., 402 гол.), Самарской (4 н.п., 23 гол.), Оренбургской (3 н.п., 96 гол.) и Пензенской (2 н.п., 3 гол.) областях.

В период с января по сентябрь 2021 г. в России эпизоотии бруцеллеза среди поголовья КРС установлены на территориях Центрального федерального округа (ЦФО) — 4 н.п., 15 гол. (Тамбовская область — 2 н.п., 5 гол., Московская — 1 н.п., 7 гол., Владимирская — 1 н.п., 3 гол.); Сибирского федерального округа (СФО) — 3 н.п., 138 гол. (Республика Тыва — 1 н.п., 111 гол., Новосибирская область — 1 н.п., 7 гол., Омская — 1 н.п., 20 гол.); Дальневосточного федерального округа (ДФО) — 1 н.п., 46 гол. (Амурская область — 1 н.п., 38 гол., Забайкальский край — 5 гол., Хабаровский край — 3 гол.) и Уральского федерального округа (УФО) — на территории Свердловской области (1 н.п., 1 гол.).

За 9 месяцев 2021 г. в России выявлено 24 н.п. по бруцеллезу МРС (915 гол. больных бруцеллезом коз и овец). Как и в предыдущие годы, заболевших бруцеллезом мелких жвачных регистрировали преимущественно в СКФО (Республика Дагестан – 10 н.п., 408 гол.) и ЮФО (Республика Калмыкия – 3 н.п., 44 гол., Краснодарский край – 1 н.п., 18 гол., Астраханская область – 1 н.п., 8 гол.).

Кроме того, эпизоотические очаги бруцеллеза МРС регистрировали в ПФО — Самарская (1 н.п., 197 гол.), Пензенская (1 н.п., 3 гол.) и Саратовская (1 н.п., 1 гол.) области; ЦФО — Рязанская (1 н.п., 107 гол.) и Калужская (1 н.п., 54 гол.) области; СФО — Республика Тыва (1 н.п., 51 гол.) и Новосибирская область (1 н.п., 15 гол.) и ДФО — Забайкальский край (2 н.п., 3 гол.).

Одним из основных факторов снижения и контроля заболеваемости животных бруцеллезом и эпидемиологических рисков является плановая вакцинация скота. По данным Департамента ветеринарии Минсельхоза России, в период с 2013 по 2021 год вакцинировано против бруцеллеза 16021,7 тыс. гол. КРС и 44375,24 тыс. гол. МРС. В 2021 г. привито против бруцеллеза 1675,05 тыс. гол. КРС (в среднем 101,2 % от плана на 2021 г.) и 5720,73 тыс. гол. МРС (125,2 %). Кроме того, в 2021 г. привито от бруцеллеза 39,55 тыс. гол. (86,9 % от плана на 2021 г.) северных оленей в Ямало-Ненецком автономном округе и Республике Саха (Якутия).

Согласно плану иммунизации животных в Российской Федерации на 2022 г., вакцинации про-

тив бруцеллеза подлежит 1655,4 тыс. гол. домашнего КРС, 4507,0 тыс. гол. МРС, что в целом ниже на 7 % (по КРС) и 17,7 % (по МРС) относительно среднемноголетних объемов иммунизации скота за период 2013—2021 гг. Кроме того, в 2022 г. планируется привить против бруцеллеза 37,41 тыс. гол. северных оленей.

В Российской Федерации в последние десять лет отмечается неблагополучная эпидемиологическая ситуация с тенденцией к снижению уровня заболеваемости людей бруцеллезом. Среднее многолетнее (2012–2021 гг.) количество случаев бруцеллеза в год составляет 327, в том числе среди детей до 17 лет – 24 случая. Среднемноголетний интенсивный показатель заболеваемости на 100 тыс. населения составил 0,22, среди детей до 17 лет – 0,08. К регионам с наибольшей заболеваемостью людей бруцеллезом относят субъекты юга европейской части России – СКФО и ЮФО, где ежегодно регистрируется до 70–80 % случаев бруцеллеза у людей в стране (рис. 2, 3).

В 2021 г. в Российской Федерации впервые выявленный бруцеллез среди людей регистрировался в 22 субъектах, всего зарегистрировано 248 случаев (0,17 на 100 тыс. населения), в том числе 21 случай (0,07 на 100 тыс. населения) — среди детей до 17 лет. Количество заболевших бруцеллезом и значение интенсивного показателя заболеваемости на 100 тыс. взрослого населения и детей до 17 лет в 2021 г. ниже среднемноголетних значений на 24,1 % (79 сл.).

Как и в предыдущие годы, в 2021 г. наибольшее количество случаев бруцеллеза среди людей зарегистрировано в СКФО — 79,7 % от общероссийских значений. Длительное эпидемиологическое неблагополучие этого округа Российской Федерации связано с постоянно регистрируемыми эпизоотиями бруцеллеза КРС и МРС на территориях субъектов.

За период 2012—2021 гг. в СКФО зарегистрирован 2201 человек с впервые выявленным бруцеллезом. Среднее многолетнее количество подтвержденных случаев бруцеллеза среди людей составляет 220 (2,28 на 100стыс. населения). В 2021 г. выявлено 197 заболевших бруцеллезом (1,98 на 100 тыс. населения), в том числе 19 случаев среди детей до 17 лет (0,72). В сравнении со средней многолетней заболеваемостью людей бруцеллезом в округе, в 2021 г. отмечается снижение заболеваемости на 10,4 % (23 сл.).

К наиболее неблагополучному по бруцеллезу субъекту СКФО относится Республика Дагестан, где за последние десять лет было подтверждено 1460 случаев бруцеллеза (в среднем 146 сл. в год, 4,86 на 100 тыс. населения). В 2021 г. на этой территории выявлено 176 случаев (5,64 на 100 тыс. населения, 71,2% от общероссийских показателей) бруцеллеза у людей, что на 20,5% (30 сл.) выше среднемноголетних значений. В Республике Дагестан сохраняется негативная тенденция по относительно высокой заболеваемости бруцеллезом среди не-



Рис. 2. Регистрация случаев бруцеллеза среди людей на территории Российской Федерации в период 2012-2021 гг.

Fig. 2. Registration of brucellosis cases among population of the Russian Federation in 2012–2021

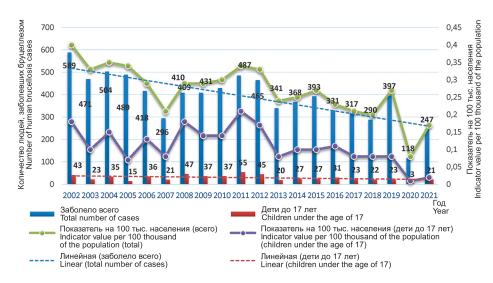


Рис. 3. Динамика регистрации заболеваемости и количества заболевших бруцеллезом людей в Российской Федерации в 2002–2021 гг.

Fig. 3. Dynamics of registration of the incidence and the number of people with brucellosis in the Russian Federation in 2002–2021

совершеннолетних — в среднем 17 случаев в год, 1,65 на 100 тыс. населения. В 2021 г. подтверждено 17 случаев бруцеллеза среди детей до 17 лет (1,93 на 100 тыс. населения), что сопоставимо со средними многолетними значениями и составляет 89,5 % от общего количества выявленных случаев бруцеллеза среди несовершеннолетних в стране. Проблема высокой заболеваемости несовершеннолетних бруцеллезом во многом связана с местными традициями постоянного привлечения детей к обслуживанию и подворному убою сельскохозяйственных животных.

В 2021 г. на территории Ахвахского района в с. Тукита зарегистрирована групповая вспышка

острого бруцеллеза, при которой заболело шесть человек, в т.ч. четверо детей до 17 лет. Заболевание людей произошло в результате тесного контакта с больным бруцеллезом КРС (кормление и обслуживание животных) и употребления в пищу мясомолочной продукции, полученной от больного поголовья.

Случаи заболевания людей бруцеллезом в Республике Дагестан регистрировали в течение календарного года, наибольшее количество заболевших выявлено в период март — июнь — 82 случая (46,6 % от общего количества случаев в республике в 2022 г.) и сентябрь — декабрь — 70 случаев (39,8 %). В большинстве установленных случаев заболевания

людей бруцеллезом источником инфекции был КРС – 123 случая (69,9 % от всех случаев). В 111 случаях определен контактный механизм передачи инфекции, в 41 — алиментарный. Основные факторы передачи возбудителя инфекции — естественные выделения больных животных (62,3 %) и продукты животноводства (молоко, молочные продукты, мясо, мясные продукты), инфицированные бруцеллами (23,0 %). Наибольшее количество заболевших выявляли на административной территории Левашинского (17 сл.), Буйнакского (16), Акушинского (15), Ахвахского (14), Агульского (12), Хунзахского (9) районов и в г. Махачкале (13).

Кроме того, случаи заболевания людей бруцеллезом в 2021 г. в СКФО отмечены в Чеченской Республике (13 сл., 0,89 на 100 тыс. населения), Ставропольском крае (5 сл., 0,18), Республике Северная Осетия – Алания (2 сл., 0,29) и Карачаево-Черкесской Республике (1 сл., 0,21).

На территории субъектов ЮФО в 2012—2021 гг. установлено 452 случая впервые выявленного бруцеллеза (13,8 % от общего количества заболевших бруцеллезом в России за последние десять лет). В среднем регистрировалось 45 случаев в год (0,30 на 100 тыс. населения). В 2021 г. в округе зарегистрировано 9 случаев (0,05 на 100 тыс. населения), что более чем в 5 раз ниже средних многолетних значений.

В последнее десятилетие наиболее стойкое эпизоотолого-эпидемиологическое неблагополучие по бруцеллезу в округе отмечалось на территории Республики Калмыкия. В период 2012–2021 гг. в Республике Калмыкия подтверждено 289 случаев (63,9% от общего количества заболевших бруцеллезом в ЮФО за последние десять лет), в среднем регистрировалось 30 случаев в год (10,24 на 100 тыс. населения). В 2021 г. в республике отмечено десятикратное снижение заболеваемости бруцеллезом и количества заболевших — 3 случая, 1,1 на 100 тыс. населения. Бруцеллез среди людей регистрировали в Астраханской (4 сл., 0,40 на 100 тыс. населения) и Волгоградской (2 сл., 0,08) областях.

В последние годы на территории ряда субъектов ПФО отмечается напряженная эпизоотологоэпидемиологическая ситуация. Многолетние значения за период 2012-2021 гг. составляют в среднем 13 случаев в год, 0,06 на 100 тыс. населения. В 2021 г. выявлено 22 случая (0.07 на 100 тыс. населения), что на 69,2 % (9 сл.) больше среднегодовых значений за последние десять лет. Наибольшее количество заболевших бруцеллезом (17 сл., 1,30 на 100 тыс. населения) выявлено в Пензенской области, где в октябре 2022 г. в с. Потодеево Наровчатского района в крупном молочно-товарном комплексе был установлен эпизоотический очаг бруцеллеза среди КРС (заболело более 4 тыс. гол.). При лабораторном обследовании работников комплекса выявлено 17 заболевших бруцеллезом, в т.ч. 4 случая среди зооветспециалистов. Во всех случаях был определен контактный механизм передачи бруцеллезной инфекции. Заболевание людей произошло в результате контактов с объектами обустройства комплекса, орудиями труда, ветеринарным инструментарием, контаминированным бруцеллами, и непосредственного контакта с больным бруцеллезом скотом.

Кроме того, случаи впервые выявленного бруцеллеза у людей в $\Pi\Phi O$ зарегистрированы в Республике Татарстан (2 сл., 0,05 на 100 тыс. населения) и по одному случаю в Оренбургской (0,05) и Самарской (0,03) областях.

В СФО эпидемиологическая ситуация остается стабильной с выраженной тенденцией к снижению уровня заболеваемости. Многолетние значения за период 2012–2021 гг. составляют в среднем 31 случай в год, 0,16 на 100 тыс. населения. На территориях субъектов СФО в 2021 г. всего зарегистрировано 9 случаев (0,05 на 100 тыс. населения) впервые выявленного бруцеллеза, из которых в Омской области — 4 случая (0,21), Республике Тыва — 3 (0,92), по 1 случаю в Новосибирской области (0,04) и Красноярском крае (0,03).

В ЦФО в 2021 г. зарегистрировано 8 случаев (0,04 на 100 тыс. населения) заболевания людей бруцеллезом, что ниже среднемноголетних значений (в среднем регистрировалось 12 сл. в год, 0,03 за последние десять лет). Основное количество заболевших бруцеллезом выявлено в Москве — 7 случаев (0,06 на 100 тыс. населения), преимущественно среди приезжих из субъектов Российской Федерации: Республики Ингушетии, Чеченской Республики, Московской и Тверской областей, — а также ближнего зарубежья: Таджикистана, Узбекистана и Армении. Кроме того, в округе бруцеллез был выявлен в Калужской области — 1 случай (0,10 на 100 тыс. населения).

Единичные случаи бруцеллеза зарегистрированы в СЗФО на территориях Архангельской (1 сл., 0,09 на 100 тыс. населения), Ленинградской (1 сл., 0,05) областей и Санкт-Петербурга (1 сл., 0,05).

Вакцинация против бруцеллеза входит в календарь прививок по эпидемическим показаниям и проводится в соответствии с действующими нормативными актами в области иммунопрофилактики. Общим показанием к проведению профилактических прививок у людей против бруцеллеза является наличие условий профессионального или бытового характера, создающих возможность инфицирования возбудителем бруцеллеза козье-овечьего вида (B. melitensis). Плановой вакцинации подлежат работники бактериологических лабораторий, работающих с бруцеллами, и персонал предприятий, осуществляющих убой больного бруцеллезом скота (положительно реагирующих по бруцеллезу животных) и переработку полученного от них сырья, продуктов животноводства.

В 2021 г. план вакцинации людей против бруцеллеза в Российской Федерации выполнен на 95,9 %, ревакцинации – на 85,9 %. Иммунизация населения проведена в 24 субъектах Российской Федерации, всего привито 3111 человек, из которых 1971 ревак-

цинирован. Наибольшее количество людей привито в СФО (841 чел., 27,0 % от общего количества иммунизированных), ЮФО (778 чел., 25,0 %), ПФО (582 чел., 18,7 %) и СКФО (484 чел., 15,56 %).

При наличии на 2021 г. запланированных объемов не приступали к проведению вакцинации людей против бруцеллеза в Кабардино-Балкарской Республике и Приморском крае, ревакцинации - в Ставропольском крае (план выполнен всего на 0,93 %). Не выполнены планы по вакцинации в Ставропольском крае (25,0 %), Рязанской (50,0 %), Омской (60,4 %), Самарской (68,0 %), Владимирской (88,6%) областях, республиках Бурятия (80,0 %), Дагестан (96,8 %) и Ингушетия (98,3 %). Невыполнение плана по ревакцинации отмечается в Московской (30,6 %), Самарской (43,3 %), Воронежской (71,9 %), Омской (73,7 %), Липецкой (85,7%), Новосибирской (93,5%) областях, республиках Дагестан (51,9%), Бурятия (83,3%), Калмыкия (95,2 %) и Ингушетия (96,5 %).

Недостаточно корректное планирование объемов иммунизации против бруцеллеза отмечается в Волгоградской (план вакцинации выполнен на 165,0 %, ревакцинации – на 251,1 %), Оренбургской (161,2 %), Московской (160,0 %) и Свердловской (146,7, %) областях. В Ростовской области план ревакцинации выполнен на 400 %, при этом планировали привить 5 человек, по факту иммунизировали 20.

В 2022 г. 3585 человек подлежат вакцинации против бруцеллеза, из них ревакцинации - 2333 (65,1 %). Наибольшее количество человек планируется привить против бруцеллеза в СФО (1130 чел., 31,5 % от общего количества лиц, подлежащих иммунизации в РФ), ЮФО (705 чел., 19,6 %), ПФО (643 чел., 17,9 %) и СКФО (635 чел., 17,7 %).

Таким образом, эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в Российской Федерации за последние десять лет характеризуется как неблагополучная. Наблюдается снижение количества впервые выявленного бруцеллеза у людей (на 25,1 % от среднемноголетних значений) на фоне стойкого эпизоотического неблагополучия по бруцеллезу среди эпидемиологически значимых видов МРС и КРС в регионах с развитым животноводством. В двух субъектах (Республика Дагестан и Пензенская область) зарегистрированы случаи группового заболевания людей. Кроме того, за последние пять лет можно наблюдать тренд по ухудшению эпизоотолого-эпидемиологической обстановки по бруцеллезу в Республике Дагестан, где также отмечается тревожная тенденция по сохранению относительно высокой заболеваемости бруцеллезом среди несовершеннолетних - в среднем 15 случаев в год, 1,65 на 100 тыс. населения. Доля случаев бруцеллеза среди детей до 17 лет в республике составила 60,3 % от общего числа несовершеннолетних с впервые выявленным бруцеллезом в стране за последние десять лет.

Эпидемиологический прогноз на 2022 г. будет определяться рядом показателей, основной из которых – это эпизоотологическая обстановка по бруцеллезу, которая продолжает оставаться напряженной в ряде субъектов Российской Федерации с развитым животноводством. Многолетние тренды по неблагополучию и заболеваемости КРС и МРС бруцеллезом – нарастающие. В среднесрочной перспективе при сохранении существующих тенденций есть риск широкого распространения бруцеллеза среди поголовья сельскохозяйственных животных в субъектах Приволжского и Сибирского федеральных округов, а также ухудшения эпизоотологической обстановки в Северо-Кавказском и Южном федеральных округах.

Сохраняются эпидемиологические риски, связанные с трансграничным перемещением сельскохозяйственных животных и животноводческих грузов из государств, эпизоотически неблагополучных по бруцеллезу, особенно при отсутствии надлежащего ветеринарного контроля на пограничных пунктах пропуска.

Стабилизирующее влияние на эпидемиологическую ситуацию по бруцеллезу в России оказывает продолжающаяся реализация комплекса противоэпидемических и других ограничительных мероприятий по недопущению распространения COVID-19, что, очевидно, способствовало усилению контроля органами исполнительной власти за внутри- и межсубъектными перевозками (перемещениями) животноводческих грузов и животных, кустарным производством продукции животноводства и ее несанкционированной реализацией.

С учетом текущих эпизоотической, эпидемической ситуаций и многолетней динамики развития ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации [1, 3], в 2022 г. можно прогнозировать заболеваемость людей бруцеллезом на 10-15 % ниже средних многолетних значений -0.18-0.20 на 100 тыс. населения. Количество заболеваний людей бруцеллезом может находиться в диапазоне 250-300 случаев.

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

Список литературы

1. Пономаренко Д.Г., Скударева О.Н., Хачатурова А.А., Германова А.Н., Лукашевич Д.Е., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Зинченко Д.А., Семенко О.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Об эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по бруцеллезу в мире в 2011–2020 гг. и прогноз на 2021 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 2:41–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-41-51. 2. Wang X.H., Jiang H. [Global prevalence of human brucellosis]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2020; 41(10):1717–22. [In Chinese]. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20191022-00751. 3. Пономаренко Д.Г., Русанова Д.В., Хачатурова А.А., Скударева О.Н., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Семенко О.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Анализ эпидемической и эпизоотической ситуации по бруцеллезу в мире в

М.В., Семенко О.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Анализ эпидемической и эпизоотической ситуации по бруцеллезу в мире в 2019 г. и прогноз на 2020 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:48–56. DOI; 10.21055/0370-1069-2020-2-48-56.

4. Abedi A.S., Hashempour-Baltork F., Alizadeh A.M., Beikzadeh S., Hosseini H., Bashiry M., Taslikh M., Javanmardi F., Sheidaee Z., Sarlak Z., Mofid V., Fakhri Y., Mousavi Khaneghah A. The prevalence of *Brucella* spp. in dairy products in the Middle East region: A systematic review and meta-analysis. *Acta Trop*. 2020; 202:105241. DOI: 10.1016/j.actatropica.2019.105241.

5. Al Anazi M., AlFayyad I., AlOtaibi R., Abu-Shaheen A. Epidemiology of brucellosis in Saudi Arabia. *Saudi Medical Journal*. 2019; 40(10):981–8. DOI: 10.15537/SMJ.2019.10.24027.

2019, 40(10):981–8. DOI: 10.1553//SMJ.2019.10.24027.
6. Bagheri Nejad R., Krecek R.C., Khalaf O.H., Hailat N., Arenas-Gamboa, A.M. Brucellosis in the Middle East: Current situation and a pathway forward. PLoS Negl. Trop. Dis. 2020; 14(5):e0008071. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008071.
7. Rubach M.P., Halliday J.E., Cleaveland S., Crump J.A. Brucellosis in low-income and middle-income countries. Curr. Opin. Infect. Dis. 2013; 26(5):404–12. DOI: 10.1097/QCO.0b013e3283638104.
8. Musallam I.I. Abo-Shehada M.N. Hegazy V.M. Holt H.R.

8. Musallam I.I., Abo-Shehada M.N., Hegazy Y.M., Holt H.R., Guitian F.J. Systematic review of brucellosis in the Middle East: disease frequency in ruminants and humans and risk factors for human infection. *Epidemiol. Infect.* 2016; 144(4):671–85. DOI: 10.1017/S0950268815002575.

9. Craighead L., Meyer A., Chengat B., Musallam I., Akakpo J., Kone P., Guitian J., Häsler B. Brucellosis in West and Central Africa:

Kone P., Guitian J., Häsler B. Brucellosis in West and Central Africa: A review of the current situation in a changing landscape of dairy cattle systems. *Acta Trop*. 2018; 179:96–108. DOI: 10.1016/j. actatropica.2017.12.026.

10. Ducrotoy M., Bertu W.J., Matope G., Cadmus S., Conde-Alvarez R., Gusi A.M., Welburn S., Ocholi R., Blasco J.M., Moriyón. I. Brucellosis in Sub-Saharan Africa: Current challenges for management, diagnosis and control. *Acta Trop*. 2017; 165:179–93. DOI: 10.1016/j.actatropica.2015.10.023.

11. Ntirandekura J.B., Matemba L.E., Kimera S.I., Muma J.B., Karimuribo F. D. Association of brucellosis with abortion prevalence.

Karimuribo E.D. Association of brucellosis with abortion prevalence

In humans and animals in Africa: A review. *Afr. J. Reprod. Health.* 2018; 22(3):120–36. DOI: 10.29063/ajrh2018/v22i3.13.

12. Simpson G., Thompson P.N., Saegerman C., Marcotty T., Letesson J.J., de Bolle X., Godfroid J. Brucellosis in wildlife in Africa: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.* 2021; 11:5960. DOI: 10.1038/s41598-021-85441-w.

13. Echoroukonline: Batna. Goats milk causes 31 cases of brucellosis. [Электронный ресурс]. URL: https://bit.ly/3d3riSR (дата обращения 17.01.2022).

обращения 17.01.2022).

14. Echoroukonline: Confirmed cases of procellulose in Bouira and warnings about uncontrolled milk. [Электронный ресурс]. URL: https://bit.ly/3DC6ADW (дата обращения 17.01.2022).

15. Лямкин Г.И., Пономаренко Д.Г., Худолеев А.А., Вилинская С.В., Зайцев А.А., Куличенко А.Н. Эпидемическая ситуация по бруцеллезу в Российской Федерации и государствах — участниках Содружества Независимых Государств. Инфекционные болезни: Новости. Мнения. Обучение. 2016; 1(14):68-74 1(14):68-74

1(14):68–74.

16. Akhvlediani T., Bautista C.T., Garuchava N., Sanodze L., Kokaia N., Malania L., Chitadze N., Sidamonidze K., Rivard R.G., Hepburn M.J., Nikolich M., Imnadze P., Trapaidze N. Epidemiological and clinical features of brucellosis in the country of Georgia. *PloS ONE*. 2017; 12(1):e0170376. DOI: 10.1371/journal.pone.0170376.

17. Beauvais W., Coker R., Nurtazina G., Guitian J. Policies and livestock systems driving brucellosis re-emergence in Kazakhstan. *Ecohealth*. 2017; 14(2):399–407. DOI: 10.1007/s10393-015-1030-7

18. Charypkhan D., Sultanov A.A., Ivanov N.P., Baramova S.A., Taitubayev M.K., Torgerson P.R. Economic and health burden of brucellosis in Kazakhstan. *Zoonoses Public Health*. 2019; 66(5):487–94. DOI: 10.1111/zph.12582.

19. Sargsyan L., Davtyan K., Hann K., Gasparyan S., Davidyants V., Shekoyan V., Poghosyan G., Petrosyan D. Acute and chronic brucellosis eleven-year audit from a tertiary hospital in Armenia. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2019; 13(5.1):42S–50S. DOI: 10.3855/jidc.10934.

20. Kracalik I.T., Abdullayev R., Asadov K., Ismayilova R., Baghirova M., Ustun N., Shikhiyev M., Talibzade A., Blackburn J.K.

Baghirova M., Ustun N., Shikhiyev M., Talibzade A., Blackburn J.K. Human brucellosis trends: re-emergence and prospects for control using a one health approach in Azerbaijan (1983–2009). Zoonoses Public Health. 2016; 63(4):294–302. DOI: 10.1111/zph.12229.

21. Zheng R., Xie S., Lu X., Sun L., Zhou Y., Zhang Y., Wang K. A systematic review and meta-analysis of epidemiology and clinical manifestations of human brucellosis in China. BioMed Res. Int. 2018; 2018:5712920. DOI: 10.1155/2018/5712920.

22. Sun G.Q., Li M.T., Zhang J., Zhang W., Pei X., Jin Z. Transmission dynamics of brucellosis: Mathematical modelling and applications in China. Comput. Struct. Biotechnol. J. 2020; 18:3843–60. DOI: 10.1016/j.csbj.2020.11.014.

23. Pathak A.D., Dubal Z.B., Karunakaran M., Swapnil P., Doijad S.P., Raorane A.V., Dhuri R.B., Bale M.A., Chakurkar E.B., Kalorey D.R., Kurkure N.V., Sukhadeo B., Barbuddhe S.B. Apparent seroprevalence, isolation and identification of risk factors for brucellosis among dairy cattle in Goa, India. Comp. Immunol. Microbiol.

seroprevalence, Isolation and Identification of risk factors for brucellosis among dairy cattle in Goa, India. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 2016; 47:1–6. DOI: 10.1016/j.cimid.2016.05.004.

24. Lindahl J.F., Vrentas C.E., Deka R.P., Hazarika R.A., Rahman H., Bambal R.G., Bedi J.S., Bhattacharya C., Chaduhuri P., Fairoze N.M., Gandhi R.S., Gill J.P.S., Gupta N.K., Kumar M., Londhe S., Rahi M., Sharma P.K., Shome R., Singh R., Srinivas K., Swain B.B. Brucellosis in India: results of a collaborative workshop

to define One Health priorities. *Trop. Anim. Health Prod.* 2020; 52(1):387–96. DOI: 10.1007/s11250-019-02029-3.

25. Tiwari H.K., Proch V., Singh B.B., Schemann K., Ward M., Singh J., Gill J.P.C., Dhand N.K. Brucellosis in India: Comparing ex-

Singh J., Gill J.P.C., Dhand N.K. Brucellosis in India: Comparing exposure amongst veterinarians, para-veterinarians and animal handlers. One Health. 2021; 14:100367. DOI: 10.1016/j.onehlt.2021.100367. 26. Islam M.A., Khatun M.M., Were S.R., Sriranganathan N., Boyle S.M. A review of Brucella seroprevalence among humans and animals in Bangladesh with special emphasis on epidemiology, risk factors, and control opportunities. Vet. Microbiol. 2013; 166(3–4):317–26. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.06.014. 27. ECDC: Data disclaimer for Surveillance atlas of infectious diseases. [Электронный ресурс]. URL: http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=8 (дата обращения 24.01.2022).

24.01.2022)

28. Buhmann G., Paul F., Herbst W., Melzer F., Wolf G., Hartmann K., Fischer A. Canine brucellosis: Insights into the epidemiologic situation in Europe. *Front. Vet. Sci.* 2019; 6:151. DOI:

10.3389/fvets.2019.00151.

29. Van Dijk M.A.M., Engelsma M.Y., Visser V.X.N., Keur I., Holtslag M.E., Willems N., Meij B.P., Willemsen P.T.J., Wagenaar J.A., Roest H.I.J., Broens E.M. Transboundary spread of *Brucella canis* through import of infected dogs, the Netherlands, November 2016 – December 2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(7):1783–8. DOI: 10.3201/eid2707.201238.

DOI: 10.3201/eid2707.201238.

30. Khurana S.K., Sehrawat A., Tiwari R., Prasad M., Gulati B., Shabbir M.Z., Chhabra R., Karthik K., Patel S.K., Pathak M., Iqbal Yatoo M., Gupta V.K., Dhama K., Sah R., Chaicumpa W. Bovine brucellosis – a comprehensive review. Vet. Q. 2021; 41(1):61–88. DOI: 10.1080/01652176.2020.1868616.

31. Sarmiento C.A., Amerson-Brown M.H., Foster C.E. An adolescent with neurobrucellosis caused by Brucella abortus cattle vaccine strain RB51. Pediatr. Infect. Dis. J. 2021; 40(9):e353–5. DOI: 10.1097/INF.0000000000003200.

32. The Centers for Disease Control and Prevention: CDC and Texas health officials warn about illness linked to raw milk from Texas Dairy. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/media/releases/2017/p0915-raw-milk-brucella.html (дата обращения 21.01.2022).

33. The Centers for Disease Control and Prevention: Exposure to RB51 through raw milk or milk products: How to reduce risk of infection. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/brucellosis/clinicians/rb51-raw-milk.html (дата обращения 21.01.2022).

34. The Centers for Disease Control and Prevention: Risks from unpasteurized dairy products. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/brucellosis/exposure/drug_resistant-brucellosis-

www.cdc.gov/brucellosis/exposure/drug-resistant-brucellosis-

www.cdc.gov/brucellosis/exposure/drug-resistant-brucellosis-linked-raw-milk.html (дата обращения 21.01.2022).

35. Pedersen K., Bauer N.E., Olsen S., Arenas-Gamboa A.M., Henry A.C., Sibley T.D., Gidlewski T. Identification of *Brucella* spp. in feral swine (*Sus scrofa*) at abattoirs in Texas, USA. *Zoonoses Public Health*. 2017; 64(8):647–54. DOI: 10.1111/zph.12359.

36. Pierce C.F., Brown V.R., Olsen S.C., Boggiatto P., Pedersen K., Miller R.S., Speidel S.E., Smyser T.J. Loci associated with antibody response in feral swine (*Sus scrofa*) infected with *Brucella suis*. *Front. Vet. Sci.* 2020; 7:554674. DOI: 10.3389/fvets.2020.554674.

References

1. Ponomarenko D.G., Skudareva O.N., Khachaturova A.A., Germanova A.N., Lukashevich D.E., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Zinchenko D.A., Semenko O.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. [Epizootiological and epidemiological situation on brucellosis around the world in 2011–2020 and forecast for the Russian Federation for 2021]. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2021; (2):41–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-41-51.

2. Wang X.H., Jiang H. [Global prevalence of human brucellosis]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi. 2020; 41(10):1717–22. [In Chinese]. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20191022-00751.

3. Ponomarenko D.G., Rusanova D.V., Khachaturova A.A., Skudareva O.N., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Semenko O.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. [Analysis of the epidemic and epizootic situation on brucellosis around the world in 2019 and the forecast for the Russian Federation for 2020]. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; (2):48–56. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-48-56.

4. Abedi A.S., Hashempour-Baltork F., Alizadeh A.M., Pailzadeh S. Hossenii H. Packiri M. Torelikh, M. Lucapmordi F. 1. Ponomarenko D.G., Skudareva O.N., Khachaturova A.A.,

DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-48-56.

4. Abedi A.S., Hashempour-Baltork F., Alizadeh A.M., Beikzadeh S., Hosseini H., Bashiry M., Taslikh M., Javanmardi F., Sheidaee Z., Sarlak Z., Mofid V., Fakhri Y., Mousavi Khaneghah A. The prevalence of *Brucella* spp. in dairy products in the Middle East region: A systematic review and meta-analysis. *Acta Trop.* 2020; 202:105241. DOI: 10.1016/j.actatropica.2019.105241.

5. Al Anazi M., AlFayyad I., AlOtaibi R., Abu-Shaheen A. Epidemiology of brucellosis in Saudi Arabia. *Saudi Medical Journal*. 2019; 40(10):981–8. DOI: 10.15537/SMJ.2019.10.24027.

6. Bagheri Nejad R., Krecek R.C., Khalaf O.H., Hailat N., Arenas-Gamboa, A.M. Brucellosis in the Middle East: Current situation and a pathway forward. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2020; 14(5):e0008071. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008071.

7. Rubach M.P., Halliday J.E., Cleaveland S., Crump J.A. Brucellosis in low-income and middle-income countries. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2013; 26(5):404–12. DOI: 10.1097/QCO.0b013e3283638104.

8. Musallam I.I., Abo-Shehada M.N., Hegazy Y.M., Holt H.R., Guitian F.J. Systematic review of brucellosis in the Middle East: disease frequency in ruminants and humans and risk factors for human infection. *Epidemiol. Infect.* 2016; 144(4):671–85. DOI: 10.1017/S0950268815002575.

9. Craighead L., Meyer A., Chengat B., Musallam I., Akakpo J., Kone P., Guitian J., Häsler B. Brucellosis in West and Central Africa: A review of the current situation in a changing landscape of dairy cattle systems. *Acta Trop.* 2018; 179:96–108. DOI: 10.1016/j. actatropica.2017.12.026.

10. Ducrotoy M., Bertu W.J., Matope G., Cadmus S., Conde-Álvarez R., Gusi A.M., Welburn S., Ocholi R., Blasco J.M., Moriyón. I. Brucellosis in Sub-Saharan Africa: Current challenges

for management, diagnosis and control. *Acta Trop.* 2017; 165:179–93. DOI: 10.1016/j.actatropica.2015.10.023.

11. Ntirandekura J.B., Matemba L.E., Kimera S.I., Muma J.B., Karimuribo E.D. Association of brucellosis with abortion prevalence

Karimuribo E.D. Association of brucellosis with abortion prevalence in humans and animals in Africa: A review. *Afr. J. Reprod. Health.* 2018; 22(3):120–36. DOI: 10.29063/ajrh2018/v22i3.13.

12. Simpson G., Thompson P.N., Saegerman C., Marcotty T., Letesson J.J., de Bolle X., Godfroid J. Brucellosis in wildlife in Africa: a systematic review and meta-analysis. *Sci. Rep.* 2021; 11:5960. DOI: 10.1038/s41598-021-85441-w.

13. Echoroukonline: Batna. Goats milk causes 31 cases of brucellosis. (Cited 17 Jan 2022). [Internet]. Available from: https://bit.lv/3d3riSR

ly/3d3riSR

ly/3d3riSR

14. Echoroukonline: Confirmed cases of brucellosis in Bouira and warnings about uncontrolled milk. (Cited 17 Jan 2022). [Internet]. Available from: https://bit.ly/3DC6ADW.

15. Lyamkin G.I., Ponomarenko D.G., Khudoleev A.A., Vilinskaya S.V., Zaitsev A.A., Kulichenko A.N. [Epidemiological situation of brucellosis in the Russian Federation and the member states of the Commonwealth of Independent States]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya. Obuchenie. [Infectious Diseases: News. Opinions. Training]*. 2016; 1(14):68–74.

16. Akhvlediani T., Bautista C.T., Garuchava N., Sanodze L., Kokaia N., Malania L., Chitadze N., Sidamonidze K., Rivard R.G., Hepburn M.J., Nikolich M., Imnadze P., Trapaidze N. Epidemiological and clinical features of brucellosis in the country of Georgia. *PloS ONE*. 2017; 12(1):e0170376. DOI: 10.1371/journal.pone.0170376.

17. Beauvais W., Coker R., Nurtazina G., Guitian J. Policies and livestock systems driving brucellosis re-emergence in Kazakhstan. *Ecohealth*. 2017; 14(2):399–407. DOI: 10.1007/s10393-015-1030-7.

18. Charypkhan D., Sultanov A.A., Ivanov N.P., Baramova

18. Charypkhan D., Sultanov A.A., Ivanov N.P., Baramova S.A., Taitubayev M.K., Torgerson P.R. Economic and health burden of brucellosis in Kazakhstan. *Zoonoses Public Health*. 2019; 66(5):487–94. DOI: 10.1111/ph.12582.

Davidyants V., Shekoyan V., Poghosyan G., Petrosyan D. Acute and chronic brucellosis eleven-year audit from a tertiary hospital in Armenia. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2019; 13(5.1):42S–50S. DOI: 10.3855/jidc.10934.

20. Kracalik I.T., Abdullayev R., Asadov K., Ismayilova R., Baghirova M., Ustun N., Shikhiyev M., Talibzade A., Blackburn J.K.

Baghirova M., Ustun N., Shikhiyev M., Talibzade A., Blackburn J.K. Human brucellosis trends: re-emergence and prospects for control using a one health approach in Azerbaijan (1983–2009). Zoonoses Public Health. 2016; 63(4):294–302. DOI: 10.1111/zph.12229.

21. Zheng R., Xie S., Lu X., Sun L., Zhou Y., Zhang Y., Wang K. A systematic review and meta-analysis of epidemiology and clinical manifestations of human brucellosis in China. BioMed Res. Int. 2018; 2018:5712920. DOI: 10.1155/2018/5712920.

22. Sun G.Q., Li M.T., Zhang J., Zhang W., Pei X., Jin Z. Transmission dynamics of brucellosis: Mathematical modelling and applications in China. Comput. Struct. Biotechnol. J. 2020; 18:3843–60. DOI: 10.1016/j.csbj.2020.11.014.

23. Pathak A.D., Dubal Z.B., Karunakaran M., Swapnil P., Doijad S.P., Raorane A.V., Dhuri R.B., Bale M.A., Chakurkar E.B., Kalorey D.R., Kurkure N.V., Sukhadeo B., Barbuddhe S.B. Apparent seroprevalence, isolation and identification of risk factors for brucellosis among dairy cattle in Goa, India. Comp. Immunol. Microbiol.

Infect. Dis. 2016; 47:1–6. DOI: 10.1016/j.cimid.2016.05.004.
24. Lindahl J.F., Vrentas C.E., Deka R.P., Hazarika R.A., Rahman H., Bambal R.G., Bedi J.S., Bhattacharya C., Chaduhuri P., Fairoze N.M., Gandhi R.S., Gill J.P.S., Gupta N.K., Kumar M., Londhe S., Rahi M., Sharma P.K., Shome R., Singh R., Srinivas K., Swain B.B. Brucellosis in India: results of a collaborative workshop to define One Health priorities. Trop. Anim. Health Prod. 2020; 52(1):387–96. DOI: 10.1007/s11250-019-02029-3.
25. Tiwari H.K., Proch V., Singh B.B., Schemann K., Ward M., Singh J., Gill J.P.C., Dhand N.K. Brucellosis in India: Comparing exposure amongst veterinarians, para-veterinarians and animal handlers.

Singh J., Gill J.P.C., Dhand N.K. Brucellosis in India: Comparing exposure amongst veterinarians, para-veterinarians and animal handlers. *One Health*. 2021; 14:100367. DOI: 10.1016/j.onehlt.2021.100367. 26. Islam M.A., Khatun M.M., Were S.R., Sriranganathan N., Boyle S.M. A review of Brucella seroprevalence among humans and animals in Bangladesh with special emphasis on epidemiology, risk factors, and control opportunities. *Vet. Microbiol*. 2013; 166(3–4):317–26. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.06.014. 27. ECDC: Data disclaimer for Surveillance atlas of infectious diseases. (Cited 24 In 2022). [Internet]. Available from: http://atlas.

diseases. (Cited 24 Jan 2022). [Internet]. Available from: http://atlas.

diseases. (Cited 24 Jan 2022). [Internet]. Available from: http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=8.

28. Buhmann G., Paul F., Herbst W., Melzer F., Wolf G., Hartmann K., Fischer A. Canine brucellosis: Insights into the epidemiologic situation in Europe. Front. Vet. Sci. 2019; 6:151. DOI: 10.3389/fvets.2019.00151.

29. Van Dijk M.A.M., Engelsma M.Y., Visser V.X.N., Keur I., Holtslag M.E., Willems N., Meij B.P., Willemsen P.T.J., Wagenaar J.A., Roest H.I.J., Broens E.M. Transboundary spread of Brucella canis through import of infected dogs, the Netherlands, November 2016 – December 2018. Emerg. Infect. Dis. 2021; 27(7):1783–8. DOI: 10.3201/eid2707.201238.

30. Khurana S.K., Sehrawat A., Tiwari R., Prasad M., Gulati B., Shabbir M.Z., Chhabra R., Karthik K., Patel S.K., Pathak M., Iqbal Yatoo M., Gupta V.K., Dhama K., Sah R., Chaicumpa W. Bovine brucellosis – a comprehensive review. Vet. Q. 2021; 41(1):61–88. DOI: 10.1080/01652176.2020.1868616.

31. Sarmiento C.A., Amerson-Brown M.H., Foster C.E. An adolescent with neurobrucellosis caused by Brucella abortus cattle

adolescent with neurobrucellosis caused by *Brucella abortus* cattle vaccine strain RB51. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2021; 40(9):e353–5. DOI: 10.1097/INF.0000000000003200.

32. The Centers for Disease Control and Prevention: CDC and Texas health officials warn about illness linked to raw milk from Texas Dairy. (Cited 21 Jan 2022). [Internet]. Available from: https://www.cdc.gov/media/releases/2017/p0915-raw-milk-brucella.html.
33. The Centers for Disease Control and Prevention: Exposure

to RB51 through raw milk or milk products: How to reduce risk of infection. (Cited 21 Jan 2022). [Internet]. Available from: https://www.

fection. (Cited 21 Jan 2022). [Internet]. Available from: https://www.cdc.gov/brucellosis/clinicians/rb51-raw-milk.html.

34. The Centers for Disease Control and Prevention: Risks from unpasteurized dairy products. (Cited 21 Jan 2022). [Internet]. Available from: https://www.cdc.gov/brucellosis/exposure/drug-resistant-brucellosis-linked-raw-milk.html.

35. Pedersen K., Bauer N.E., Olsen S., Arenas-Gamboa A.M., Henry A.C., Sibley T.D., Gidlewski T. Identification of Brucella spp. in feral swine (Sus scrofa) at abattoirs in Texas, USA. Zoonoses Public Health. 2017; 64(8):647–54. DOI: 10.1111/zph.12359.

36. Pierce C.F., Brown V.R., Olsen S.C., Boggiatto P., Pedersen K., Miller R.S., Speidel S.E., Smyser T.J. Loci associated with antibody response in feral swine (Sus scrofa) infected with Brucella suis. Front. Vet. Sci. 2020; 7:554674. DOI: 10.3389/fvets.2020.554674.

Authors:
Ponomarenko D.G., Khachaturova A.A., Lukashevich D.E., Zharinova I.V., Daurova A.V., Germanova A.N., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Manin E.A., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@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 Lane, Moscow, 127994, Russian Federation.

Пономаренко Д.Г., Хачатурова А.А., Лукашевич Д.Е., Жаринова И.В., Даурова А.В., Германова А.Н., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Косточенко М.В., Манин Е.А., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@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.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-46-53

УДК 616.98:579.834.114

С.А. Рудакова¹, О.Е. Теслова^{1,2}, Н.Е. Муталинова^{1,2}, Н.А. Пеньевская^{1,2}, Н.В. Рудаков^{1,2}, Д.А. Савельев^{1,2}, Ю.Ф. Кузьменко¹

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ИКСОДОВЫМ КЛЕЩЕВЫМ БОРРЕЛИОЗАМ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2021 г. И ПРОГНОЗ НА 2022 г.

¹ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», Омск, Российская Федерация; ²ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Омск, Российская Федерация

В России в 2021 г. зарегистрировано 3875 случаев заболеваний иксодовыми клещевыми боррелиозами (ИКБ) (2,65 на 100 тыс. населения). По сравнению с 2020 г. снижение заболеваемости в 2021 г. произошло в 61 из 78 субъектов. За прошедший год наибольшее количество заболевших зарегистрировано в Центральном федеральном округе (ЦФО) – 1797 случаев, что составляет 46,4 % заболевших в России. На второй позиции по количеству случаев ИКБ находится Сибирский федеральный округ (СФО) – 616 заболевших (15,9 %), затем Уральский (УФО) – 445 случаев (11,5 %), Северо-Западный (СЗФО) – 418 (10,8 %), Приволжский (ПФО) – 388 (10 %). В Дальневосточном (ДФО) и Южном (ЮФО) федеральных округах зарегистрировано 134 (3,5 %) и 60 (1,5 % от общего числа случаев ИКБ) заболевших соответственно. Последнее место по количеству заболевших клещевыми боррелиозами в 2021 г. занимает Северо-Кавказский федеральный округ (СКФО), удельный вес которого в общей структуре заболевших в России составляет 0,4 % (зарегистрировано 17 случаев). При оценке многолетней динамики инцидентности ИКБ выявлена достоверная тенденция к снижению интенсивности эпидемического процесса для СЗФО, УФО и ПФО, в отличие от ЦФО и ЮФО, где отмечена достоверная тенденция к росту. Для Российской Федерации в целом, СФО, ДФО и СКФО наиболее вероятно в ближайшей перспективе варьирование показателей заболеваемости в пределах доверительных интервалов среднемноголетних значений.

Ключевые слова: иксодовые клещевые боррелиозы (болезнь Лайма), заболеваемость.

Корреспондирующий автор: Рудакова Светлана Анатольевна, e-mail: svetruda@mail.ru.

Для цитирования: Рудакова С.А., Теслова О.Е., Муталинова Н.Е., Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В., Савельев Д.А., Кузьменко Ю.Ф. Эпидемиологическая ситуация по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2021 г. и прогноз на 2022 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:46–53. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-46-53

Поступила 21.04.2022. Принята к публ. 26.05.2022.

S.A. Rudakova¹, O.E. Teslova^{1,2}, N.E. Mutalinova^{1,2}, N.A. Pen'evskaya^{1,2}, N.V. Rudakov^{1,2}, D.A. Savel'ev^{1,2}, Yu.F. Kuz'menko¹

Epidemiological Situation on Tick-Borne Borreliosis in the Russian Federation in 2021 and Forecast for 2022

¹Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections, Omsk, Russian Federation; ²Omsk State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Omsk, Russian Federation

Abstract. 3875 cases of tick-borne borreliosis (TBB) (2.65 per 100000 of population) were recorded in Russia in 2021. Compared to 2020, 61 out of 78 constituent entities experienced a decrease in the incidence rate in 2021. Over the past year, the largest number of cases was registered in the Central Federal District (CFD) – 1797 cases, which is 46.4 % of cases in Russia. Second in the rank by the number of cases of TBB comes the Siberian FD (SFD) – 616 cases (15.9 %), followed by Ural FD – 445 cases (11.5 %), the North-Western FD – 418 (10.8 %), and the Volga FD – 388 (10 %). 134 (3.5 %) and 60 (1.5 % of the total number of cases of TBB) cases were registered in the Far Eastern and Southern Federal Districts, respectively. The last place is occupied by the North Caucasus Federal District (NCFD), where 17 cases were registered, the share of which in the total structure of cases in Russia is 0.4 %. When assessing the long-term dynamics of TBB incidence, a significant trend towards a decrease in the intensity of the epidemic process has been revealed for the North-Western FD, UFD and VFD, as opposed to the CFD and Southern FD, where a significant upward trend was noted. For the Russian Federation on the whole, the Siberian FD, FEFD and NCFD the variation in the incidence rates within the confidence intervals of the long-term annual average values is most likely to be observed in the near future.

Key words: Ixodidae tick-borne borrelioses (Lyme disease), morbidity rates.

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

Corresponding author: Svetlana A. Rudakova, e-mail: svetruda@mail.ru.

Citation: Rudakova S.A., Teslova O.E., Mutalinova N.E., Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Savel'ev D.A., Kuz'menko Yu.F. Epidemiological Situation on Tick-Borne Borreliosis in the Russian Federation in 2021 and Forecast for 2022. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:46–53. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-46-53

Received 21.04.2022. Accepted 26.05.2022.

Rudakova S.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6262-129X Teslova O.E., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1897-5522 Mutalinova N.E., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9572-7792 Pen'evskaya N.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7220-4366

Rudakov N.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9566-9214 Savel'ev D.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0920-0100 Kuz'menko Yu.F., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8267-7012 Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ, синонимы: Лайм-боррелиоз, болезнь Лайма, клещевой боррелиоз, боррелиоз Лайма) — группа инфекционных трансмиссивных природно-очаговых заболеваний, вызываемых бактериями рода *Borrelia* семейства *Spirochaetaceae*, передающихся клещами и характеризующихся поражением кожи, нервной системы, опорно-двигательного аппарата, сердца, имеющих наклонность к хроническому и рецидивирующему течению [1, 2].

Возбудители ИКБ – различные геновиды боррелий, входящие в комплекс Borrelia burgdorferi sensu lato, включающий уже более 20 генотипов [3–5]. Этиологическая роль в развитии ИКБ доказана для B. burgdorferi sensu stricto (в Северной Америке и Европе), B. afzelii, B. garinii, B. bavariensis и В. spielmanii (в Евразии), а также для В. miyamotoi, имеющей генетическое сходство не только с боррелиями комплекса Borrelia burgdorferi s.l., но и боррелиями клещевых возвратных лихорадок. Кроме того, имеются сообщения об обнаружении у пациентов В. valaisiana, B. lusitaniae и В. bissettii [6–9].

Установление видовой принадлежности возбудителя является важным аспектом при диагностике и лечении ИКБ. Генотипические особенности боррелий находят отражение в характере органных поражений, что обусловливает полиморфность клинической картины в зависимости от этиологии заболевания. Так, мигрирующая эритема наблюдается наиболее часто (до 90 %) при инфицировании B. afzelii, тогда как B. garinii обусловливает преимущественно поражение нервной системы (до 40 %). B. burgdorferi sensu stricto обусловливает преимущественное поражение опорно-двигательного аппарата. Кроме того, имеются убедительные доказательства, что часть безэритемных форм ИКБ связаны с В. mivamotoi, которая генетически ближе к боррелиям группы клещевых возвратных лихорадок, но передается иксодовыми клещами [10, 11].

Природные очаги ИКБ широко распространены в лесной ландшафтной зоне умеренного климатического пояса Северного полушария на Евро-Азиатском и Американском континентах [1, 2, 10, 11]. Переносчиками и основным резервуаром возбудителей ИКБ являются клещи рода *Ixodes*, в России основное эпидемическое значение имеют клещи *I. persulcatus* и *I. ricinus*, не исключается участие в поддержании циркуляции боррелий в природных очагах и других видов иксодовых клещей.

Относительная инцидентность ИКБ значительно различается как между странами, так и между регионами внутри стран. По данным ВОЗ, иксодовыми клещевыми боррелиозами ежегодно в мире (за пределами России) заболевает более 500 тыс. человек [10, 12]. Иксодовые клещи — переносчики боррелий встречаются в большинстве стран Европы, тем не менее они продолжают распространяться в новые регионы, а их численность увеличивается в известных эндемичных районах. Поэтому в

Европе ИКБ является самым распространенным из заболеваний, передающихся иксодовыми клещами. Инцидентность ИКБ составляет от 0,001 на 100 тыс. населения (Италия) до 632 на 100 тыс. населения (Швеция, графство Блекинге) [10].

В Российской Федерации на протяжении последних 19 лет эпидемиологическая ситуация по ИКБ остается напряженной, эта нозологическая форма находится на первом месте по распространенности и частоте регистрации среди группы инфекций, передаваемых клещами, при этом динамика заболеваемости в разных регионах имеет значительные особенности [13].

Цель работы — анализ эпидемиологической ситуации по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2021 г. и прогноз развития эпидемического процесса ИКБ на 2022 г.

В работе использованы данные формы № 2 государственной статистической отчетности за 2010—2021 гг. и сведения, полученные Референс-центром по мониторингу за боррелиозами ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» из субъектов РФ в 2021 г. При выполнении работы использованы эпидемиологические методы исследования с применением современных информационных технологий.

Эпидемиологическая ситуация по ИКБ в Российской Федерации в 2021 г. Согласно данным официальной статистики, всего в России в 2021 г. ИКБ заболело 3875 человек, что меньше прошлогоднего (4204 человека) количества заболевших на 327 случаев и ниже, чем в 2019 г. (8048 случаев) в 2,1 раза. Всего в течение анализируемого периода заболеваемость ИКБ регистрировалась в 69 из 85 субъектов России: во всех 18 субъектах Центрального федерального округа (ЦФО), в 9 из 11 субъектов Северо-Западного федерального округа (СЗФО) (кроме Ненецкого автономного округа и Мурманской области), в 5 из 8 субъектов Южного федерального округа (ЮФО) (кроме Республики Калмыкия, Астраханской области и г. Севастополя), в 2 (Ставропольский край, Республика Северная Осетия – Алания) из 7 субъектов Северо-Кавказского федерального округа (СКФО), во всех 14 субъектах Приволжского федерального округа (ПФО), во всех 6 субъектах Уральского федерального округа (УФО), во всех 10 субъектах Сибирского федерального округа (СФО) и в 5 из 11 субъектов Дальневосточного федерального округа (ДФО) (кроме Камчатского края, Республики Саха (Якутия), Еврейской автономной области, Амурской и Магаданской областей и Чукотского автономного округа).

В Ростовской области случаи ИКБ начали регистрировать только с 2012 г. (125 случаев за 8 лет), в Саратовской области – с 2011-го (30 случаев за 9 лет), в Республике Крым и г. Севастополе – с 2015-го (264 и 55 случаев за пять лет соответственно). В 9 субъектах Российской Федерации на протяжении последних 18 лет только в отдельные годы отмечены случаи заболеваний ИКБ: Республика Калмыкия – 1 случай,

Республика Адыгея — 36, Чеченская Республика — 21, Республика Дагестан — 9, Карачаево-Черкесская Республика — 4, Ненецкий автономный округ — 3, Республика Саха (Якутия) — 12, Магаданская область — 5, Камчатский край — 5 случаев. Поэтому тенденции развития эпидемического процесса определяли для территорий с ежегодно регистрируемой заболеваемостью ИКБ.

За 2021 г. наибольшее количество заболевших зарегистрировано в ЦФО – 1797 случаев, что составляет 46,4 % заболевших в России. На второй позиции по количеству случаев ИКБ находится СФО – 616 заболевших (15,9 %), затем УФО – 445 случаев (11,5 %), СЗФО – 418 (10,8 %), ПФО – 388 (10 %). В ДФО и ЮФО зарегистрировано 134 (3,5 %) и 60 (1,5 % от общего числа случаев ИКБ) заболевших соответственно. Последнее место по количеству заболевших клещевыми боррелиозами в 2021 г. занимает СКФО (зарегистрировано 17 случаев), удельный вес которого в общей структуре заболевших в России составляет 0,4 %.

Между федеральными округами и между субъектами, входящими в их состав, существуют заметные отличия по уровням заболеваемости и тенденциям развития эпидемического процесса ИКБ. Увеличение показателей заболеваемости ИКБ по сравнению с 2020 г. (рис. 1) отмечено в ПФО (с 0,98 до 1,33 на 100 тыс. населения), СЗФО (с 2,41 до 2,99 на 100 тыс. населения) и в меньшей степени в УФО (с 3,58 до 3,6 на 100 тыс. населения). В ЮФО количество случаев относительно предыдущего года увеличилось на 1, что не отразилось на относительном показателе инци-

дентности. При этом снижение показателей наблюдается в ЦФО (с 5,63 до 4,57 на 100 тыс. населения), ДФО (с 2,62 до 1,64 на 100 тыс. населения) и СФО (с 3,74 до 3,61 на 100 тыс. населения). В целом показатель заболеваемости ИКБ в России в период пандемии COVID-19 снизился: в 2020 г. — в 1,9 раза (2,86 против 5,48 на 100 тыс. населения), а в 2021 г. — в 1,9 раза относительно среднемноголетнего уровня (СМП $_{2010-2019}$) (2,65 против 4,99 на 100 тыс. населения).

По сравнению с 2020 г. снижение заболеваемости в 2021 г. произошло в 61 из 78 субъектов. Учитывая ограничительные меры, введенные в связи с пандемией COVID-19, логично было бы предположить, что снижение заболеваемости могло быть связано с уменьшением интенсивности контактов населения с природными очагами. Это предположение проверено в ходе сравнительного анализа показателей заболеваемости ИКБ и обращаемости населения по поводу присасывания клещей в 2021 г. и в предыдущие годы.

Всего в 2021 г. в России зарегистрировано 453283 обратившихся по поводу присасывания клеща, что только на 8,3 % меньше СМП $_{2013-2020}$ (494337 человек). В 6 из 8 федеральных округов (ЦФО, СЗФО, ЮФО, СКФО, СФО и ДФО) отмечено снижение по сравнению с СМП $_{2013-2020}$ числа обратившихся по поводу присасывания клещей, тогда как в ПФО и УФО количество пострадавших от присасывания клещей выросло. Это может быть связано с невыполнением населением рекомендованных мер самоизоляции в период сезонной активности переносчиков.

При сравнении показателя заболеваемости ИКБ и обращаемости населения по поводу присасывания

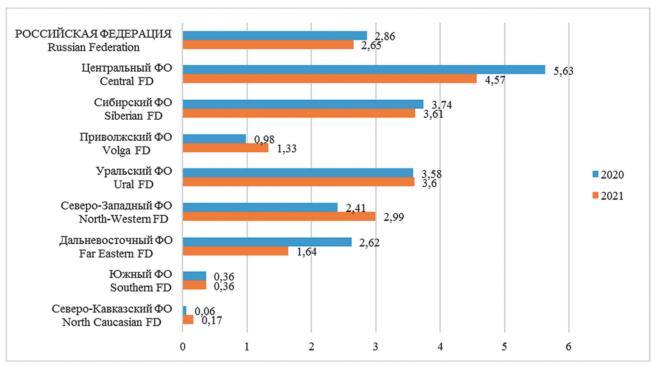


Рис. 1. Показатели заболеваемости ИКБ в 2020–2021 гг. в федеральных округах (ФО) Российской Федерации, на 100 тыс. населения

Fig. 1. The incidence rates of Ixodidae tick-borne borrelioses (ITBB) in the Federal Districts (FD) of the Russian Federation in 2020–2021, per 100 thousand of the population

клещей в относительных показателях за 2021 г. и предшествующие годы выявлено значительно большее снижение кратности заболеваемости ИКБ в 2021 г. по всем федеральным округам, чем кратность снижения частоты контактов населения с клещами. При этом в ПФО и УФО обращаемость населения по поводу присасывания клещей в 2021 г. была даже несколько выше среднемноголетнего показателя при двукратном снижении показателей заболеваемости. Это означает, что снижение регистрируемой заболеваемости обусловлено не только снижением интенсивности контактов населения с природными очагами, но и другими факторами.

Факторы и группы риска заболеваемости населения ИКБ. Существенное значение в заражении населения ИКБ играют сезонные факторы, определяющие активность клещей, что проявляется выраженной летней сезонностью заболеваемости на всех территориях [1]. В ЦФО, СЗФО, ЮФО и ДФО заболеваемость населения ИКБ в 2021 г. регистрировалась с марта по ноябрь. В ПФО и СКФО заболеваемость населения ИКБ регистрировалась с марта по октябрь. В УФО и СФО эпидемический сезон ИКБ был самым непродолжительным — с апреля по октябрь (рис. 2).

Гендерный состав заболевших ИКБ в 2021 г. в целом по России характеризовался преобладанием лиц женского пола (54,7%), в основном за счет ЦФО (60,4%) и СЗФО (56,2%), в то время как в остальных федеральных округах наблюдалось либо равное соотношение полов (ПФО, ДФО), либо незначительное преобладание лиц мужского пола (УФО – 53,5%, СФО – 51,4%).

В структуре заболевших ИКБ доля сельского населения в целом по России составляет 21,0 %, варьи-

руя по округам от 9,11 % в ЦФО до 46,6 % в СФО. Величина данного показателя в остальных регионах: ПФО – 29,05 %, ДФО – 20,70 %, СКФО – 20,75 %, ЮФО – 17,21 %, УФО – 26,05 %, СЗФО – 13,6 %. За исключением СФО, интенсивные показатели заболеваемости городского населения выше заболеваемости сельских жителей практически во всех федеральных округах. Максимальное (почти двукратное) превышение показателей заболеваемости ИКБ горожан над аналогическими показателями для сельского населения отмечено в ЦФО.

Структура заболеваемости ИКБ населения федеральных округов России по возрастным группам характеризовалась в 2021 г. преобладанием возрастной группы 60–69 лет во всех округах. При этом наименьший удельный вес имели возрастные группы до 1 года и 15–19 лет, что может быть связано с особенностями взаимодействия населения с природными очагами. Наибольший удельный вес больных ИКБ в возрасте 60–69 лет отмечен в СЗФО (27,2 %), на втором месте – ПФО (26,7 %), на третьем – СФО (22,4 %), ЦФО (20,7 %) и УФО (19,2 %).

В социальной структуре заболевших ИКБ в России наибольшую долю составляют пенсионеры и инвалиды (37,9 %) и в равных долях люди работоспособного возраста (работающие -27,0 % и безработные -23,5 %).

Согласно результатам эпидемиологических расследований, среди обстоятельств заражения во всех округах наиболее частыми (более 50 %) были выезды на дачу и базы отдыха.

Частота контактов населения с переносчиками и их зараженность (рис. 3) – факторы, определяющие уровень заболеваемости населения ИКБ. В общей структуре обращаемости территории распредели-

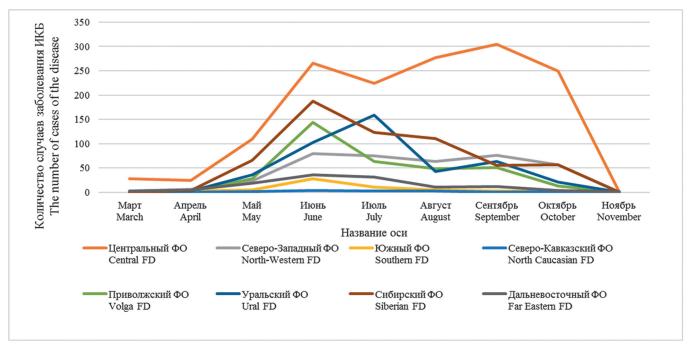


Рис. 2. Сезонность заболеваемости ИКБ в федеральных округах Российской Федерации в 2021 г.

Fig. 2. The seasonality of ITBB incidence in the Federal Districts of the Russian Federation in 2021

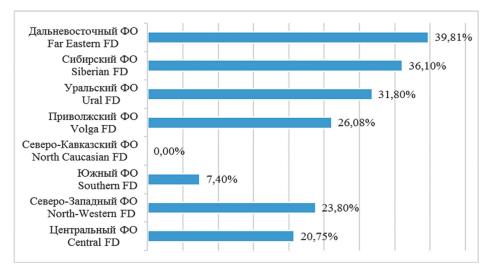


Рис. 3. Зараженность клещей *I. persulcatus* боррелиями в России в 2021 г.

Fig. 3. Infection of Ixodidae ticks, *I. persulcatus*, with Borrelia in Russia in 2021

лись следующим образом: $C\Phi O - 26$ %, $\Pi\Phi O - 22$ %, $\Pi\Phi O - 19$ %, $\Psi O - 17$ %, $\Psi O - 10$ %.

Наибольший удельный вес лабораторно подтвержденных случаев ИКБ отмечен в УФО (90,6 %), ЦФО (80,2 %) и ЮФО (80,3 %), низкие показатели лабораторного подтверждения — в ДФО (62,8 %) и ПФО (65,8 %).

При сопоставлении данных показателей с долями эритемных форм ИКБ обращает на себя внимание тот факт, что в УФО и СФО, в отличие от других регионов, у значительной части больных с лабораторно верифицированным диагнозом ИКБ отсутствовал патогномоничный симптом этого заболевания — мигрирующая эритема. Данное обстоятельство позволяет судить о существовании геновидовых различий популяций возбудителей ИКБ, циркулирующих в природных очагах разных ландшафтно-географических зон на территории России.

Тенденции развития эпидемического процесса ИКБ в федеральных округах РФ в 2010–2021 гг. и прогноз на 2022 г. Прогнозирование развития

эпидемического процесса необходимо для рационального планирования проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий. Один из методологических подходов к прогнозированию предполагает использование методики регрессионного анализа с построением линии многолетней тенденции и ее продолжение на ближайший период [14–16]. Очевидно, что при использовании регрессионного анализа точность прогноза выше при увеличении временного периода, предшествующего прогнозу. Поэтому для построения линии тренда анализировали динамику заболеваемости по округам за двенадцатилетний период (2010–2021 гг.). В таблице представлены результаты применения метода линейной регрессии для расчета темпов прироста или снижения заболеваемости. Для определения вероятных значений и доверительных интервалов (95 % ДИ) показателей заболеваемости по Российской Федерации в целом и по отдельным федеральным округам использовали функцию «Лист прогноза» в пакете прикладных программ Microsoft Excel 2016.

Тенденции развития эпидемического процесса иксодовых клещевых боррелиозов в федеральных округах Российской Федерации в 2010–2021 гг. и прогноз на 2022 г.

Epidemic process development trends as regards Ixodidae tick-borne borrelioses in the Federal Districts of the Russian Federation in 2010–2021 and forecast for 2022

| Территории Territories | Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения The incidence rates of Lyme disease per 100 thousand of the population | | Темп сн./пр. ₂₀₁₀₋₂₀₂₁ , % Decrement | Линейный тренд Linear | Прогноз на 2022 г. Forecast for 2022 | |
|---------------------------|--|----------------------|--|-----------------------------|---|--|
| | $\begin{array}{c} \text{CM}\Pi_{2010-2021} \\ \text{Long-term averages}_{2010-2021} \end{array}$ | в 2021 г. in 2021 | rates in 2010–2021, % | trend | Среднее значение Mean value | ДИ (расчет в Excel 2016) CI (calculation in Excel 2016) |
| ЦФО / CFD | 5,71 | 4,57 | 1,13 | 1 | 5,54 | 3,47÷7,62 |
| C3ФO / NWFD | 6,55 | 2,99 | -8,02 | ↓ | 2,55 | 0,02÷5,07 |
| ЮФО / SoFD | 0,79 | 0,36 | 5,61 | 1 | 1,07 | 0,22÷1,92 |
| СКФО / NCFD | 0,32 | 0,17 | -0,79 | \leftrightarrow | 0,02 | -0,26÷0,3 |
| ПФО / VFD | 3,48 | 1,33 | -9,02 | ↓ | 1,86 | 0,83÷2,9 |
| УФО / UFD | 7,11 | 3,6 | -7,17 | ↓ | 3,27 | -1,07÷7,6 |
| СФО / SiFD | 6,64 | 3,61 | -4,82 | 1 | 3,15 | 1,09÷5,21 |
| ДФО / FEFD | 3,78 | 1,64 | -3,1 | ↓ | 2,76 | 0,94÷4,58 |
| PΦ / RF | 4,62 | 2,65 | -4,17 | ↓ | 3,03 | 1,63÷4,42 |

Среднемноголетний показатель заболеваемости ИКБ в России за последние 12 лет (СМ $\Pi_{2010-2021}$) составил 4,62 на 100 тыс. населения с умеренным среднегодовым темпом снижения (Тсн.), равным 4,17 % (рис. 4). При оценке динамики инцидентности ИКБ статистически значимая выраженная тенденция к снижению регистрируемой заболеваемости ИКБ выявлена для УФО (Тсн.=7,17 %), ПФО (Тсн.=9,02 %) и СЗФО (Тсн.=8,02 %); умеренная значимая тенденция снижения – в СФО (Тсн.=4,82 %) и ДФО (Тсн.=3,1 %). Методом линейной регрессии выявлена выраженная статистически значимая тенденция роста заболеваемости ИКБ в ЮФО (Тпр.=5,61 %), а умеренно значимая тенденция роста зафиксирована в ЦФО (1,13%). Для СКФО отмечен незначительный темп снижения (Тсн.= -0,17 %), но так как это значение входит в референсный интервал отсутствия тенденции (от 0 до 1 %), то можно сделать вывод о стабильной заболеваемости, уровень которой в ближайшей перспективе будет варьировать в пределах среднемноголетних значений.

Кроме того, определены тенденции развития эпидемического процесса ИКБ среди субъектов федеральных округов. Выявлена выраженная статистически значимая тенденция роста заболеваемости на протяжении периода 2010—2021 гг.: в 4 субъектах ЦФО — Брянская (Тпр.=9,7%), Воронежская (Тпр.=12,79%), Рязанская (Тпр.=9,05%) и Тульская (Тпр.=9,34%) области; в 3 субъектах ЮФО — Республика Адыгея (Тпр.=6,15%), Волгоградская (Тпр.=9,23%) и Ростовская (Тпр.=13,32%) области; в 2 субъектах ПФО — Чувашская Республика (Тпр.=9,16%) и Саратовская область (Тпр.=15,79%);

и в 1 субъекте ДФО, находящемся до 2019 г. в составе СФО, – Республика Бурятия (Тпр.=7,31 %).

Умеренная (Тпр. – от 1,1 до 5 %) тенденция роста заболеваемости ИКБ за 2010–2021 гг. выявлена: в 5 субъектах ЦФО – г. Москва (Тпр.=3,45 %), Белгородская (Тпр.=1,25 %), Ивановская (Тпр.=4,26 %), Калужская (Тпр.=3,74 %) и Курская (Тпр.=2,75 %) области; в 1 субъекте ЮФО – Республика Крым (Тпр.=1,65 %); в 1 субъекте ПФО – Пензенская область (Тпр.=2,37 %); в 2 субъектах ДФО – Забайкальский край (Тпр.=1,14 %), находящийся до 2019 г. в составе СФО, и Еврейская автономная область (Тпр.=2,73 %).

Статистически значимая выраженная тенденция к снижению заболеваемости ИКБ на протяжении последних 12 лет установлена: в 5 субъектах ЦФО – Владимирская (Тсн.=10,79 %), Костромская (Tch.=6,83 %), Липецкая (Tch.=9,78 %), Смоленская (Тсн.=8,9 %) и Ярославская (Тсн.=10,31 %) области; в 7 субъектах СЗФО – Республика Коми (Тсн. = 5,7 %), Псковская (Тсн.=22,16%), Калининградская (Тсн.= 8,22 %), Ленинградская (Тсн.=17,19 %), Вологодская (Tcн.=8,61 %), Новгородская (Tcн.=5,62 %) и Архангельская (Тсн.=8,83 %) области; в 1 субъекте ЮФО – г. Севастополь (Тсн.=14,75 %); в 5 субъектах ПФО – Кировская область (Тсн.=9,54%), Пермский край (Тсн.=12,03 %), Удмуртская Республика (Тсн.=14,78%), Республика Марий Эл (Тсн.=10,64 %), Республика Татарстан (Тсн.=5,51 %); в 6 субъектах СФО – Омская область (Тсн.=7,91 %), Республика Хакасия (Тсн.=10,78 %), Новосибирская (Tcн.=8,19 %), Иркутская (Tcн.=8,22 %) области, Алтайский край (Тсн.=5,64 %) и Республика Тыва



Рис. 4. Динамика заболеваемости иксодовыми клещевыми боррелиозами в Российской Федерации за период 2010–2021 гг. и прогноз на 2022 г.

Fig. 4. Dynamics of Ixodidae tick-borne borrelioses morbidity in the Russian Federation for the period of 2010-2021 and forecast for 2022

(Тсн.=6,6 %); в 1 субъекте ДФО – Амурская область (Тсн.=10,32 %); в 5 из 6 субъектов УФО (кроме Тюменской области, где заболеваемость стабильна) – Свердловская (Тсн.=7,52 %), Курганская (Тсн.=10,23 %) и Челябинская (Тсн.=8,06 %) области, Ханты-Мансийский (Тсн.=6,37 %) и Ямало-Ненецкий (Тсн.=7,27 %) автономные округа.

Выявлена умеренная (Тсн. – от 1,1 до 5%) тенденция снижения эпидемического процесса ИКБ: в 2 субъектах ЦФО – Орловская (Тсн.=1,55 %) Тверская (Тсн.=3,07%) области; в 3 субъектах СЗФО – Республика Карелия (Тсн.=3,06 %), Мурманская область (Тсн.=2,5%) и г. Санкт-Петербург (Тсн.=4,79 %); в 1 субъекте СКФО Ставропольский край (Тсн.=1,8 %); в 4 субъектах ПФО – Республика Башкортостан (Тсн.=2,14%), Республика Мордовия (Тсн.=4,35 %), Нижегородская (Tch.=4,32 %) и Самарская (Tch.=1,38 %) области; в 2 субъектах СФО – Красноярский край (Тсн.=5,14 %) и Томская область (Тсн.=4,55 %); в 4 субъектах ДФО - Камчатский (Тсн.=4,81%), Приморский (Тсн.=2,76 %), Хабаровский (Тсн.=4,85 %) края и Сахалинская область (Тсн.=3,19 %).

Для остальных субъектов Российской Федерации статистически значимые линейные тренды изменения уровня заболеваемости ИКБ на протяжении последних 12 лет отсутствуют.

Прогнозируемый показатель заболеваемости ИКБ в 2022 г. на 100 тыс. населения составит: для России в целом -3,03 (1,63÷4,42); ЦФО -5,54 $(3,47 \div 7,62)$; $C3\Phi O - 2,55 (0,02 \div 5,07)$; $IO\Phi O - 1,07$ $(0,22 \div 1,92)$; CK Φ O $- 0,02 (-0,26 \div 0,3)$; Π Φ O - 1,86 $(0.83 \div 2.9); \quad \forall \Phi O - 3.27 \quad (-1.07 \div 7.6); \quad C\Phi O - 3.15$ $(1,09\div5,21)$; ДФО – 2,76 $(0,94\div4,58)$.

Таким образом, в пяти из восьми федеральных округов наблюдается тенденция к снижению уровня заболеваемости ИКБ, в отличие от центральных и южных территорий европейской части России (ЦФО, ЮФО и СКФО).

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

Список литературы

1. Коренберг Э.И. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами в лесной зоне, и стратегия их профилактики: изменение приоритетов. Эпидемиология и вакцинопрофилактики: измене-5:7–17.

2. Платонов А.Е., Авксентьев Н.А., Авксентьева М.В., Деркач Е.В., Платонова О.В., Титков А.В., Колясникова Н.М. Социально-экономическое бремя пяти природно-очаговых ин-

Социально-экономическое бремя пяти природно-очаговых инфекций в Российской Федерации. Фармакоэкономика. Современная фармакоэкономика и фармакоэпидемиология. 2015; 8(1):47–56. DOI: 10.17749/2070-4909.2015.8.1.047-056.

3. Рудакова С.А., Теслова О.Е., Канешова Н.Е., Штрек С.В., Якименко В.В., Пеньевская Н.А. Геновидовое разнообразие боррелий в иксодовых клещах на территории юга Западной Сибири. Проблемы особо опасных инфекций. 2019; 4:92–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-92-96.

4. Stanek G., Wormser G.P., Gray J., Strle F. Lyme borreliosis. Lancet. 2012; 379(9814):461–73. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60103-7.

5. Wang G. Borrelia burgdorferi and other Borrelia species. In: Tang Y.W., Sussman M., Liu D., Poxton I.R., Schwartzman J., editors. Molecular Medical Microbiology. 2nd edition. Boston:

Academic Press; 2015. Vol. 3. P. 1867–909. DOI: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00104-9.

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

mc12c05s34.
7. Sprong H., Azagi T., Hoornstra D., Nijhof A.M., Knorr S., Baarsma M.E., Hovius J.W. Control of Lyme borreliosis and other Ixodes ricinus-borne diseases. *Parasit. Vectors.* 2018; 11(1):145. DOI: 10.1186/s13071-018-2744-5.
8. Estrada-Peña A., Cutler S., Potkonjak A., Vassier-Tussaut M., Van Bortel W., Zeller H., Fernández-Ruiz N., Mihalca A.D. An updated meta-analysis of the distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi s.l.* in ticks in Europe. *Int. J. Health Geogr.* 2018; 17(1):41. DOI: 10.1186/s12942-018-0163-7.
9. Steere A.C., Strle F., Wormser G.P., Hu L.T., Branda J.A., Hovius J.W., Li X., Mead P.S. Lyme borreliosis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2016; 2:16090. DOI: 10.1038/nrdp.2016.90.
10. Sykes R.A., Makiello P. An estimate of Lyme borreliosis in-

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

81. DOI: 10.1093/pubmed/fdw017.

11. Манзенюк И.Н., Манзенюк О.Ю. Клещевые боррелиозы (болезнь Лайма). Кольцово; 2005. 85 с.
12. Глобальные меры по борьбе с переносчиками инфекций
на 2017–2030 гг. (версия 5.4). Справочно-информационный документ для обсуждения на 70-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения. ВОЗ; 2017. [Электронный ресурс]. URL: https://apps.
who.int/iris/bitstream/handle/10665/274856/A70_26Rev1-ru.pdf.

3. Рудакова С.А., Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В., Пакскина Н.Д., Савельев Д.А., Блох А.И. Интенсивность и тенденции развития эпидемического процесса иксодовых клещевых боррелиозов в Российской Федерации в 2002–2018 гг. и прогноз на 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 2:22–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-22-29.

14. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднев Е.А. Эпидемиологический анализ. Методы статистической обработки

материала. Новосибирск: Наука-центр; 2011. 156 с. 15. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских

данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера; 2000. 312 с. 16. Ланг Т.А., Сесик М. Как описывать статистику в меди-

цине. Руководство для авторов, редакторов и рецензентов. М.: Практическая медицина; 2011. 477 с.

References

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

2. Platonov A.E., Avksent'ev N.A., Avksent'eva M.V., Derkach E.V., Platonova O.V., Titkov A.V., Kolyasnikova N.M. [Social-economic burden of five natural-focal infections in the Russian Federation]. Farmakoekonomika. Sovremennaya Farmakoekonomika i Farmakoepidemiologiya [Pharmacoeconomics. Modern Pharmacoeconomics and Pharmacoepidemiology]. 2015; 8(1):47–56. DOI: 10.17749/2070-4909.2015.8.1.047-056.

3. Rudakova S.A., Teslova O.E., Kaneshova N.E., Shtrek S.V., Yakimenko V.V., Pen'evskaya N.A. [Genospecies diversity of bor-

Yakimenko V.V., Pen'evskaya N.A. [Genospecies diversity of borrelia in ixodes ticks of the West Siberia]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections*]. 2019; (4):92–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-92-96.

4. Stanek G., Wormser G.P., Gray J., Strle F. Lyme borreliosis. *Lancet*. 2012; 379(9814):461–73. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)60103-7.

5. Wang G. *Borrelia burgdorferi* and other *Borrelia* species. In: Tang Y.W., Sussman M., Liu D., Poxton I.R., Schwartzman J., editors. Molecular Medical Microbiology. 2nd edition. Boston: Academic Press; 2015. Vol. 3. P. 1867–909. DOI: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00104-9.

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

mc12c05s34.

mc12c05s34.
7. Sprong H., Azagi T., Hoornstra D., Nijhof A.M., Knorr S., Baarsma M.E., Hovius J.W. Control of Lyme borreliosis and other Ixodes ricinus-borne diseases. *Parasit. Vectors.* 2018; 11(1):145. DOI: 10.1186/s13071-018-2744-5.
8. Estrada-Peña A., Cutler S., Potkonjak A., Vassier-Tussaut M., Van Bortel W., Zeller H., Fernández-Ruiz N., Mihalca A.D. An updated meta-analysis of the distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi s.l.* in ticks in Europe. *Int. J. Health Geogr.* 2018; 17(1):41. DOI: 10.1186/s12942-018-0163-7.
9. Steere A.C., Strle F., Wormser G.P., Hu L.T., Branda J.A., Hovius J.W., Li X., Mead P.S. Lyme borreliosis. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2016; 2:16090. DOI: 10.1038/nrdp.2016.90.

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

81. DOI: 10.1093/pubmed/tdw017.

11. Manzenyuk I.N., Manzenyuk O.Yu. [Tick-Borne Borreliosis (Lyme Disease)]. Kol'tsovo; 2005. 85 p.

12. [Global vector control measures for 2017–2030 (version 5.4). Background paper for discussion at the 70th World Health Assembly]. WHO; 2017. [Internet]. Available from: https://apps. who.int/iris/bitstream/handle/10665/274856/A70 26Rev1-ru.pdf.

13. Rudakova S.A., Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Pakskina N.D., Savel'ev D.A., Blokh A.I. [Intensity and trends in development of epidemic process of Ivodes tick-horne borrelioses in the Russian

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

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

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

2000. 312 p.

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

Authors:

Rudakova S.A., Kuz'menko Yu.F. Omsk Research Institute of Natural-Focal Infections. 7, Mira Avenue, Omsk, 644080, Russian Federation. E-mail: mail@oniipi.org.

Teslova O.E., Mutalinova N.E., Pen'evskaya N.A., Rudakov N.V., Savel'ev D.A. 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, Russian Federation.

Об авторах:

Pудакова C.A., Kузьменко $IO.\Phi.$ Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций. Российская Федерация, 644080,

Омск, пр. Мира, 7. E-mail: mail@oniipi.org. Теслова О.Е., Муталинова Н.Е., Пеньевская Н.А., Рудаков Н.В., Савельев Д.А. Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций; Российская Федерация, 644080, Омск, пр. Мира, 7; e-mail: mail@oniipi.org. Омский государственный медицинский университет; Российская Федерация, Омск, ул. Ленина, 12

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-54-63

УДК 616.98:578.8

Т.А. Савицкая¹, А.В. Иванова², Е.А. Чумачкова², М.В. Поспелов², Г.Ш. Исаева¹, И.Д. Решетникова¹, Э. Кабве¹, Ю.Н. Давидюк³, В.А. Трифонов⁴, В.Б. Зиатдинов¹, И.В. Серова¹

ОБЗОР ХАНТАВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ В МИРЕ, ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2021 г. И ПРОГНОЗ НА 2022 г.

^іФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», Казань, Российская Федерация; 2 ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ³ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Российская Федерация; ⁴Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Российская Федерация

В обзоре приведена характеристика эпидемиологической ситуации в странах мира по заболеваемости хантавирусными инфекциями. Осуществлен сравнительный анализ интенсивности и динамики эпидемиологического процесса геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) в Российской Федерации в разрезе федеральных округов в 2021 г., подготовлен прогноз заболеваемости ГЛПС на 2022 г. По результатам анализа установлено, что в 2021 г. в мире сохранялась напряженная обстановка по заболеваемости хантавирусными инфекциями. На территории Российской Федерации отмечено снижение заболеваемости ГЛПС в 2021 г. (в 1,7 раза по сравнению с показателями 2020 г.). Однако результаты эпидемиологического анализа заболеваемости ГЛПС, эпизоотологических данных и лабораторных исследований в отдельных федеральных округах Российской Федерации свидетельствуют о сохраняющейся напряженной эпидемиологической ситуации по ГЛПС. В ряде регионов страны прогнозируется высокий риск заражения ГЛПС в связи с благоприятными природно-климатическими условиями зимнего периода 2021/22 г. и высоким снежным покровом, способствующими подснежному размножению мелких млекопитающих - основных носителей ГЛПС. Наличие инфицированных грызунов свидетельствует о высокой вероятности осложнения эпидемиологической обстановки на территориях повышенной эпидемической опасности по ГЛПС.

Ключевые слова: хантавирусная инфекция, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, хантавирусный пульмональный синдром, прогноз эпидемиологической ситуации.

Корреспондирующий автор: Иванова Александра Васильевна, e-mail: rusrapi@microbe.ru. Для цитирования: Савицкая Т.А., Иванова А.В., Чумачкова Е.А., Поспелов М.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Кабве Э., Давидюк Ю.Н., Трифонов В.А., Зиатдинов В.Б., Серова И.В. Обзор хантавирусных инфекций в мире, эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Российской Федерации в 2021 г. и прогноз на 2022 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:54-63. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-54-63 Поступила 18.03.2022. Отправлена на доработку 21.03.2022. Принята к публ. 29.03.2022.

T.A. Savitskaya¹, A.V. Ivanova², E.A. Chumachkova², M.V. Pospelov², G.Sh. Isaeva¹, I.D. Reshetnikova¹, E. Kabve¹, Yu.N. Davidyuk³, V.A. Trifonov⁴, V.B. Ziatdinov¹, I.V. Serova¹

Overview of Hantavirus Infections in the World, the Epidemiological Situation on Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Russian Federation in 2021, and Forecast for 2022

¹Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation; ²Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

³Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russian Federation;

⁴Kazan State Medical Academy – affiliated branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of Russia, Kazan, Russian Federation

Abstract. The paper presents a description of the epidemiological situation on Hantavirus infection incidence in the countries around the world. Comparative analysis of the intensity and dynamics of the epidemiological process of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in the Russian Federation by Federal Districts in 2021 has been carried out and forecast of the HFRS incidence for 2022 prepared. The study has revealed that tense situation on incidence of hantavirus diseases was observed in the world in 2021. On the territory of the Russian Federation, there was a decrease in the HFRS incidence in 2021 (by 1.7 times compared to 2020). However, the results of epidemiological analysis of the HFRS incidence, epizootiological data and laboratory studies in certain Federal Districts of the Russian Federation indicate that the epidemiological situation on HFRS remains tense. High risk of HFRS infection is predicted in a number of regions of the country due to the favorable natural and climatic conditions in the winter period of 2021–2022 with a heavy snow cover, which contributed to the under-snow reproduction of small mammals, the main carriers of HFRS. The presence of infected rodents testifies to a high likelihood of complication of the epidemiological situation in areas of increased epidemic risk of HFRS.

Key words: hantavirus disease, hemorrhagic fever with renal syndrome, hantavirus pulmonary syndrome, forecast of the epidemiological situation.

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

Corresponding author: Alexandra V. Ivanova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Kabve E., Davidyuk Yu.N., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Serova I.V. Overview of Hantavirus Infections in the World, the Epidemiological Situation on Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Russian Federation in 2021, and Forecast for 2022. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:54–63. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-54-63

Received 18.03.2022. Revised 21.03.2022. Accepted 29.03.2022.

Savitskaya T.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6229-0387 Ivanova A.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4849-3866 Chumachkova E.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9877-5258 Pospelov M.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2994-473X Isaeva G.Sh., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1462-8734 Reshetnikova I.D., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3584-6861

Kabve E., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4328-8190 Davidyuk Yu.N., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4409-2942 Trifonov V.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1810-1825 Ziatdinov V.B., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8349-3757 Serova I.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5494-7775

Хантавирусная инфекция широко распространена во всем мире. На континентах Северной и Южной Америки превалирует более тяжело протекающий клинический вариант инфекции – хантавирусный пульмональный синдром (ХПС) с летальностью до 38 %, в то время как на других эндемичных территориях: в Европе, России, Китае и других странах Тихоокеанского региона - регистрируется хантавирусная болезнь, протекающая по типу геморрагического синдрома и специфического поражения почек (ГЛПС) с гораздо более низкими показателями летальности (от 0,1 до 15 % в зависимости от геноварианта возбудителя) [1]. Подавляющее число случаев заражения человека происходит в результате контакта с продуктами жизнедеятельности мелких млекопитающих. В качестве носителей вируса выступают представители 84 видов животных из 14 семейств мелких млекопитающих. С помощью иммунобиологических исследований установлена возможность заражения птиц (16 видов). Кроме того, хантавирусы выделены от 5 видов гамазовых и 1 вида краснотелковых клещей, а также от 3 видов блох [2].

Отсутствие информации о распространении хантавирусной инфекции или крайне низкая регистрация болезни в странах Африки, Ближнего Востока и Юго-Восточной Азии требуют дальнейшего, более детального изучения, однако вполне очевидно, что хантавирусная инфекция является весьма недооцененной проблемой общественного здравоохранения в упомянутых регионах, а ее масштабы, в связи с широким распространением носителей, могут быть гораздо значительнее, чем известно на сегодняшний день [3–4].

В настоящее время в Международной классификации болезней (МКБ-11), принятой на 72-й сессии Всемирной ассамблеи здравоохранения в мае 2019 г., болезни, вызванные хантавирусами, — ХПС и ГЛПС — объединены в одну рубрику «Отдельные зоонозные вирусные болезни» и включены под кодом 1D62 «Хантавирусные болезни», в отличие от предыдущей редакции Международного классификатора [5].

Цель обзора — характеристика эпидемиологической ситуации по заболеваемости хантавирусными болезнями в мире, сравнительный анализ интенсивности и динамики эпидемического процесса ГЛПС в Российской Федерации в разрезе федеральных округов в 2021 г. и прогноз заболеваемости на 2022 г.

Подготовку обзора эпидемиологической обстановки по хантавирусным болезням в мире проводили на основании данных официальных сайтов

и периодических изданий Всемирной организации здравоохранения, региональных центров профилактики и контроля заболеваний (CDC), министерств здравоохранения соответствующих стран. Кроме того, использованы данные, полученные с сайтов других международных организаций (Всемирная организация охраны здоровья животных), Глобальной сети по инфекционным болезням и эпидемиологии (Global Infectious Disease & Epidemiology Network), ProMED-mail, национальных информационных агентств, из монографий и справочных изданий, опубликованных научных статей и интернет-ресурсов.

Анализ эпидемиологической ситуации ГЛПС в Российской Федерации проведен по данным оперативного мониторинга, осуществляемого Референс-центром по мониторингу за ГЛПС (ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора), на основании информации, представленной учреждениями Роспотребнадзора в субъектах Российской Федерации. Основной метод исследования – эпидемиологический с использованием современных информационных технологий. Статистическая обработка проведена стандартными методами вариационной статистики. В качестве программного обеспечения использовали аналитическую платформу Deductor Professional и геоинформационную систему GIS «Панорама». Картографической основой послужила цифровая карта административного деления Российской Федерации.

В 2021 г. в мире сохранялась напряженная обстановка по заболеваемости хантавирусными болезнями. В связи с активно проводимыми профилактическими мероприятиями в Китае, несмотря на сохраняющееся мировое лидерство по числу заболевших, наблюдается отчетливая тенденция к снижению заболеваемости ГЛПС [6, 7]. Так, в 2019 г. в Китае зарегистрировано 9596 случаев заболевания и 44 летальных исхода (летальность составила 0,4 %). В 2020 г. согласно данным, опубликованным Центром по контролю и профилактике заболеваний Китая, число случаев ГЛПС в Китае составило 4359 (по состоянию на 01.08.2020), из них 21 - летальный. Наиболее неблагополучными по ГЛПС считаются северные районы центральной части страны, в частности Нинся-Хуэйский автономный район. Высокая заболеваемость регистрируется каждый год и в провинции Шэньси на северо-западе Китая. В последние годы на острове Тайвань регистрируют спорадические случаи ГЛПС. В 2021 г., по данным департамента контроля заболеваний Министерства здравоохранения и социального обеспечения Тайваня, в стране зарегистрировано 9 случаев ГЛПС, при этом в г. Таоюань заболевание выявлено впервые. С целью предупреждения заболевания людей в Китае широко применяется инактивированная вакцина против хантавируса *Хантаем*. Профилактическая вакцинация состоит из введения трех доз взрослому населению в возрасте от 16 до 60 лет в районах с высокой заболеваемостью. Эффективность вакцинации признается высокой, однако более 25 % от всех случаев ГЛПС в регионе обусловлены геновариантом хантавируса *Сеул*, специфическая профилактика против которого в настоящее время не разработана [8, 9].

В Европе заболеваемость ГЛПС отмечается ежегодно. В разные годы регистрируется 2–4 тыс. случаев заболевания в год, при этом показатель заболеваемости колеблется в пределах 0,4–0,8 на 100 тыс. населения. На сегодняшний день в Европе циркулируют три основных патогенных для человека хантавируса: *Пуумала* – в странах Северной и Центральной Европы; *Добрава-Белград* – в странах Юго-Восточной Европы; *Сеул* – повсеместно [10].

По данным европейской системы эпиднадзора TESSy [11], на протяжении нескольких лет самые высокие показатели заболеваемости ГЛПС в Европейском регионе отмечены в Финляндии, за последние годы среднее многолетнее значение составило 24,1 на 100 тыс. населения. Выше средних значений показатели заболеваемости по Европе зафиксированы в Греции (3,08) и Словении (3,48). В 2020 г. в 17 странах Евросоюза зарегистрировано 1647 случаев заболевания ГЛПС [11], из них на долю Финляндии пришлось 70,6 % всех зарегистрированных случаев. Большинство заболевших выявляется в возрастных категориях от 45 до 64 лет (39,5 %) и старше 65 лет (24 %). Среди мужчин случаи заболевания ГЛПС регистрируются значительно чаще (60,4 %). В 2020 г. группа исследователей из Германии впервые выявила случай передачи хантавируса Сеул от домашней крысы человеку, что свидетельствует о высокой вероятности завоза данного заболевания посредством торговли животными практически в любую точку мира [12]

Официальная регистрация ХПС в Американском регионе ведется с 1995 г. [13]. Наиболее распространенным этиологическим агентом на территории Северной Америки является геновариант Sin Nombre. В Канаде регистрируются единичные случаи ХПС. В США за последнее десятилетие, с 2011 по 2020 год, зарегистрировано более 300 случаев заболевания в 36 штатах страны. В 2021 г. впервые о случае ХПС сообщено из штатов Вашингтон, Мичиган и округа Риверсайд штата Калифорния. Как и в предыдущие годы, наибольшее число случаев ХПС в 2021 г. отмечено в штатах Монтана, Нью-Мексико и Невада. Кроме того, с 2015 г. в регионе установлен эпиднадзор за случаями нелегочного заболевания (ГЛПС), вызванного хантавирусом Сеул [14, 15].

Случаи XПС, а также серологические подтверждения хантавирусной инфекции обнаружены в 2021 г. в Боливии, Панаме, Чили и Аргентине [14]. В Боливии случаи заражения хантавирусами происходят спорадически в регионах бассейна Амазонки [16]. Превалирующими хантавирусами считаются Laguna Negra и Rio Mamore.

Хантавирусные инфекции в центральных провинциях Панамы возникают ежегодно [1]. Заражение обычно происходит в сельской местности. Регистрируют случаи заболевания как ХПС, так и ГЛПС. В 2021 г. департаментом эпидемиологии Министерства здравоохранения Республики Панамы [17] сообщалось об 11 случаях хантавирусной инфекции, из которых 6 случаев классифицированы как ХПС и 5 — ГЛПС. Заболевшие в возрасте от 19 до 80 лет были выявлены в провинциях Лос-Сантос, Верагуас, Эррера.

В 2021 г. зафиксировано 34 случая ХПС в Чили, наибольшее число — в областях Био-Био, Лос-Риос и Лос-Лагос. В пяти случаях заболевание закончилось летальным исходом [18, 19]. Территория Аргентины является высокоэндемичной по ХПС, и в последние годы в различных частях страны все чаще фиксируются тяжелые случаи заболевания ХПС со смертельным исходом. В природных очагах страны циркулируют не менее 10 различных геновариантов хантавирусов, наиболее распространенный — *Andes* [20]. Из доступных источников известно о случаях заболевания в 2021 г. в провинциях Буэнос-Айрес (1 случай), Рио-Негро (1 случай) и Сальта (5 случаев, 1 — с летальным исходом) [21–23].

В Российской Федерации ГЛПС занимает ведущее место среди всех природно-очаговых инфекций. Свыше 95 % документированных случаев ГЛПС в России зарегистрировано в европейской части страны. Вирус также циркулирует в природных очагах Сибири и Дальнего Востока [24]. На территории европейской части России ГЛПС вызывают вирусы: Пуумала, доминирующий вид, и два геноварианта вируса Добрава-Белград — вирусы Куркино и Сочи. Природным резервуаром для вируса Пуумала является рыжая полевка (Myodes glareolus), для Добрава-Белград (Куркино) — западный подвид полевой мыши (Ародетия аgrarius agrarius), для Добрава-Белград (Сочи) — кавказская лесная мышь (А. ponticus) [25].

В Западной Сибири заболевания ГЛПС вызывают сибирские варианты вирусов Пуумала и Добрава-Белград. Природными резервуарами для сибирского варианта вируса *Пуумала* являются рыжая (Myodes glareolus) и красно-серая (Clethrionomys rufocanus) полевки, для Добрава-Белград сибирского варианта вируса – западный подвид полевой мыши (A. agrarius agrarius) [26]. В дальневосточных регионах Российской Федерации ГЛПС вызывают вирусы Хантаан, Амур и Сеул. Природным резервуаром для вируса Хантаан является восточный подвид полевой мыши (A. agrarius mantchuricus), для вирусов Amyp — восточноазиатская мышь (A. peninsulae), $Cey\pi$ – серая крыса (Rattus norvegicus). Кроме того, на территории России обнаружены природные очаги некоторых непатогенных или условно патогенных для человека хантавирусов: Тула, Хабаровск, Хоккайдо, Владивосток и Топографов. Для ряда вирусов, циркулирующих в Сибирском федеральном округе, эпидемиологическая значимость на настоящий момент не установлена — хантавирусы Сивис (Sorex araneus, S. tundrensis, S. daphaenodon), Артыбаш (S. caecutiens), Кенкеме (S. roboratus), Якеши (S. isodon, S. unguiculatus), Алтай (S. araneus), Лена (S. caecutiens) [27].

Отмечена разная сезонность для отдельных представителей хантавирусов, вызывающих ГЛПС. Как правило, подъем уровня заболеваемости, связанной с вирусом Пуумала, происходит в летнеосеннее время, вирусом Амур — в весенне-летнее, вирусом Сеул — весной, а в очагах Добрава-Белград и Хантаан — осенью и зимой.

Заболеваемость регистрируется преимущественно в возрастной категории 20–50 лет. В структуре инфицированных при заражении вирусами *Пуумала* и *Сеул* преобладает городское население, при заражении видами *Добрава*, *Амур* и *Хантаан* — сельское население.

Место заражения различными видами вирусов ассоциировано с ареалом обитания и образом жизни их основных носителей. Контакт человека с вирусами Пуумала и Амур чаще происходит при посещении лесных массивов (сбор грибов и ягод, охота и т.д.), несколько реже — на садовых и дачных участках. В очагах с циркуляцией вирусов Добрава и Хантаан заражение в основном происходит в бытовых условиях в сельской местности. Инфицирование вирусом Сеул связано с жизнедеятельностью серой крысы — синантропного вида, поэтому фиксируется чаще у жителей городов [28].

Общая характеристика эпидемического процесса в Российской Федерации за 2012–2021 гг. В Российской Федерации ГЛПС занимает лидирующее положение в структуре природно-очаговых болезней. За последние десять лет в стране зарегистрировано 72009 случаев ГЛПС; интенсивный показатель заболеваемости колебался в пределах от 1,56 до 9,5 на 100 тыс. населения (среднемноголетний показатель составил 4,9 на 100 тыс. населения). Линейный тренд динамики заболеваемости ГЛПС за период с 2012 по 2021 год отражает тенденцию к снижению (рис. 1).

Случаи заболевания ГЛПС за анализируемый период зарегистрированы в 8 федеральных округах Российской Федерации, в 58 субъектах. На европейской части России отмечено 95 % от общего количества случаев ГЛПС по стране. Наибольшее количество заболевших приходится на территорию Приволжского федерального округа (ПФО): более 80 % от общего зарегистрированного количества случаев ГЛПС в России.

В 2021 г. в Российской Федерации зарегистрировано 2289 случаев заболевания ГЛПС (1,56 на 100 тыс. населения; среднемноголетний показатель [2012–2021 гг.] – 4,9 на 100 тыс. населения). В целом по стране отмечено снижение заболеваемости ГЛПС

в 1,7 раза по сравнению с показателями 2020 г. В возрастной структуре заболевших ГЛПС преобладали лица в возрасте от 30 до 59 лет (67,2 %). Доля мужского населения в общей структуре заболеваемости по России составила 75,7 %. Наиболее часто риску заражения ГЛПС подвергалось городское население (64,5 %). Зарегистрировано 111 случаев заболевания ГЛПС у детей в возрасте 0–17 лет включительно (0,37 на 100 тыс. населения). Зарегистрировано 9 летальных исходов; показатель летальности составил 0,39 %.

В значительной части выявленных случаев ГЛПС (52,2 %) заболевание ассоциировано с бытовыми заражениями по месту жительства. Заражения, связанные с пребыванием в лесу, составили 24,6 %, на садово-дачных участках — 14,6 %. Сельскохозяйственный тип заражения — 4,9 %, производственный — 2,7 %. В социальной структуре заболевших в 2021 г. установлено преобладание группы «неработающие граждане» — 23,8 %. Большая часть выявленных больных заразилась в очагах по месту постоянного проживания, лишь 144 человека (6,3 %) заразились на других территориях.

Доля тяжелых клинических форм ГЛПС по Центральному федеральному округу (ЦФО) составила 12,1%, Северо-Западному федеральному округу (СЗФО) — 3,9%, Приволжскому федеральному округу (ЗФО) — 7,7%, Дальневосточному федеральному округу (ДФО) — 26,9%, Южному федеральному округу (ЮФО) — 60%. Клинические формы со средней тяжестью заболевания по федеральным округам находились в пределах от 40,4 до 91,8%, на легкое течение болезни приходилось от 4,5 до 10,7%.

Серологические исследования состояния популяционного иммунитета к возбудителям ГЛПС проводились только в 43 субъектах страны. Всего было исследовано 10920 проб сывороток крови лиц, ранее не болевших ГЛПС, из них положительными были 633 (5,8%). Наиболее высокий уровень серопозитивных сывороток отмечен в Приморском крае – 28,6%, Самарской области – 27,04%, Республике Коми – 13,4%, Ульяновской области – 10,6%, Свердловской области – 10%, Челябинской обла-



Рис. 1. Многолетняя динамика заболеваемости ГЛПС в Российской Федерации (в период с 2012 по 2021 год наблюдается нисходящий тренд)

Fig. 1. Long-term dynamics of the HFRS incidence in the Russian Federation (a downward trend is observed in the period from 2012 to 2021)

сти -9,1 %, Еврейской автономной области -8,2 %, Тульской области -8,07 %.

Характер распределения заболеваемости ГЛПС по территории Российской Федерации в 2021 г. был неоднороден. Статистическая обработка данных методом квантильного ранжирования интенсивных показателей заболеваемости ГЛПС в каждом субъекте Российской Федерации с определением доверительных интервалов уровня заболеваемости в 2021 г. позволила выделить четыре группы территорий, отличающихся по уровню заболеваемости ГЛПС: заболеваемость отсутствует (1), низкая (2), средняя (3), высокая (4) (рис. 2).

К первой группе территорий, на которых случаи заболевания ГЛПС в 2021 г. не зарегистрированы, отнесены следующие субъекты: Московская, Смоленская, Архангельская области, Ненецкий автономный округ (АО), Калининградская, Мурманская области, Республика Калмыкия, Астраханская, Ростовская области, г. Севастополь, республики Дагестан, Ингушетия, Кабардино-Балкария, Северная Осетия - Алания, Карачаево-Черкесская и Чеченская республики, Ставропольский край, Курганская, Иркутская, Тюменская, Новосибирская, Омская, Томская, Магаданская, Сахалинская области, Ямало-Ненецкий АО, республики Алтай, Тыва, Хакасия, Бурятия, Саха, Алтайский и Красноярский края, Кемеровская область – Кузбасс, Забайкальский край, Камчатский край и Чукотский АО.

Ко второй группе (с низким уровнем заболеваемости) отнесены субъекты с диапазоном интенсив-

ного показателя заболеваемости от 0,02 до 0,97 на 100 тыс. населения: Республика Коми, Амурская, Ярославская, Саратовская, Орловская области, г. Москва, Тульская область, Республика Карелия, Тверская область, Приморский край, Еврейская автономная область, Курская область, Хабаровский край, Рязанская, Калужская области, г. Санкт-Петербург, Псковская, Ленинградская, Тамбовская, Белгородская, Владимирская, Воронежская, Свердловская, Липецкая, Волгоградская области, Ханты-Мансийский АО, республики Адыгея и Крым, Краснодарский край.

Ктретьей группе (со средним уровнем заболеваемости) отнесены субъекты Российской Федерации, в которых показатель заболеваемости на 100 тыс. населения варьировал в диапазоне от 1,07 до 9,0 на 100 тыс. населения: Кировская область, Чувашская Республика, Нижегородская область, Республика Марий Эл, Республика Татарстан, Оренбургская область, Самарская область, Республика Мордовия, Костромская, Пензенская, Ульяновская, Вологодская, Ивановская, Новгородская, Челябинская, Брянская области и Пермский край.

К четвертой группе территорий (с высоким уровнем заболеваемости) отнесены два региона с диапазоном интенсивного показателя заболеваемости выше 10 на 100 тыс. населения: республики Удмуртия и Башкортостан.

В 2021 г. в целом по Российской Федерации 19106 мелких млекопитающих исследованы на инфицированность хантавирусами. Средний показа-

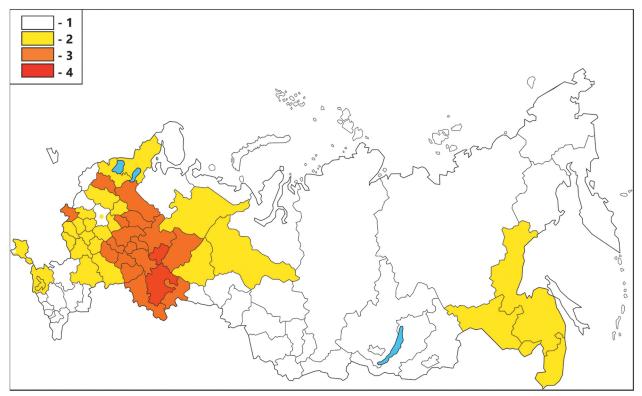


Рис. 2. Ранжирование территории Российской Федерации по уровню заболеваемости ГЛПС в 2021 г.: l – заболеваемость отсутствует; 2 – низкая заболеваемость; 3 – средняя заболеваемость; 4 – высокая заболеваемость

Fig. 2. Ranking of the territory of the Russian Federation by the level of HFRS incidence in 2021: I – no incidence; 2 – low incidence; 3 – medium incidence; 4 – high incidence

тель инфицированности составил 4,1 %, однако в ЦФО и СЗФО во второй половине года возросли индекс доминирования рыжей полевки по сравнению с предыдущим годом и инфицированность грызунов хантавирусами. В ряде субъектов ПФО отмечался рост численности грызунов (Чувашская Республика, Пензенская, Самарская и Саратовская области).

Эпидемиологическая ситуация в Центральном федеральном округе в 2021 г. В 2021 г. отмечено снижение заболеваемости ГЛПС во всех субъектах ЦФО. Всего по округу зарегистрировано 205 случаев заболевания ГЛПС (0,52 на 100 тыс. населения), что в 2,5 раза ниже уровня 2020 г. (509 случаев, или 1,3 на 100 тыс. населения). Доля заболевших ГЛПС в округе составила 8,9 % от общего количества случаев ГЛПС, зарегистрированных в Российской Федерации. Наибольший уровень заболеваемости отмечен в Костромской (3,01 на 100 тыс. населения), Ивановской (1,81 на 100 тыс. населения), Брянской (1,26 на 100 тыс. населения), Ярославской (0,88 на 100 тыс. населения) и Орловской (0,82 на 100 тыс. населения) областях.

Среди заболевших ГЛПС в округе основное количество составили работники транспорта – 18 случаев (0.04 на 100 тыс. населения), пенсионеры -42(0,1) на 100 тыс. населения), служащие – 29 (0,07) на 100 тыс. населения) и неработающие граждане – 47 (0,12 на 100 тыс. населения). Наибольшее количество случаев заболевания зарегистрировано в возрастной группе 30-59 лет - 135 случаев (0,34 на 100 тыс. населения), среди лиц старше 60 лет – 45 (0,11 на 100 тыс. населения) и в возрасте от 18 до 29 лет -18 (0,04 на 100 тыс. населения). По степени тяжести превалировали заболевания средней степени тяжести – 81,4 %, легкие формы составили 6,3 %, возросла доля тяжелых форм по сравнению с предыдущим годом – 12,1 % (4,1 % в 2020 г.). По типу заражения на большинстве территорий округа превалировал садово-дачный тип заражения – 42,9 %, бытовой тип заражения -40.9 %, лесной тип -6.3 %, производственный -4.9 % и сельскохозяйственный -3.5 %.

Эпидемиологическая ситуация в Северо-Западном федеральном округе в 2021 г. На территории СЗФО в 2021 г. отмечено снижение заболеваемости по сравнению с 2020 г. в 1,4 раза. Зарегистрировано 76 случаев ГЛПС среди населения округа. Показатель заболеваемости составил 0,54 на 100 тыс. населения (в 2020 г. зарегистрировано 109 случаев заболевания, или 0,78 на 100 тыс. населения). Заболеваемость ГЛПС по округу составила 3,3 % от общероссийской. Наибольшее количество заболевших ГЛПС зарегистрировано в Вологодской области – 29 случаев (2,51 на 100 тыс. населения), Новгородской области - 10 (1,68 на 100 тыс. населения), Республике Коми – 8 (0,98 на 100 тыс. населения) и г. Санкт-Петербурге – 18 (0,33 на 100 тыс. населения). Не регистрировались заболевания в трех субъектах: Архангельской, Мурманской областях и Ненецком АО. В остальных субъектах округа были единичные случаи.

Среди заболевших ГЛПС в округе основное количество составили неработающие граждане -19 случаев (0,14 на 100 тыс. населения), служащие – 9 (0,06 на 100 тыс. населения), пенсионеры – 19 (0,14 на 100 тыс. населения) и прочие контингенты – 19 (0,14 на 100 тыс. населения). Наибольшее количество случаев заболевания зарегистрировано в возрастной группе от 30 до 59 лет – 46 случаев (0,33 на 100 тыс. населения), среди лиц в возрасте старше 60 лет – 19 (0,14 на 100 тыс. населения), в возрасте от 18 до 29 лет – 8 (0,06 на 100 тыс. населения). По степени тяжести превалировали заболевания средней степени тяжести -78.9%, тяжелые формы -3.9%, легкие формы – 17,1 %. По типу заражения преобладал бытовой тип заражения – 42,1 %, садово-дачный – 40,8 %, лесной – 7,9 %, производственный – 3,9 % и сельскохозяйственный $-\hat{5}$,3 %.

Эпидемиологическая ситуация в Приволжском федеральном округе в 2021 г. На территории всех субъектов ПФО в 2021 г. отмечено снижение заболеваемости по сравнению с предыдущим годом в 1,6 раза. Всего по округу зарегистрировано 1912 случаев ГЛПС среди населения. Показатель заболеваемости составил 6,55 на 100 тыс. населения (в 2020 г. зарегистрировано 3086 случаев заболевания, или 10,52 на 100 тыс. населения).

Доля заболевших ГЛПС в округе составила 83,5 % от общего количества случаев ГЛПС, зарегистрированных в Российской Федерации. Наиболее высокие уровни заболеваемости ГЛПС отмечены в Удмуртской Республике (19,17 на 100 тыс. населения), Кировской области (9,07 на 100 тыс. населения), Республике Башкортостан (15,15 на 100 тыс. населения), Чувашской Республике (7,34 на 100 тыс. населения).

Среди заболевших ГЛПС в округе основное количество составили неработающие граждане — 462 случая (1,58 на 100 тыс. населения), служащие — 162 (0,55 на 100 тыс. населения), пенсионеры — 192 (0,66 на 100 тыс. населения) и прочие контингенты — 725 (2,49 на 100 тыс. населения). Большинство случаев заболевания зарегистрировано в возрастной группе от 30 до 59 лет — 1288 случаев (4,43 на 100 тыс. населения), среди лиц в возрасте от 18 до 29 лет — 312 (1,07 на 100 тыс. населения), от 60 лет и старше — 223 (0,76 на 100 тыс. населения), среди детей в возрасте до 14 лет — 95 (1,11 на 100 тыс. населения). По степени тяжести превалировали заболевания средней степени тяжести — 91,8 %, тяжелые формы — 3,6 %, легкие формы — 4,5 %.

По типу заражения на большинстве территорий округа преобладал бытовой тип заражения — 54,4 %. В Пермском крае на бытовой тип заражения пришлось 82,0 %, Республике Башкортостан — 70,9 %, Республике Марий Эл — 61,0 %, Оренбургской области — 57,9 % и Ульяновской области — 57,5 %. Доля лесного типа заражения по округу составила 27,4 %, в Республике Татарстан — 54,28 %, Оренбургской области — 32,6 %, Республике Башкортостан — 29,02 %. Нозоочаги садово-дачного типа заражения в среднем

по округу составили 9,9 %, в Самарской области – 25,5 %, Пензенской области – 24,3 %, Республике Мордовия – 24,0 %, Нижегородской области – 20,7 %, Республике Удмуртия – 19,2 %. На сельско-хозяйственный тип в среднем по округу пришлось 5,2 %, на производственный – 2,5 %.

Эпидемиологическая ситуация в Южном федеральном округе в 2021 г. В 2021 г. в округе отмечено снижение заболеваемости в 2 раза относительно показателей предыдущего года. Всего зарегистрировано 5 случаев заболевания ГЛПС, интенсивный показатель – 0,03 на 100 тыс. населения (10 случаев заболевания в 2020 г., или 0,06 на 100 тыс. населения). Заболеваемость ГЛПС по округу составила 0,21 % от общероссийской. Заболевания регистрировались только в четырех субъектах округа: 2 случая в Волгоградской области и по 1 случаю в Краснодарском крае, республиках Адыгея и Крым. Среди заболевших ГЛПС в округе были неработающие граждане – 2 случая (0,01 на 100 тыс. населения), работники транспорта и сезонные рабочие – по 1 случаю (по 0,006 на 100 тыс. населения).

Большинство случаев заболевания зарегистрировано в возрастной группе от 30 до 59 лет — 4 случая (0,02 на 100 тыс. населения). Из 5 заболевших у 3 зарегистрировано заболевание в тяжелой форме, в 2 случаях — средней степени тяжести. Основной тип заражения в округе — бытовой (60 %); на сельскохозяйственный и лесной тип заражения приходилось по 20 % случаев.

Эпидемиологическая ситуация в Северо-Кавказском федеральном округе в 2021 г. В 2021 г. в СКФО не зарегистрировано случаев заболевания ГЛПС, как и в 2020 г.

Эпидемиологическая ситуация в Уральском федеральном округе в 2021 г. На территории УФО в 2021 г. зарегистрировано 65 случаев ГЛПС (0,53 на 100 тыс. населения). Относительно показателей предыдущего года отмечен рост заболеваемости на 12,7 % (в 2020 г. – 58 случаев ГЛПС, или 0,47 на 100 тыс. населения). Заболеваемость ГЛПС по округу составила 2,8 % от общероссийской. Наибольшее число заболевших зарегистрировано в Челябинской области – 56 случаев (1,62 на 100 тыс. населения), Ханты-Мансийском АО – 4 (0,24 на 100 тыс. населения), Свердловской области – 5 (0,12 на 100 тыс. населения). Случаев заболевания ГЛПС на территории Курганской и Тюменской областей, в Ямало-Ненецком АО не зарегистрировано.

Среди заболевших ГЛПС в округе основное количество составили неработающие граждане — 10 случаев (0,08 на 100 тыс. населения) и работники транспорта — 5 случаев (0,04 на 100 тыс. населения). Большинство случаев заболевания зарегистрировано в возрастной группе от 30 до 59 лет — 49 случаев (0,4 на 100 тыс. населения). В возрасте от 18 до 29 лет заболеваемость ГЛПС отмечена на уровне 0,09 на 100 тыс. населения (12 случаев); среди лиц в возрасте старше 60 лет — 0,02 на 100 тыс. населения (3 случая). По степени тяжести превалировали за-

болевания средней степени тяжести — 81,5 %, тяжелые формы составили 7,7 %, легкие формы — 10,7 %. Преимущественный тип заражения в округе — бытовой (43,1 %); в Челябинской области на бытовой тип заражения пришлось 50,0 % от всех случаев заболевания. Случаи, связанные с пребыванием в лесу, в целом по округу составили 23,1 %. Садово-дачный тип заражения отмечен в 27,6 % случаях. При этом заражения, связанные с работой на придомовых/дачных участках, превалировали в Свердловской области — 60 % и Ханта-Мансийском АО — 100 %.

Эпидемиологическая ситуация в Сибирском федеральном округе в 2021 г. На территории СФО сохраняется эпидемиологическое благополучие по ГЛПС. Случаев заболевания ГЛПС в 2021 г. на территории округа не зарегистрировано.

Эпидемиологическая ситуация в Дальневосточном федеральном округе в 2021 г. В 2021 г. в ДФО зарегистрировано 26 заболевших ГЛПС, что составило 1,1 % от всех случаев по стране. Интенсивный показатель заболеваемости составил 0,32 на 100 тыс. населения. По сравнению с показателями предыдущего года отмечено снижение заболеваемости в 2,8 раза (в 2020 г. зарегистрировано 73 случая ГЛПС, или 0,89 на 100 тыс. населения). Наибольшее количество заболевших зарегистрировано в Приморском крае – 12 случаев, Хабаровском крае – 6, Амурской области – 7, Еврейской автономной области – 1 случай. В остальных субъектах округа случаи ГЛПС не регистрировались.

Среди заболевших основное количество составили неработающие граждане (0,07 на 100 тыс. населения), служащие (0,05 на 100 тыс. населения) и пенсионеры (0,01 на 100 тыс. населения). Основной тип заражения в округе – бытовой (34,7 %). Садоводачный тип составил 30,8 %, лесной – 23,1 %, сельскохозяйственный и производственный – по 3,8 %. Среди заболевших преобладали лица в возрасте от 30 до 59 лет – 18 случаев (0,22 на 100 тыс. населения). Заболеваемость в возрастной категории от 18 до 29 лет составила 2 случая (0,02 на 100 тыс. населения), среди детей в возрасте до 17 лет – 4 (0,21 на 100 тыс. населения). По степени тяжести превалировали заболевания со средней степенью тяжести – 73 %, тяжелые формы составили 26,9 %.

На основании анализа эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по ГЛПС в 2022 г. возможно предположить обострение эпидемиологической обстановки по ГЛПС на всей территории ПФО. Учитывая благоприятные климатические условия с высоким снежным покровом, способствовавшие подснежному размножению мелких млекопитающих — основных носителей ГЛПС, прогнозируется высокий риск заражения ГЛПС в большинстве субъектов округа. Во всех субъектах ЦФО возможно ухудшение эпидемиологической ситуации по ГЛПС в летне-осенний период. В УФО и ДФО сохранятся условия для возникновения спорадических случаев ГЛПС. В СЗФО возможна спорадическая заболеваемость ГЛПС. В ЮФО можно прогнозировать со-

хранение относительного благополучия по заболеваемости ГЛПС. Возможны спорадические случаи. В 2022 г. обострения эпидемической обстановки по ГЛПС на территории СКФО и СФО не ожидается.

Прогностические риски заражения ГЛПС на территории Российской Федерации в 2022 г. представлены на рис. 3.

В 2022 г. к группе территорий с высоким прогностическим риском заражения ГЛПС отнесены 19 субъектов: Удмуртская Республика, Республика Башкортостан, Кировская область, Чувашская Республика, Нижегородская область, Республика Марий Эл, Республика Татарстан, Оренбургская область, Самарская область, Республика Мордовия, Костромская, Пензенская, Ульяновская, Вологодская, Ивановская, Новгородская, Челябинская, Брянская области и Пермский край.

К группе территорий со средним прогностическим риском заражения отнесены 16 субъектов: Республика Коми, Амурская, Ярославская, Саратовская, Орловская области, г. Москва, Тульская область, Республика Карелия, Тверская область, Приморский край, Еврейская автономная область, Курская область, Хабаровский край, Рязанская, Калужская области, г. Санкт-Петербург.

К группе территорий с низким прогностическим риском заражения отнесены 14 субъектов: Московская, Псковская, Ленинградская области, Ханты-Мансийский АО, Республика Адыгея, Тамбовская, Белгородская, Владимирская, Воронежская, Свердловская, Липецкая, Волго-

градская области, Республика Крым, Краснодарский край.

В других регионах Российской Федерации риск заражения ГЛПС отсутствует.

Референс-центром по мониторингу за ГЛПС (Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора) совместно с Казанским федеральным университетом в 2015-2021 гг. проводилась молекулярно-генетическая идентификация штаммов Пуумала в популяциях рыжей полевки в Республике Татарстан и ряде других субъектов ПФО. За указанный период были нуклеотидные последовательности определены участков генома более чем 200 штаммов хантавирусов, циркулирующих на территории Республики Татарстан и соседних регионов. Установлено, что все выявленные штаммы Пуумала относятся к русской генетической линии (RUS). При этом идентифицированные штаммы характеризуются высокой генетической изменчивостью. В частности, различия в нуклеотидных последовательностях S- и М-сегментов генома у штаммов из разных регионов ПФО могут достигать 9–10 %. В результате сравнительного и филогенетического анализа установлено, что выявленные штаммы образуют ряд кластеров, соответствующих географической локализации популяций рыжей полевки в ПФО.

В 2021 г. в Референс-центре по мониторингу за ГЛПС проведен выборочный мониторинг инфицированности мелких млекопитающих, отловленных на территории четырех субъектов Российской

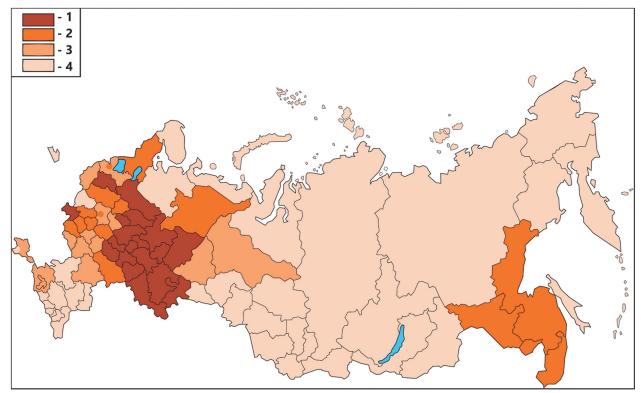


Рис. 3. Прогностические риски заражения ГЛПС на территории Российской Федерации в 2022 г.: I – высокий прогностический риск; 2 – средний прогностический риск; 3 – низкий прогностический риск; 4 – риск заражения отсутствует

Fig. 3. Prognostic risks of HFRS infection in the Russian Federation in 2022: I – high predictive risk; 2 – medium predictive risk; 3 – low predictive risk; 4 – no risk of infection

Федерации: Костромской области, Республики Мордовия, Республики Татарстан и Челябинской области. Методом ОТ-ПЦР РНК хантавируса выявлена в 48 из 607 образцов биологического материала. Доля РНК-положительных образцов по Челябинской области составила 10 %, Костромской области – 20 %, Республике Мордовия – 1 %, Республике Татарстан – 5,2 %.

С целью оценки интенсивности эпидемического процесса на эндемичных по ГЛПС территориях выполнены скрининговые обследования лиц, ранее не болевших ГЛПС, в четырех субъектах: в Костромской области, Республике Мордовия, Республике Челябинской области. Исследовано 905 проб сывороток крови. Специфические к возбудителям ГЛПС иммуноглобулины класса IgG обнаружены в 7 % проб от населения Челябинской области, в 10 % – Костромской области, в 3 % – Республики Мордовия и 6,3 % – Республики Татарстан.

Таким образом, несмотря на отмеченное снижение заболеваемости ГЛПС в целом по России в 2021 г. (в 1,7 раза по сравнению с показателями 2020 г.), результаты эпидемиологического анализа, эпизоотологических данных и лабораторных исследований в отдельных федеральных округах Российской Федерации свидетельствуют о сохраняющейся напряженной эпидемиологической ситуации по ГЛПС. В ряде регионов страны прогнозируется высокий риск заражения ГЛПС в связи с отмеченными благоприятными природно-климатическими условиями зимнего периода 2021/22 г. и высоким снежным покровом, способствующими подснежному размножению мелких млекопитающих - основных носителей ГЛПС. Наличие инфицированных грызунов свидетельствует о высокой вероятности осложнения эпидемиологической обстановки на территориях повышенной эпидемической опасности по ГЛПС.

В целях недопущения возникновения массовых вспышек ГЛПС среди населения необходимо усилить меры неспецифической профилактики в природных биотопах с наличием природных очагов ГЛПС. Необходимо проводить расчистку лесных массивов от мусора, валежника, сухостоя, густого подлеска в радиусе 500 метров вокруг оздоровительных учреждений, мест массового отдыха и пребывания населения (в том числе баз отдыха), расположенных на территории природного очага ГЛПС. На территориях населенных пунктов, парков, скверов, кладбищ, площадей за территориями (на расстоянии не менее 50 метров), родниковых источников в лесопарковой зоне населенных пунктов надо проводить систематические дератизационные обработки против мышевидных грызунов осенью (с октября по ноябрь) и весной (с апреля по май). Необходима организация периодического рекогносцировочного эпизоотологического обследования территории природных очагов ГЛПС, по результатам которого должны приниматься оперативные решения о реализации дополнительного комплекса профилактических мероприятий в случае необходимости. Неотъемлемым условием

поддержания благоприятной эпидемиологической обстановки по ГЛПС является проведение масштабной и качественной санитарно-разъяснительной работы с населением.

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

Список литературы

1. Technical Factsheets. Hantavirus. [Электронный ресурс]. URL: http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php (дата обращения 16.03.2022).

2. Ткаченко Е.А., Ишмухаметов А.А. История изучения этиологии геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Медицинский совет. 2017; 4:86–92. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-4-86-92.

3. Малеев В.В., Токмалаев А.К., Кожевникова Г.М., Голуб В.П., Половинкина Н.А., Харламова Т.В., Коннов В.В., Барышева И.В., Емероле К.Ч. Хантавирусная инфекция. Успехи и проблемы. Инфекционные болезни. 2021; 19(1):110–8. DOI: 10.20953/1729-9225-2021-110-118.

10.20953/1729-9225-2021-1-110-118.

4. Попова А.Ю., редактор. Актуальные инфекции в Гвинейской Республике: эпидемиология, диагностика и иммунитет. СПб.: ФБУН НИИЭМ имени Пастера; 2017. 288 с. 5. МКБ-11 (Международная классификация болезней 11 пересмотра). [Электронный ресурс]. URL: https://icd11.ru (дата обращения 16.03.2022).

6. Jiang H., Zheng X., Wang L., Du H., Wang P., Bai X. Hantavirus infection: a global zoonotic challenge. Virol. Sin. 2017; 32(1):32–43. DOI: 10.1007/s12250-016-3899-x.

7. Yuhan Xiao, Yanyan Li, Yuhong Li, Chongchong Yu, Yichun Bai, Lei Wang, Yongbin Wang, Estimating the long-term epide-

Bai, Lei Wang, Yongbin Wang. Estimating the long-term epidemiological trends and seasonality of hemorrhagic fever with renal syndrome in China. *Infect. Drug. Resist.* 2021; 14:3849–62. DOI: 10.2147/IDR.S325787.

8. National Bureau of Statistics of China. [Электронный ре-

о. гуацопат вureau of Statistics of China. [Электронный ресурс]. URL: http://www.stats.gov.cn (дата обращения 16.03.2022).

9. Morvan J. Cas d'infection à Hantavirus signalé à Taïwan. [Электронный ресурс]. URL: https://www.mesvaccins.net/web/news/18452-cas-d-infection-a-hantavirus-signale-a-taiwan (дата обращения 16.03.2022).

10. European Centre for Disease Prevention and Control. Hantavirus infection. [Электронный ресурс]. URL: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER-hantavirus-2019. pdf (дата обращения 16.03.2022).

11. Surveillance Atlas of Infectious Diseases. [Электронный pecypc]. URL: http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx (дата обращения 16.03.2022).

12. Hofmann J., Heuser E., Weiss S., Tenner B., Schoppmeyer K., Esser J., Klier C., Drewes S., Ulrich R.G., Kruger D.H. Autochthonous ratborne Seoul virus infection in woman with acute kidney injury. Emerg. Infect. Dis. 2020; 26(12):3096–9. DOI: 10.3201/eid2612.200708.

13. Peters C.J., Khan A.S. Hantavirus pulmonary syndrome: the new American hemorrhagic fever. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 34(9):1224–31. DOI: 10.1086/339864.

14. Pan American Health Organization. [Электронный oc], URL: https://www.paho.org/en (дата обращения pecypc]. U 16.03.2022).

15. Reported cases of Hantavirus disease. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/hantavirus/surveillance/index.html (дата обращения 16.03.2022).

html (дата обращения 16.03.2022).

16. Figueiredo L.T., Souza W.M., Ferres M., Enria D.A. Hantaviruses and cardiopulmonary syndrome in South America. Virus Res. 2014; 187:43–54. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.01.015.

17. Ministry of Health of the Republic of Panama. [Электронный ресурс]. URL: https://www.minsa.gob.pa (дата обращения 16.03.2022).

18. Departamento de Epidemiologia de Chile. [Электронный ресурс]. URL: http://epi.minsal.cl (дата обращения 16.03.2022).

19. Instituto de Salud Pública de Chile. [Электронный ресурс]. URL: https://www.ispch.cl (дата обращения 16.03.2022).

20. Bellomo C., Alonso D.O., Ricardo Т., Coelho R., Kehl S., Periolo N., Azogaray V., Casas N., Ottonelli M., Bergero L.C., Cudós M.C., Previtali M.A., Martinez V.P. Emerging hantaviruses in Central Argentina: First case of hantavirus pulmonary syndrome caused by Argentina: First case of hantavirus pulmonary syndrome caused by Alto Paraguay virus, and a novel orthohantavirus in *Scapteromys aquaticus* rodent. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2021; 15(11):e0009842. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009842.

21. Hantavirus—Americas (02): Argentina (SA). [Электронный ресурс]. 15 Feb 2021. URL: https://promedmail.org/promed-posts. Archive: 20210215.8193059 (дата обращения 16.03.2022).

22. Hantavirus-Americas (01): Argentina (RN). [Электронный pecypc]. 08 Jan 2021. URL: https://promedmail.org/promed-posts. Archive: 20210108.8085758 (дата обращения 16.03.2022).

Archive: 20210108.8085758 (дата обращения 16.03.2022).
23. Hantavirus—Americas(11): Argentina (ВА). [Электронный ресурс]. 16 Dec 2021. URL: https://promedmail.org/promed-posts. Archive: 20211216.8700283 (дата обращения 16.03.2022).
24. Каbwe Е., Davidyuk Y., Shamsutdinov A., Garanina E., Martynova E., Kitaeva K., Malisheni M., Isaeva G., Savitskaya T., Urbanowicz R.A., Morzunov S., Katongo C., Rizvanov A., Khaiboullina S. Orthohantaviruses, emerging zoonotic pathogens. Pathogens. 2020; 9(9):775. DOI: 10.3390/pathogens9090775.
25. Davidyuk Y., Shamsutdinov A., Kabwe E., Ismagilova R., Martynova E., Belyaev A., Shuralev E., Trifonov V., Savitskaya T., Isaeva G., Khaiboullina S., Rizvanov A., Morzunov S. Prevalence of the Puumala orthohantavirus strains in the Pre-Kama Area of the Republic of Tatarstan, Russia. Pathogens. 2020; 9(7):540. DOI: 10.3390/pathogens9070540.

the Republic of Tatarstan, Russia. *Pathogens*. 2020; 9(7):540. DOI: 10.3390/pathogens9070540.

26. Lundkvist A., Apekina N., Myasnikov Y., Vapalanti O., Vaheri A., Plusnin A. Dobrava hantavirus outbreak in Russia. *Lancet*. 1997; 350(9080):781–2. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)62565-2.

27. Слонова Р.А., Кушнарева Т.В., Компанец Г.Г. Современные аспекты природной очаговости хантавирусной инфекции в Приморском крае. *Тихоокеанский медицинский жур-*

нал. 2008; 2:5–9. 28. Бородина Ж.И., Царенко О.Е., Монахов К.М., Багаутдинова Л.И. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом – проблема современности. *Архивъ внутренней ме- дицины*. 2019; 9(6):419–27. DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-6-

References

1. Technical Factsheets. Hantavirus. (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. Available from: http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/ factsheets.php.

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

10.21518/2079-701X-2017-4-86-92.
3. Maleev V.V., Tokmalaev A.K., Kozhevnikova G.M., Golub V.P., Polovinkina N.A., Kharlamova T.V., Konnov V.V., Barysheva I.V., Emerole K.Ch. [Hantavirus infection. Achievements and challenges]. *Infektsionnye Bolezni [Infectious Diseases]*. 2021; 19(1):110–8. DOI: 10.20953/1729-9225-2021-1-110-118.
4. Popova A.Yu., editor. [Relevant Infections in the Republic of Guinea: Epidemiology, Diagnosis and Immunity]. St. Petersburg: Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 2017. 288 n

288 p.
5. [ICD-11 (International Classification of Diseases 11 revision)].
Available from: https://icd11.ru.

5. ICD-11 (International Classification of Diseases 11 revision)]. (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. Available from: https://icd11.ru. 6. Jiang H., Zheng X., Wang L., Du H., Wang P., Bai X. Hantavirus infection: a global zoonotic challenge. *Virol. Sin.* 2017; 32(1):32–43. DOI: 10.1007/s12250-016-3899-x.

7. Yuhan Xiao, Yanyan Li, Yuhong Li, Chongchong Yu, Yichun Bai, Lei Wang, Yongbin Wang. Estimating the long-term epidemiological trends and seasonality of hemorrhagic fever with renal syndrome in China. *Infect. Drug. Resist.* 2021; 14:3849–62. DOI: 10.2147/IDR S325787 10.2147/IDR.S325787.

8. National Bureau of Statistics of China. (Cited 16 Mar 2022).

[Internet]. Available from: http://www.stats.gov.cn.

9. Morvan J. Cas d'infection à Hantavirus signalé à Taïwan. (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. Available from: https://www.mesvaccins.net/web/news/18452-cas-d-infection-a-

https://www.intestactins.inter/web/fiews/18432-cas-q-fiffection-a-hantavirus-signale-a-taiwan.

10. European Centre for Disease Prevention and Control.

Hantavirus infection. (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/

AER-hantavirus-2019.pdf.

11. Surveillance Atlas of Infectious Diseases. (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. Available from: http://atlas.ecdc.europa.eu/public/

- 12. Hofmann J., Heuser E., Weiss S., Tenner B., Schoppmeyer K., Esser J., Klier C., Drewes S., Ulrich R.G., Kruger D.H. Autochthonous ratborne Seoul virus infection in woman with acute kidney injury. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26(12):3096–9. DOI: 10.3201/eid2612.200708.
- 13. Peters C.J., Khan A.S. Hantavirus pulmonary syndrome: the new American hemorrhagic fever. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 34(9):1224–31. DOI: 10.1086/339864.

14. Pan American Health Organization. (Cited 16 Mar 2022).

[Internet]. Available from: https://www.paho.org/en. 15. Reported cases of Hantavirus disease. (Cited 16 Mar

2022). [Internet]. Available from: https://www.cdc.gov/hantavirus/ surveillance/index.html.

16. Figueiredo L.T., Souza W.M., Ferres M., Enria D.A. Hantaviruses and cardiopulmonary syndrome in South America. Virus Res. 2014; 187:43–54. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.01.015. 17. Ministry of Health of the Republic of Panama. (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. Available from: https://www.minsa.gob.pa.

18. Departamento de Epidemiologia de Chile. (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. Available from: http://epi.minsal.el.
19. Instituto de Salud Pública de Chile. (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. Available from: https://www.ispch.cl.

[Internet]. Available from: https://www.ispch.cl.
20. Bellomo C., Alonso D.O., Ricardo T., Coelho R., Kehl S., Periolo N., Azogaray V., Casas N., Ottonelli M., Bergero L.C., Cudós M.C., Previtali M.A., Martinez V.P. Emerging hantaviruses in Central Argentina: First case of hantavirus pulmonary syndrome caused by Alto Paraguay virus, and a novel orthohantavirus in *Scapteromys aquaticus* rodent. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2021; 15(11):e0009842. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009842.
21. Hantavirus – Americas (02): Argentina (SA). (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. 15 Feb 2021. Available from: https://promedmail.org/promed-posts. Archive: 20210215.8193059.
22. Hantavirus – Americas (01): Argentina (RN). (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. 08 Jan 2021. Available from: https://promedmail.org/promed-posts. Archive: 20210108.8085758.
23. Hantavirus – Americas (11): Argentina (BA). (Cited 16 Mar 2022). [Internet]. 16 Dec 2021. Available from: https://promedmail.org/promed-posts. Archive: 20211216.8700283.
24. Kabwe E., Davidyuk Y., Shamsutdinov A., Garanina E., Martynova E., Kitaeva K., Malisheni M., Isaeva G., Savitskaya T., Urbanowicz R.A., Morzunov S., Katongo C., Rizvanov A., Khaiboullina S. Orthohantaviruses, emerging zoonotic pathogens. *Pathogens*. 2020; 9(9):775. DOI: 10.3390/pathogens9090775.
25. Davidyuk Y., Shamsutdinov A., Kabwe E., Ismagilova R., Martynova E., Belyaev A., Shuralev E., Trifonov V., Savitskaya T., Isaeva G., Khaiboullina S., Rizvanov A., Morzunov S. Prevalence of the *Puumala orthohantavirus* strains in the Pre-Kama Area of the Republic of Tatarstan, Russia. *Pathogens*. 2020; 9(7):540. DOI: 10.3390/pathogens9070540.
26. Lundkvist A., Apekina N., Myasnikov Y., Vapalanti O., Vaheri A., Plusnin A. Dobrava hantavirus outbreak in Russia. *Lancet*.

10.3390/pathogens9070540.
26. Lundkvist A., Apekina N., Myasnikov Y., Vapalanti O., Vaheri A., Plusnin A. Dobrava hantavirus outbreak in Russia. Lancet. 1997; 350(9080):781–2. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)62565-2.
27. Slonova R.A., Kushnareva T.V., Kompanets G.G. [Modern aspects of natural focality of hantavirus infection in Primorsky Territory]. Tikhookeansky Meditsinsky Zhurnal [Pacific Medical Journal]. 2008; 2:5–9.
28. Borodina Zh.I., Tsarenko O.E., Monakhov K.M., Bagautdinova L.I. [Hemorrhagic fever with renal syndrome – a challenge of the day]. Arkhiv Vnutrenney Meditsiny [Archive of Internal Medicine]. 2019; 9(6):419–27. DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-6-419-427. 419-427.

Savitskaya T.A., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Kabve E., Ziatdinov V.B., Serova I.V. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation. *Ivanova A.V., Chumachkova E.A., Pospelov M.V.* Russian Research

Nanova A.V., Chumachkova E.A., Pospelov M.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.
Davidyuk Yu.N. Kazan (Volga Region) Federal University. 18, Kremlevskaya St., Kazan, 420008, Russian Federation.
Trifonov V.A. Kazan State Medical Academy – affiliated branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of Russia. 11, Mushtari St., Kazan, 420012, Russian Federation.

Об авторах:

Савицкая Т.А., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Кабве Э., Зиатдинов В.Б., Серова И.В. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии. Российская Федерация,

420015, Казань, ул. Большая Красная, 67. *Иванова А.В., Чумачкова Е.А., Поспелов М.В.* Российский научноисследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@

Давидюк Ю.Н. Казанский (Приволжский) федеральный университет. Российская Федерация, 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18.

Трифонов В.А. Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования». Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Муштари, 11.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ Original articles

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-64-69

УДК 616.98:579.842.23(574)

Б.З. Абделиев¹, Ж.С. Далибаев¹, З.Ж. Абдел¹, Т.К. Ерубаев¹, Ш.А. Барамова², Т.В. Мека-Меченко¹, Р.С. Мусагалиева¹, А.А. Абдирасилова¹, З.Б. Жумадилова³, С.К. Умарова¹, Б.К. Аймаханов¹, Д.Т. Есимсейт¹, А.К. Рысбекова¹, А.К. Касенова¹, Б.К. Тойжанов¹, М.М. Кульбаева¹, Н.М. Раметов¹, В.П. Саловская¹

ЗОНИРОВАНИЕ ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН ПО СТЕПЕНИ НАПРЯЖЕННОСТИ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ЧУМЕ ВЕРБЛЮДОВ

¹Национальный научный центр особо опасных инфекций им. М. Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан; ²Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт, Алматы, Республика Казахстан; ³Управление эпидемиологического надзора за особо опасными инфекциями и биобезопасности Комитета санитарноэпидемиологического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан, Нур-Султан, Республика Казахстан

Цель — совершенствование эпизоотологического мониторинга и повышение эффективности профилактических (противоэпидемических) мероприятий по чуме верблюдов в Казахстане. **Материалы и методы.** Для анализа использовали данные эпидемиологического и эпизоотологического мониторинга противочумной и ветеринарной служб в природных очагах чумы Казахстана за период 2000—2020 гг. При обработке данных использованы эпидемиологические, эпизоотологические, микробиологические, статистические методы исследования, а также ГИС-технологии. **Результаты и обсуждение.** В Казахстане численность верблюдов за последние 20 лет увеличилась в 2,2 раза, если в 2000 г. было 98,2 тыс. голов, то в 2020 г. — 216,4 тыс. голов. За последние 10 лет на очаговой по чуме территории страны по неизвестным причинам пало 152 верблюда, лабораторные исследования на чуму дали отрицательный результат. По степени напряженности эпизоотической ситуации территория Республики Казахстан была условно разделена на три зоны: с высокой — пять областей общей площадью 953,15 кв. км, со средней — пять областей общей площадью 1230,72 кв. км, с низкой — четыре области и три города республиканского значения общей площадью 541,1 кв. км. Постоянный эпизоотологический мониторинг за чумой верблюдов является необходимым для системы профилактических мероприятий.

Ключевые слова: чума, верблюды, численность, природные очаги, зонирование.

Корреспондирующий автор: Дапибаев Жандос Сатыбалдыевич, e-mail: zhan.dalibaev@gmail.com.

Для цитирования: Абделиев Б.З., Далибаев Ж.С., Абдел З.Ж., Ерубаев Т.К., Барамова Ш.А., Мека-Меченко Т.В., Мусагалиева Р.С., Абдирасилова А.А., Жумадилова З.Б., Умарова С.К., Аймаханов Б.К., Есимсейт Д.Т., Рысбекова А.К., Касенова А.К., Тойжанов Б.К., Кульбаева М.М., Раметов Н.М., Садовская В.П. Зонирование территории Республики Казахстан по степени напряженности эпизоотической ситуации по чуме верблюдов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 2:64—69. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-64-69

Поступила 04.05.2022. Отправлена на доработку 10.06.2022. Принята к публ. 16.06.2022.

B.Z. Abdeliyev¹, Zh.S. Dalibayev¹, Z.Zh. Abdel¹, T.K. Yerubayev¹, Sh.A. Baramova², T.V. Meka-Mechenko¹, R.S. Mussagalieva, A.A. Abdirassilova¹, Z.B. Zhumadilova³, S.K. Umarova¹, B.K. Aimakhanov¹, D.T. Yessimseit¹, A.K. Rysbekova¹, A.K. Kassenova¹, B.K. Toyzhanov¹, M.M. Kulbaeva¹, N.M. Rametov¹, V.P. Sadovskaya¹

Zoning of the Territory of the Republic of Kazakhstan by the Degree of Intensity of the Epizootic Situation on Plague in Camels

¹National Scientific Center for Particularly Dangerous Infections named after M. Aikimbaev, Almaty, Republic of Kazakhstan;
²Kazakh Research Veterinary Institute, Almaty, Republic of Kazakhstan;

³Department of Epidemiological Surveillance over Particularly Dangerous Infections and Biosafety of the Committee for Sanitary-Epidemiological Control of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan

Abstract. The aim of the study was to improve epizootiological monitoring and increase the effectiveness of preventive (anti-epidemic) measures for camel plague control in Kazakhstan. Materials and methods. We used the data on epizootiological and epidemiological monitoring in natural plague foci of Kazakhstan, long-term measurements and indicators for the period of 2000–2020 of the anti-plague and veterinary services of the Republic for the analysis. To process the evidence, epidemiological, epizootiological, microbiological, and statistical research methods, as well as GIS technology were applied. Results and discussion. The number of camels has increased by 2.2 times in Kazakhstan over the past 20 years. Where there were 98.2 thousand heads in 2000, it amounted to 216.4 thousand heads in 2020. Over the past 10 years, 152 camels died of unknown causes in the focal area of the country, but laboratory tests for plague turned out negative. According to the hazard criteria, the territory of the country has been conditionally divided into three zones: five regions with a high degree of hazard with a total area of 953.15 sq. km, five regions with medium degree of hazard with a total area of 541.1 sq. km. Constant epizootiological monitoring over plague in camels is a necessity for the system of preventive measures.

Key words: plague, camels, abundance, natural foci, zoning.

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

Funding: The research was conducted within the framework of the program-targeted funding "Study the epizootiological characteristics of the country's territory for particularly dangerous diseases and develop veterinary and sanitary measures" for 2021–2023, IRN BR10764899-OT-21, funding source – the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan.

Corresponding author: Zhandos S. Dalibayev, e-mail: zhan.dalibaev@gmail.com.

Citation: Abdeliyev B.Z., Dalibayev Zh.S., Abdel Z.Zh., Yerubayev T.K., Baramova Sh.A., Meka-Mechenko T.V., Mussagalieva R.S., Abdirassilova A.A., Zhumadilova Z.B., Umarova, S.K. Aimakhanov B.K., Yessimseit D.T., Rysbekova A.K., Kassenova A.K., Toyzhanov B.K., Kulbaeva M.M., Rametov N.M., Sadovskaya V.P. Zoning of the Territory of the Republic of Kazakhstan by the Degree of Intensity of the Epizootic Situation on Plague in Camels. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:64–69. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-64-69
Received 04.05.2022. Revised 10.06.2022. Accepted 16.06.2022.

Abdeliev B.Z., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4184-6227 Dalibaev Zh.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6567-2225 Abdel Z.Zh., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2738-6818 Erubaev T.K., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8894-3326 Baramova Sh.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2990-0961 Meka-Mechenko T.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6322-0065 Musagalieva R.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6388-2338 Abdirasilova A.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7308-2113 Zhumadilova Z.B., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4161-1751

Umarova S.K., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1750-8105 Aimakhanov B.K., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2311-3791 Esimseit D.T., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2202-9333 Rysbekova A.K., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8684-3425 Kasenova A.K., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5557-2909 Toyzhanov B.K., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9570-6337 Rametov N.M., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8389-9362

В первой половине XVIII в. на территории современного Казахстана количество верблюдов достигало 2–2,5 млн голов. В 1928 г. общее поголовье верблюдов в СССР составляло 1800 тыс. голов, в том числе в Казахстане – 1200 тыс. голов. После начала коллективизации, с 1929 по 1932 год, произошло снижение поголовья верблюдов до 1698,7 тыс. голов, в том числе в Казахстане – до 987,5 тыс. голов. В 1941 г. поголовье верблюдов в совхозах и колхозах СССР составило 304,8 тыс. голов, в том числе в Казахстане – 104,6 тыс. голов [1].

Эпидемические осложнения по чуме, связанные с больными верблюдами, сопряжены с угрозой жизни многих людей, огромными экономическими затратами на мероприятия по локализации и ликвидации эпидемических вспышек чумы и серьезными нарушениями социально-экономической жизни отдельных регионов страны или их группы.

По данным Комитета по статистике Министерства национальной экономики Республики Казахстан (РК), численность верблюдов в 2021 г. составила более 250,0 тыс. голов [2], основное поголовье содержится в южном и западном регионах страны, из них 98,6 % верблюдов находятся на энзоотичной по чуме территории Казахстана, где периодически регистрируются эпизоотии чумы среди диких животных.

Различные типы природных очагов чумы (пустынный, степной, высокогорный и смешанные) на территории Казахстана занимают 1083,9 тыс. кв. км, что составляет около 40 % территории [3, 4], в том числе трансграничные высокогорные очаги чумы (Киргизия, Монголия, Китай, Россия), где в прошлом неоднократно имели место вспышки заболевания чумой среди населения [5–9].

Согласно имеющимся ретроспективным данным, интенсивные эпидемии и крупные вспышки чумы регистрировались практически во всех природных очагах чумы Казахстана и унесли более тысячи человеческих жизней. Последние случаи заболевания людей чумой в РК зарегистрированы в 2003 г., в том числе в результате прирезки больного чумой верблюда [4]. В настоящее время с учетом эпизоотической ситуации по чуме противочумными станциями и другими лечебно-профилактическими организациями Казахстана ежегодно выполняются необходимые объемы санитарно-профилактических и специальных противочумных мероприятий, основными из которых являются эпизоотологическое обследование очаговых территорий, вакцинация людей и верблюдов, поселковая дезинсекция и дератизация, создание защитных зон методом полевой дезинсекции вокруг населенных пунктов, санитарно-разъяснительная работа и др. Достаточные объемы и своевременность профилактических работ обеспечивают снижение риска заражения людей и верблюдов и отсутствие заболеваний чумой.

Целью исследования является зонирование и регионализация территории РК по степени напряженности эпизоотической ситуации по чуме верблюдов для совершенствования эпизоотологического мониторинга и повышения эффективности профилактических (противоэпидемических) мероприятий. Постоянный эпизоотологический мониторинг за чумой верблюдов, разработка и внедрение в практику научно обоснованных методов прогнозирования вспышек среди верблюдов, целевых индикаторов эффективности реализации ветеринарных мероприятий являются необходимой и актуальной задачей.

Материалы и методы

В работе использованы отчеты, планы и прогнозы противочумных станций (ПЧС), материалы собственных обследований, результаты научнотехнических программ Национального научного центра особо опасных инфекций им. М. Айкимбаева Министерства здравоохранения РК (ННЦООИ), методические рекомендации для Содружества независимых государств (Саратов, 2019), материалы Казахского научно-исследовательского ветеринарного института и данные областных департаментов ветеринарии Министерства сельского хозяйства РК.

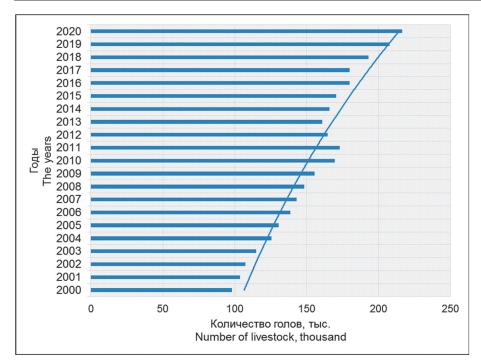


Рис. 1. Динамика численности (поголовья) верблюдов по Республике Казахстан за период 2000–2020 гг.

Fig. 1. The dynamics of camel numbers in the Republic of Kazakhstan over the period of 2000–2020

Выборка и расчет количества поголовья верблюдов, подлежащих лабораторному обследованию, проводились согласно [10]. При обработке данных использованы эпидемиологические, эпизоотологические, микробиологические, статистические методы исследования, а также ГИС-технологии.

Результаты и обсуждения

В настоящее время в Казахстане наметилась тенденция устойчивого подъема производства сельскохозяйственной продукции, что требует постоянного мониторинга инфекционных болезней, в том числе чумы верблюдов. По данным Комитета по статистике Министерства национальной экономики РК, за последние 20 лет поголовье верблюдов увеличилось в 2,2 раза: если в 2000 г. численность была 98,2 тыс. голов, то в 2020 г. составила 216,4 тыс. голов (рис. 1).

В 2021 г. численность верблюдов составила уже 256,78 тыс. голов, поголовье увеличилось в 2,6 раза по сравнению с 2000 г.

За период 1907—2003 гг. в Казахстане зарегистрировано 64 случая заболевания верблюдов и 43 эпидемических очага, связанных с прирезкой больных животных (табл. 1). Первый бактериологически подтвержденный случай чумы у верблюда зарегистрирован в 1911 г. на острове Тазарал в Каспийском море, где умерли женщины, принимавшие участие в обработке внутренних органов забитого больного верблюда. В 1911 г. в Уральской губернии прирезка больного верблюда также повлекла за собой крупную вспышку чумы среди людей. Последний случай заболевания, связанный с прирезкой больного чумой верблюда, зарегистрирован в 2003 г. в п. Жангылды Мангистауской области [11—13].

Согласно данным табл. 1, 94,7 % всех случаев заболевания людей, связанных с прирезкой больных вер-

Таблица 1 / Table 1

Данные о регистрации больных верблюдов и количестве эпидемических очагов, связанных с прирезкой больных чумой верблюдов, в Казахстане за период 1907–2003 гг.

Data on the registration of camel plague cases and the number of epidemic foci, associated with the butchering of sick camels with plague infection in Kazakhstan over the period of 1907–2003

| Исследуемые показатели | Административные регионы – области Республики Казахстан Administrative regions – regions of the Republic of Kazakhstan | | | | | |
|--|--|----------------------------|--|-----------------------------|-----------------------|-------|
| Indicators under study | Атырауская Atyrau | Мангыстауская Mangystau | Западно-Казахстанская West Kazakhstan | Кызылординская Kyzylorda | Актюбинская Aktobe | Total |
| Количество больных чумой верблюдов Number of camels with plague infection | 31 | 9 | 15 | 8 | 1 | 64 |
| Количество эпидемических очагов, связанных с прирезкой больных чумой верблюдов The number of epidemic foci associated with the butchering of camels with plague infection | 17 | 5 | 13 | 7 | 1 | 43 |

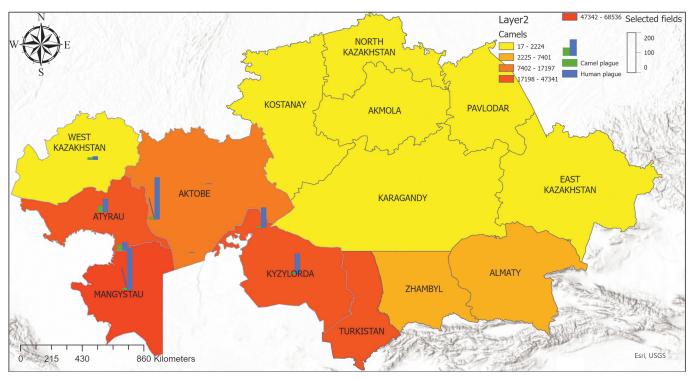


Рис. 2. Зонирование территории областей Республики Казахстан по степени напряженности эпизоотической ситуации по чуме верблюдов

Fig. 2. Zoning of the regions of the Republic of Kazakhstan by the degree hazard as regards plague in camels

блюдов, происходили в Мангистауской, Атырауской и Кызылординской областях республики.

Нами проведен анализ численности (поголовья) верблюдов в Казахстане и количества случаев чумы у верблюдов и людей, заболевание которых связано с прирезкой больных верблюдов, за многолетний период с применением ГИС-технологий (рис. 2).

Проведенный анализ показывает, что самое большое количество верблюдов (98,6 %) содержится в западном (Атырауская, Мангистауская, Актюбинская и Западно-Казахстанская области) и южном регионах (Кызылординская, Туркестанская, Жамбылская и Алматинская области) на энзоотичной по чуме территориях и 94,7 % всех случаев заболевания людей, связанных с прирезкой больных верблюдов, были именно в этих регионах. В процессе мониторинга за чумой верблюдов специалистами ННЦООИ ежегодно обследуются 600 верблюдов.

Установлено, что за последние годы (2011–2020 гг.) на очаговой по чуме территории страны по неизвестным причинам пало 152 верблюда. Все они исследованы на чумную инфекцию на базе лабораторий ПЧС, результаты исследований были отрицательными.

На основании этих данных, с учетом ретроспективных сведений по количеству случаев чумы у верблюдов и у людей, заболевание которых связано с прирезкой больных верблюдов, эпизоотологической обстановки за последние 20 лет по чуме и численности (поголовья) верблюдов, содержащихся на энзоотичной по чуме площади, территория РК условно разделена на три основные зоны (региона) по степе-

ни напряженности эпизоотической ситуации по чуме верблюдов (табл. 2).

Площадь территории с высокой степенью напряженности эпизоотической ситуации по чуме верблюдов (Атырауская, Мангистауская, Актюбинская, Кызылординская и Туркестанская области) составляет 953,15 кв. км, в том числе площадь энзоотичной по чуме территории – 732,3 тыс. кв. км; площадь территории со средней степенью напряженности эпизоотической ситуации (Алматинская, Жамбылская, Западно-Казахстанская, Карагандинская, Восточно-Казахстанская области) – 1230,72 тыс. кв. км, из которых площадь энзоотичной по чуме территории составляет 427,4 тыс. кв. км; площадь территории с низкой степенью напряженности эпизоотической ситуации (Акмолинская, Павлодарская, Костанайская, Северо-Казахстанская области, города Алматы, Нур-Султан и Шымкент) не превышает 541,1 кв. км, является неэнзоотичной по чуме территорией.

Таким образом, в Республике Казахстан численность верблюдов за последние 20 лет увеличилась в 2,2 раза. За последние 10 лет на очаговой по чуме территории страны по неизвестным причинам пало и исследовано 152 верблюда, возбудитель чумы не обнаружен. Кроме того, ежегодно выборочно исследуются 600 верблюдов на энзоотичных по чуме территориях.

Выполнение постоянного эпизоотологического мониторинга за чумой верблюдов, разработка и внедрение в практику научно обоснованных методов прогнозирования вспышек среди верблюдов с использованием ГИС-технологий, внедрение це-

Таблица 2 / Table 2

Результаты зонирования и регионализации территории РК по степени напряженности эпизоотической ситуации по чуме верблюдов Results of zoning and regionalization of the Republic of Kazakhstan according to the degree of intensity of the epizootic situation on plague in camels

| | Степень напряженности | Количество | * * | тории, тыс. кв. км ory, thousand sq. km | Количество | Наименование областей Regions | |
|----------|---|--|---------------------------------|--|---|---|--|
| № No. | эпизоотической ситуации The degree of intensity of the epizootic situation | поголовья верблюдов Number of camels | административной administrative | энзоотичной по чуме enzootic as regards plague | случаев чумы у верблюдов Number of plague cases in camels | | |
| 1 | Высокая High | от 20000 до 100000 from 20000 to 100000 | 953,15 | 732,3 | 51 | Атырауская, Мангыстауская, Актюбинская, Кызылординская, Туркестанская Atyrau, Mangystau, Aktobe, Kyzylorda, Turkestan | |
| 2 | Средняя Medium | от 1000 до 20000 from 1000 to 20000 | 1230,72 | 427,4 | 13 | Алматинская, Жамбылская, Западно-Казахстанская, Карагандинская, Восточно- Казахстанская Almaty, Zhambyl, West Kazakhstan, Karaganda, East Kazakhstan | |
| 3 | Низкая Low | от 0,0 до 1000 from 0,0 to 1000 | 541,032 | 0,0 | 0 | Акмолинская, Павлодарская, Костанайская, Северо-Казахстанская, г. Алматы, г. Нур-Султан, г. Шымкент Akmola, Pavlodar, Kostanay, North Kazakhstan, Almaty city, Nur-Sultan city, Shymkent city | |

левых индикаторов эффективности реализации ветеринарных мероприятий значительно повышают эффективность эпидемиологического надзора эпизоотической по чуме территории Республики Казахстан и снижают риски возникновения эпидемических осложнений.

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

Финансирование. Результаты получены в программно-целевого финансирования «Изучить эпизоотологическую характеристику территории страны по особо опасным болезням и разработать ветеринарно-санитарные мероприятия по повышению их эффективности» на 2021-2023 гг., ИРН BR10764899-OT-21, источник финансирования – Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан.

Список литературы

1. Баймуканов Д. Развитие верблюдоводства в Казахстане. [Электронный ресурс]. URL: https://agriexpert.ru/articles/3/razvitie-verblyudovodstva (дата обращения 23.01.2022).

гаzvitie-verblyudovodstva (дата обращения 25.01.2022).

2. Сельское, лесное и рыбное хозяйство в Республике Казахстан. Бюро национальной статистики Агентства по стратегическому планированию и реформам Республики Казахстан. [Электронный ресурс]. URL: https://stat.gov.kz/official/industry/14/publication (дата обращения 14.06.2022).

3. Atshabar B., Nurtazhin S. T., Shevtsov A., Ramankulov E.M., Sayakova Z., Rysbekova A., Stenseth N.C., Utepova I.B., Sadovskaya V.P., Abdirasilova A.A., Begimbaeva E.Z., Abdel Z.Z. Populations of the major carrier Rhombomys opimus, vectors of Xenopsylla fleas and the causative agent of Yersinia pestis in the Central Asian desert natural focus of plague. The Bulletin of National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. 2021; 1(389):26–34. DOI: 10.32014/2021.2518-1467.4.

4. Абдел З.Ж., Ерубаев Т.К., Токмурзиева Г.Ж., Аймаханов

4. Абдел З.Ж., Ерубаев Т.К., Токмурзиева Г.Ж., Аймаханов Б.К., Далибаев Ж.С., Мусагалиева Р.С., Жумадилова З.Б., Мека-

Меченко В.Г., Мека-Меченко Т.В., Матжанова А.М., Абдрасилова А.А., Умарова С.К., Рысбекова А.К., Есимсеит Д.Т., Абделиев Б.З., Коныратбаев К.К., Искаков Б.Г., Белый Д.Г., Ескермесов М.К., Кулемин М.В., Аскар Ж.С., Калдыбаев Т.Е., Мухтаров Р.К., Давлетов С.Б., Сутягин В.В., Лездиньш И.А. Демаркация границ Центральноазиатского пустынного природного очага чумы Казахстана и мониторинг ареала основного носителя *Rhombomys*

казахстана и мониторинг ареала основного носителя *Rhombomys opimus*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 2:71–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-71-78.

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

6. Sariyeva G., Bazarkanova G., Maimulov R., Abdikarimov S., Kurmanov B., Abdirassilova A., Shabunin A., Sagiyev Z., Dzhaparova A., Abdel Z., Mussagaliyeva R., Morand S., Motin V., Kosoy M. Marmots and *Yersinia pestis* strains in two plague endemic areas of Tien Shan Mountains. *Front. Vet. Sci.* 2019; 6:207. DOI: 10.3389/fvets.2019.00207

10.3389/тvets.2019.00207.
7. Балахонов С.В., Попова А.Ю., Мищенко А.И., Михайлов Е.П., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Щучинов Л.В., Зарубин И.В., Семёнова Ж.Е., Маденова Н.М., Дюсенбаев Д.К., Ярыгина М.Б., Чипанин Е.В., Косилко С.А., Носков А.К., Корзун В.М. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай человека чумой в кош-Агачском районе геспуолики Алтан в 2015 г. Сообщение 1. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 1:55–60. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60. 8. Zhang Y., Luo T., Yang C., Yue X., Guo R., Wang X., Buren M., Song Y., Yang R., Cao H., Cui Y., Dai X. Phenotypic and molecular genetic characteristics of *Yersinia postis* at an emerging solved plague focus lunggar Rasin. Ching. Am. I. Tron. Med. Hug.

товесинат genetic characteristics of Yersinia pestis at an emerging natural plague focus, Junggar Basin, China. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2018; 98(1):231–7. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0195.

9. Корзун В.М., Балахонов С.В., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Токмакова Е.Г., Санаров П.П., Акулова С.С., Косилко С.А., Отгонбаяр Д., Оргилбаяр Л., Батжав Д., Уржих Ч., Тоголдор Н., Махбал А., Цогбадрах Н., Цэрэнноров Д. Эпизоотическая ситуация в Монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2019; 2:79–86. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-79-86.

10. Султанов А.А., Иванов Н.П., Намет А.М., Саттарова Р.С., Бакиева Ф.А., Оспанов Е.К. Руководство для формирования эпизоотологических единиц и выборки из общего их наличия на административной территории для обследования и установ-

ления из них количества особей, необходимых для проведения последующих исследований, с целью определения эпизоотологического статуса стад, хозяйствующих субъектов и зооареалов. Алматы; 2021. С. 7–14.

11. Хамзин С.Х. Профилактика чумы в Атырауской области. Алматы: Изд-во ГРДБ; 1998. С. 92–103.

12. Айкимбаев А.М., Атшабар Б.Б., Аубакиров С.А., Сагиев

3.А., Сержан О.С. Эпидемический потенциал природных очагов чумы Казахстана. Алматы; 2006. С. 95–100.
13. Ривкус Ю.З., Блюммер А.Г. Эндемия чумы в пустынях Средней Азии и Казахстана. Воронеж; 2016. 358 с.

References

1. Baimukanov D. [Development of camel breeding in Kazakhstan]. (Cited 25 Jan 2022). [Internet]. Available from https:// agriexpert.ru/articles/3/razvitie-verblyudovodstva-v-kazaxstane.

2. [Agriculture, forestry and fishery in the Republic of Kazakhstan. Bureau of National Statistics of the Agency for Strategic Planning and Reforms of the Republic of Kazakhstan]. (Cited 14 June 2022). [Internet]. Available from https://stat.gov.kz/official/industry/14/publication.

3. Atshabar B., Nurtazhin S.T., Shevtsov A., Ramankulov E.M., Sayakova Z., Rysbekova A., Stenseth N.C., Utepova I.B., Sadovskaya V.P., Abdirasilova A.A., Begimbaeva E.Z., Abdel Z.Z. Populations

Sayakova Z., Rysbekova A., Stenseth N.C., Utepova I.B., Sadovskaya V.P., Abdirasilova A.A., Begimbaeva E.Z., Abdel Z.Z. Populations of the major carrier *Rhombomys opimus*, vectors of *Xenopsylla* fleas and the causative agent of *Yersinia pestis* in the Central Asian desert natural focus of plague. *The Bulletin of National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan*. 2021; 1(389):26–34. DOI: 10.32014/2021.2518-1467.4.

4. Abdel Z.Zh., Erubaev T.K., Tokmurzieva G.Zh., Aimakhanov B.K., Dalibaev Zh.S., Musagalieva R.S., Zhumadilova Z.B., Meka-Mechenko V.G., MekaMechenko T.V., Matzhanova A.M., Abdrasilova A.A., Umarova S.K., Rysbekova A.K., Esimseit D.T., Abdeliev B.Z., Konyratbaev K.K., Iskakov B.G., Bely D.G., Eskermesov M.K., Kulemin M.V., Askar Zh.S., Kaldybaev T.E., Mukhtarov R.K., Davletov S.B., Sutyagin V.V., Lezdin'sh I.A. [Demarcation of the boundaries of the Central Asian desert natural focus of plague of Kazakhstan and monitoring the areal of the main carrier, *Rhombomys opimus*]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [*Problems of Particularly Dangerous Infections*]. 2021; (2):71–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-71-78.

5. Sariyeva G.E., Abdel Z.Zh., Shabunin A., Sagiyev Z.A., Abdikarimov S.A., Bazarkanova G.D., Kendirbaev D.U., Maimulov R.K., Dzhaparova A.K., Sofeikov V.G., Abdirassilova A.A., Mussagaliyeva R.S., Kurmanov B.K., 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.

6. Sariyeva G., Bazarkanova G., Maimulov R., Abdikarimov S., Kurmanov B., Abdirassilova A., Shabunin A., Sagiyev Z., Dzhaparova A., Abdel Z., Mussagaliyeva R., Morand S., Motin V., Kosoy M. Marmots and *Yersinia pestis* strains in two plague endemic areas of Tien Shan Mountains. *Front. Vet. Sci.* 2019; 6:207. DOI: 10.3389/fvets.2019.00207.

7. Balakhonov S.V., Popova A.Yu., Mishchenko A.I., Mikhailov E.P., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Denisov A.V., Rozhdestve

10.3389/tvets.2019.00207.

7. Balakhonov S.V., Popova A. Yu., Mishchenko A.I., Mikhailov E.P., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.K., Shchuchinov L.V., Zarubin I.V., Semenova Z.E., Madenova N.M., Dyusenbaev D.K., Yarygina M.B., Chipanin E.V., Kosilko S.A., Noskov A.K., Korzun V.M. [A case of human infection with plague in the Kosh-Agach Region of the Republic of Altai in 2015. Communication 1. Clinical-epidemiological and epizootiological aspects]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*

[Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2016; (1):55–60. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60.

8. Zhang Y., Luo T., Yang C., Yue X., Guo R., Wang X., Buren M., Song Y., Yang R., Cao H., Cui Y., Dai X. Phenotypic and molecular genetic characteristics of Yersinia pestis at an emerging natural plague focus, Junggar Basin, China. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2018; 98(1):231–7. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0195.

9. Korzun V.M., Balakhonov S.V., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Tokmakova E.G., Sanarov P.P., Akulova S.S., Kosilko S.A., Otgonbayar D., Orgilbayar L., Batzhav D., Urzhikh C., Togoldor N., Makhbal A., Tsogbadrakh N., Tserennorov D. [Epizootic situation in the Mongolian part of the transboundary Sallugem natural plague focus in 2018]. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2019; (2):79–86. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-2-79-86. 10. Sultanov A.A., Ivanov N.P., Namet A.M., Sattarova R.S., Bakieva F.A., Ospanov E.K. [Guidelines for the Formation of Epizootic Units and Sampling from Their Total Availability in the Administrative Territory for Examination and Determination of the Number of Specimens Necessary for Subsequent Studies in Order to Determine the Epizootiological Status of Herds, Economic Entities and Zoo Areals]. Almaty; 2021. P. 7–14.

11. Hamzin S.H. [Plague Prevention in the Atyrau Region]. Almaty; 1998. P. 92–103.

12. Aikimbaev A.M., Atshabar B.B., Aubakirov S.A., Sagiev Z.A., Serzhan O.S. [Epidemiological Potential of Natural Plague Foci in Kazakhstan]. Almaty; 2006. P. 95–100.

13. Rivkus Yu.Z., Blyummer A.G. [Endemic Plague in the Deserts of Central Asia and Kazakhstan]. Voronezh; 2016. 358 p.

Authors:

Abdeliyev B.Z., Dalibayev Zh.S., Abdel Z.Zh., Yerubayev T.K., Meka-Mechenko T.V., Mussagalieva R.S., Abdirassilova A.A., Umarova, S.K. Aimakhanov B.K., Yessimseit D.T., Rysbekova A.K., Kassenova A.K., Toyzhanov B.K., Kulbaeva M.M., Rametov N.M., Sadovskaya V.P. National Scientific Center for Particularly Dangerous Infections named after M. Aikimbaev 14 Zhakhanger St. Almaty Republic of Kazakhstan E-mail: Aikimbaev. 14, Zhakhanger St., Almaty, Republic of Kazakhstan. E-mail: info@nncooi.kz.

Baramova Sh.A. Kazakh Research Veterinary Institute. 223, Raiymbek

Avenue, Almaty, Republic of Kazakhstan. E-mail: sholbar@mail.ru.

Zhumadilova Z.B. Department of Epidemiological Surveillance over Particularly Dangerous Infections and Biosafety of the Committee for Sanitary-Epidemiological Control of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan. Nur-Sultan, Republic of Kazakhstan. E-mail: z.zhumadilova@mz.gov.kz.

Об авторах:

Абделиев Б.З., Далибаев Ж.С., Абдел З.Ж., Ерубаев Т.К., Мека-Абделиев Б.З., Далибаев Ж.С., Абдел З.Ж., Ерубаев Т.К., Мека-Меченко Т.В., Мусагалиева Р.С., Абдирасилова А.А., Умарова С.К., Аймаханов Б.К., Есимсейт Д.Т., Рысбекова А.К., Касенова А.К., Тойжанов Б.К., Кульбаева М.М., Раметов Н.М., Садовская В.П. Национальный на-учный центр особо опасных инфекций им. М. Айкимбаева. Республика Казахстан, Алматы, ул. Жахангер, 14. E-mail: info@nncooi.kz. Барамова Ш.А. Казахский научно-исследовательский ветеринар-

ный институт. Республика Казахстан, Алматы, просп. Райымбека, 2

E-mail: sholbar@mail.ru.

Жумадилова 3.Б. Управление эпидемиологического надзора за особо опасными инфекциями и биобезопасности Комитета санитарно-эпидемиологического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан. Республика Казахстан, Нур-Султан. Е-mail: Республики Казахстан. z.zhumadilova@mz.gov.kz.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-70-74

УДК 616.932:579.222

О.С. Дуракова, С.А. Воробьева, А.В. Гаева, Я.М. Краснов, О.С. Кузнецов, П.С. Ерохин, О.В. Громова, О.А. Волох

ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ СВОЙСТВ ШТАММОВ VIBRIO CHOLERAE – ПРОДУЦЕНТОВ АКТИВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ХОЛЕРНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ ВАКЦИНЫ

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

Одним из ключевых требований к штаммам-продуцентам, используемым в производстве иммунобиологических препаратов, является их стабильность, которая заключается в сохранении основных культуральноморфологических, физиологических и продуктивных свойств в ряде генераций. В данной статье предложен комплексный методический подход для проверки стабильности штаммов методами in vitro. Цель исследования – провести комплексный анализ стабильности штаммов - продуцентов активных компонентов холерной химической вакцины при подготовке посевного материала и на этапе культивирования. Материалы и методы. В работе использовали токсигенные штаммы Vibrio cholerae 569В классического биовара серовара Инаба и V. cholerae M-41 классического биовара серовара Огава. Морфологию клеток контролировали методами световой и электронной трансмиссивной микроскопии. С помощью атомно-силовой микроскопии измеряли основные параметры бактериальной клетки. Анализ штаммов на присутствие в хромосоме гена ctxA осуществляли с использованием тест-системы «ГенХол» с электрофоретическим учетом результатов. Полногеномное секвенирование штаммов проводили на платформе Ion Torrent PGM с использованием чипа Ion 318 Chip Kit и набора реагентов Ion PGM Hi-Q View Chef 400 Kit. Для определения специфической активности холерного токсина и О-антигена использовали ДОТ-иммуноанализ с конъюгатом на основе стафилококкового белка А и наночастиц коллоидного золота. Результаты и обсуждение. Микробиологическими, иммунохимическими, молекулярно-генетическими методами и методами микроскопического анализа на всех этапах культивирования подтверждена стабильность основных свойств производственных штаммов V. cholerae – продуцентов активных компонентов холерной химической вакцины и экспериментально обоснована перспективность использования комплексного методического подхода. Адаптация данных методов позволит контролировать стабильность штаммов-продуцентов, оптимизировать условия культивирования и, как следствие, увеличить выход необходимого антигенного компонента вакцины.

Ключевые слова: Vibrio cholerae, холерная химическая вакцина, стабильность штаммов-продуцентов, полногеномное секвенирование.

Корреспондирующий автор: Дуракова Оксана Сергеевна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Дуракова О.С., Воробьева С.А., Гаева А.В., Краснов Я.М., Кузнецов О.С., Ерохин П.С., Громова О.В., Волох О.А. Изучение стабильности свойств штаммов Vibrio cholerae – продуцентов активных компонентов холерной химической вакцины. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:70–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-70-74

Поступила 29.03.2022. Отправлена на доработку 07.04.2022. Принята к публ. 22.04.2022.

O.S. Durakova, S.A. Vorob'eva, A.V. Gaeva, Ya.M. Krasnov, O.S. Kuznetsov, P.S. Erokhin, O.V. Gromova, O.A. Volokh

Investigating the Stability of the Properties of *Vibrio cholerae* Strains – Producers of Active Components of the Chemical Cholera Vaccine

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

Abstract. One of the key requirements to producer strains used in the manufacturing of immunobiological preparations is their stability, which consists in maintaining the main cultural, morphological, physiological, and productive properties in a series of generations. This paper describes a comprehensive methodological approach to testing strain stability using in vitro techniques. The purpose of this study was to conduct an integrated analysis of the stability in the strains that produce active components of the chemical cholera vaccine when preparing seed material and at the stage of cultivation. Materials and methods. Toxigenic strains of Vibrio cholerae 569B of the classical biovar, serovar Inaba and V. cholerae M-41 of the classical biovar, serovar Ogawa were used in the work. Cell morphology was monitored through light and transmission electron microscopy. Atomic force microscopy was applied to measure the main parameters of the bacterial cell. The strains were tested for the presence of ctxA gene in the chromosome using the "GenChol" test system with electrophoretic registration of results. Whole genome sequencing of the strains was performed on the Ion Torrent PGM platform using the Ion 318 Chip Kit and the Ion PGM Hi-Q View Chef 400 Kit. To determine the specific activity of cholera toxin and O-antigen, a DOT immunoassay with a conjugate based on staphylococcal protein A and colloidal gold nanoparticles was applied. Results and discussion. The stability of the main properties of industrial V. cholerae strains – producers of the active components of the chemical cholera vaccine has been confirmed using microbiological, immunochemical, molecular-genetic methods and microscopic analysis at all stages of cultivation, and the prospects for using the integrated methodological approach experimentally substantiated. Tailoring of these methods will make it possible to control the stability of producer strains, optimize cultivation conditions and, as a result, increase the yield of the necessary antigenic component of the vaccine.

Key words: Vibrio cholerae, chemical cholera vaccine, stability of producer strains, whole genome sequencing.

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

Corresponding author: Oksana S. Durakova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Durakova O.S., Vorob'eva S.A., Gaeva A.V., Krasnov Ya.M., Kuznetsov O.S., Erokhin P.S., Gromova O.V., Volokh O.A. Investigating the Stability of the Properties of Vibrio cholerae Strains – Producers of Active Components of the Chemical Cholera Vaccine. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:70–74. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-70-74

Received 29.03.2022. Revised 07.04.2022. Accepted 22.04.2022.

Durakova O.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8823-3524 Vorob'eva S.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3624-0850 Gaeva A.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7395-9023 Krasnov Ya.M., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4909-2394 Kuznetsov O.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7048-5942 Erokhin P.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9525-8327 Gromova O.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0172-2964 Volokh O.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3044-971X

Использование холерных вакцин в качестве меры предотвращения возникновения эпидемий холеры является официальной стратегией Всемирной организации здравоохранения, которая рекомендует вакцинацию контингента с повышенным риском заражения [1–3]. В Российской Федерации вакцинация против холеры включена в Национальный календарь профилактических прививок по эпидемическим показаниям (приказ Министерства здравоохранения РФ от 21.03.2014 № 125н с изменениями от 03.02.2021) и проводится препаратом для профилактики холеры – «Вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой» (PN 001465/01), которая с 2020 г. включена в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов.

ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора является единственным в России производителем этого иммунобиологического лекарственного препарата, который выпускается в соответствии с промышленными регламентами на производство.

Штамм Vibrio cholerae 569В классического биовара является продуцентом холерного токсина (XT) и О-антигена (О-АГ) серовара Инаба, а V. cholerae M-41 классического биовара - продуцентом О-АГ серовара Огава. В соответствии с нормативной документацией регулярно проводится контроль свойств штаммов-продуцентов. Производственные штаммы должны быть типичными для S-формы по морфологическим, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам. Также штаммы должны обладать вирулентными, токсигенными и иммуногенными свойствами в опытах на лабораторных животных. Морфологию штаммов проверяют путем микроскопии мазков, окрашенных по Граму; культуральные свойства изучают в посевах на жидкие и твердые питательные среды; подвижность определяют при посеве культуры петлей на агаре уколом; биохимические свойства проверяют путем посева на среды Гисса с 0,1 % углеводами; серологические свойства проверяют в реакции агглютинации; токсигенные свойства штамма V. cholerae 569B изучают на присутствие в хромосоме штамма гена ctxA.

Современные технологии (секвенирование полных геномов, ПЦР и т.д.) открывают новые возможности более тонких исследований молекулярногенетической структуры штаммов — продуцентов

холерной вакцины. С помощью молекулярногенетических методов можно определить появление мутаций и отследить стабильность генома в ряде генераций и в процессе культивирования в биореакторе. Благоприятные и неблагоприятные факторы окружающей среды могут привести к изменению поверхностных структур клетки. Методы атомносиловой микроскопии (АСМ) и световой и электронной трансмиссивной микроскопии (ТЭМ) позволяют оценить морфологические и механические параметры бактерий [4]. Методом дот-иммуноанализа с золотыми наночастицами (ДИА-ЗНЧ) доказана возможность оценки активности антигенов с первого часа культивирования холерного вибриона [5].

Цель данного исследования — провести комплексный анализ стабильности штаммов — продуцентов активных компонентов холерной химической вакцины при подготовке посевного материала и на этапе культивирования.

Материалы и методы

В работе использовали токсигенные штаммы $V.\ cholerae$ 569В классического биовара серовара Инаба и $V.\ cholerae$ М-41 классического биовара серовара Огава, полученные из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Культивирование проводили согласно нормативной документации в производственных условиях. Контролировали характер роста на плотных и жидких питательных средах, концентрацию микробных клеток, специфическую активность протективных антигенов, наличие гена $ctxA^+$, морфологию клеток в пробах бульонной культуры с І по ІІІ генерацию при подготовке посевного материала и с 1-го по 10-й час при выращивании в биореакторе.

Определение концентрации холерных вибрионов осуществляли по отраслевому стандартному образцу мутности бактериальных взвесей. Характер роста контролировали визуально. Морфологию клеток контролировали методами световой (окрашивание мазков по Граму) и электронной трансмиссивной (методом негативного контрастирования) микроскопии. С помощью атомно-силовой микроскопии (методами полуконтактным и рассогласования) измеряли основные морфометрические показатели бактериальной клетки: длину, ширину, высоту, а также параметры шероховатости поверхности клеточной стенки.

Исследования проводили на сканирующем зондовом микроскопе Solver P47 PRO (NT-MDT, Россия) с использованием кремниевых кантилеверов серии NSG01, обладающих резонансной частотой 120 кГц и константой жесткости 5,5 Н/м. Сканирование выполнялось в режиме прерывистого контакта следующими методами: полуконтактным и рассогласования. Обработку изображений проводили с помощью встроенного программного обеспечения Nova с указанием стандартных отклонений от среднего значения [6].

Анализ штаммов на присутствие в хромосоме гена ctxA проводили с использованием тест-системы для выявления ДНК V. cholerae ($ctxA^+$) методом ПЦР («ГенХол») (РосНИПЧИ «Микроб»). Продукты ПЦР анализировали методом электрофореза в 1-2 % агарозном геле с добавлением 0,5 мкг/мл этидия бромида. Полногеномное секвенирование штаммов V. cholerae 569В и М-41, отобранных на разных этапах культивирования, проводили на платформе Ion Torrent PGM (Thermo Fisher Scientific, США) с использованием чипа Ion 318 Chip Kit и набора реагентов Ion PGM Hi-Q View Chef 400 Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Покрытие нуклеотидной последовательности генома, исследуемого на каждом из этапов культивирования штаммов, составило от ×54 до ×102. Сборку единичных прочтений (ридов) проводили с помощью программы Newbler 2.6 (Roche, Швейцария).

При определении специфической активности XT и О-АГ использовали ДОТ-иммуноанализ с конъюгатом на основе стафилококкового белка А и наночастиц коллоидного золота (ДИА-3НЧ) [7].

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы Microsoft Office Excel, рассчитывая среднее арифметическое значение, среднее квадратичное отклонение и стандартную ошибку среднего.

Результаты и обсуждение

Процесс получения исходного сырья для выделения антигенов холерной вакцины имеет несколько стадий. Для получения культуры первой генерации мы брали 19-часовые колонии штаммов — продуцентов ХТ (*V. cholerae* 569B) и О-антигена

(*V. cholerae* M-41) на плотной питательной среде, II генерацией служили 6-часовые бульонные культуры, III генерацией — 17-часовая бульонная культура. IV генерацией являлась реакторная бульонная культура штаммов-продуцентов в конце выращивания (10-часовая).

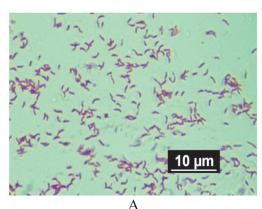
Оба штамма на всех этапах культивирования по культуральным свойствам являлись типичными для S-формы, диссоциация не отмечалась. На поверхности плотного питательного агара холерный вибрион формировал крупные (2–3 мм), гладкие, прозрачные колонии с ровными краями, которые отсвечивали голубоватым цветом при косом освещении, а на жидких питательных средах — легкое помутнение и образование биопленки.

Методом световой микроскопии при окрашивании по Граму отмечена типичность формы бактерий во всех исследованных пробах (рис. 1).

Методом ACM были изучены морфометрические показатели микробных клеток штаммовпродуцентов в процессе подготовки посевного материала и культивирования (I–IV генерации), результаты представлены в таблице.

Как видно из таблицы, морфометрические показатели микробных клеток штамма V. cholerae M-41 остаются практически неизменными в I–IV генерациях и составляют в среднем по следующим показателям: длина — $(2,05\pm0,1)$ мкм, ширина — $(0,64\pm0,05)$ мкм, высота — $(0,26\pm0,03)$ мкм. Для штамма V. cholerae 569B в процессе глубинного культивирования к 10-му часу клетки в среднем изменили свои линейные размеры в сторону увеличения длины (с $2,4\pm0,1$ до $3,51\pm0,2$ мкм). При этом высота (с $0,255\pm0,02$ мкм) и ширина (с $0,7\pm0,03$ мкм) в среднем не изменились. Шероховатость клеточной стенки у обоих штаммов оставалась практически неизменной, что свидетельствует о стабильной продукции антигенов.

Методом ТЭМ на всех этапах четко визуализировались типичные вибрионы. В условиях глубинного культивирования в реакторе и наличия оптимальных условий в среде выращивания (температура, pH, подкормка 40 % раствором глюкозы и аммиаком) к 10-му часу культивирования у клеток визуализировался жгутик (рис. 2).



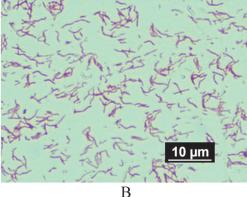


Рис. 1. Окрашивание по Граму мазков штаммов-продуцентов *V. cholerae* (10 ч культивирования):

A – штамм V. cholerae M-41; B – штамм V. cholerae 569В

Fig. 1. Gram staining of smears of *V. cholerae*-producing strains (10 hours of cultivation):

A − *V. cholerae* M-41 strain; *B* − *V. cholerae* 569B strain

| Морфометрические показатели клетон |
|------------------------------------|
| Morphometric parameters of cells |

| Наименование штамма Strain | Длина, мкм Length, µm | Ширина, мкм Width, µm | Высота, мкм Height, µm | Шероховатость, R_q , нм Roughness, R_q , nm |
|--|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---|
| V. cholerae 569B, I генерация V. cholerae 569B, I generation | 2,4±0,2 | 0,59±0,05 | 0,26±0,02 | 24±1 |
| V. cholerae 569В, II генерация V. cholerae 569В, II generation | 3,11±0,1 | 0,81±0,08 | 0,25±0,02 | 25±1 |
| V. cholerae 569B, III генерация V. cholerae 569B, III generation | 2,3±0,1 | 0,8±0,07 | 0,24±0,02 | 23±1 |
| V. cholerae 569B, IV генерация V. cholerae 569B, IV generation | 3,51±0,2 | 0,52±0,02 | 0,15±0,02 | 20±1 |
| V. cholerae M-41, I генерация V. cholerae M-41, I generation | 1,7±0,1 | 0,62±0,03 | 0,24±0,02 | 22±1 |
| V. cholerae M-41, II генерация V. cholerae M-41, II generation | 2,3±0,15 | 0,56±0,03 | 0,29±0,03 | 21±1 |
| V. cholerae M-41, III генерация V. cholerae M-41, III generation | 2,3±0,1 | 0,67±0,02 | 0,28±0,02 | 19±1 |
| V. cholerae M-41, IV генерация V. cholerae M-41, IV generation | 1,9±0,1 | 0,71±0,05 | 0,26±0,03 | 17±1 |

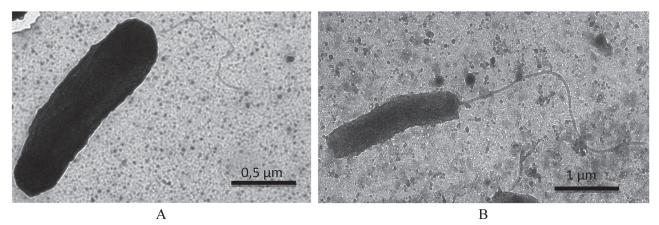


Рис. 2. Электронная микроскопия штамма V. cholerae при глубинном культивировании (10 ч): A – M-41; B – 569B

Fig. 2. Electron microscopy images of the *V. cholerae* strain during submerged cultivation (10 h): A - M-41; B - 569B

Для подтверждения наличия гена $ctxA^+$ взяты пробы с I по III генерацию при подготовке посевного материал и на 5-й, 10-й часы выращивания обоих штаммов.

Как показано на рис. 3, во всех исследованных пробах были выявлены фрагменты ДНК, свидетельствующие о наличии полноценного гена *ctxA* (полоса 564 н.п.), что говорит о стабильности производственных штаммов по показателю «токсигенность».

Анализ результатов полногеномного секвенирования показал, что в процессе подготовки посевного материала (I и II генерации обоих штаммов) и после 10 часов культивирования в биореакторе структура генома исследованных штаммов полностью сохраняется. Таким образом, сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей секвенированных образцов каждого штамма, отбираемых на разных

этапах культивирования, не выявил отличий от соответствующего исходного варианта.

Таким образом, нами подтверждена стабильность основных свойств производственных штаммов-продуцентов комплексом микробиологических, иммунохимических, молекулярно-генетических методов и методов микроскопического анализа на

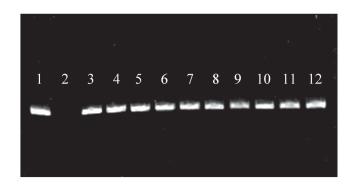


Рис. 3. Выявление участка гена ctxA в хромосоме штаммовпродуцентов с использованием тест-системы «ГенХол» методом ПЦР:

I — положительный контроль; 2 — отрицательный контроль; 3—5 — генерации посевного материала штамма V cholerae 569B; 6 — 5-й час выращивания штамма V cholerae 569B; 7 — 10-й час выращивания штамма V сholerae 569B; V — 10-й час выращивания штамма V сholerae 569B; V — 10-й час выращивания штамма V сholerae 569B; V — 10-й час выращивания штамма V сноветь V — 10-й час выращивания штамма V сноветь V — 10-й час выращивания штамма V — 10-й час выращивания V — 10-й час ма V. cholerae 569B; 8-10 — генерации посевного материала штамма V. cholerae M-41; 11 — 5-й час выращивания штамма V. cholerae M-41; 12 – 10-й час выращивания штамма V. cholerae M-41

Fig. 3. Detection of the ctxA gene region in the chromosome of producer strains using the "GenChol" test system through polymerase chain reaction:

I – positive control; 2 – negative control; 3–5 – generations of inoculum of V, cholerae 569B strain; 6–5th hour of cultivation of V, cholerae 569B strain; 7–10th hour of cultivation of V, cholerae 569B strain; 8–10 – generations of inoculum of V. cholerae M-41 strain; 11 – 5th hour of cultivation of V. cholerae M-41 strain; 12 – 10th hour of cultivation of V. cholerae M-41 strain

всех этапах культивирования. Стабильность геномов штаммов опосредованно подтверждает стабильность производственных условий культивирования и качество производственного процесса. Полногеномное секвенирование дает исчерпывающую информацию о последовательности и структуре всего генома исследуемого штамма и может быть использовано как для подтверждения подлинности, так и для оценки стабильности исследуемого штамма.

Применение комплексного методологического подхода является перспективным для анализа стабильности штаммов - продуцентов протективных антигенов.

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

Список литературы

1. BO3: Холера. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cholera (дата обращения 28.02.2022).

2. Онищенко Г.Г., Попова А.Ю., Кутырев В.В., Смирнова Н.И., Щербакова С.А., Москвитина Э.А., Титова С.В. Актуальные проблемы эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики и профилактики холеры в Российской Федерации. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2016;

3. Борисевич И.В., Дармов И.В., редакторы. Руководство по вакцинопрофилактике особо опасных инфекций. Киров: Кировская областная типография; 2011. 152 с.
4. Ерохин П.С., Уткин Д.В., Осина Н.А., Бойко А.В., Кузнецов О.С., Куклев В.Е., Бугоркова Т.В. Современное со-

стояние изучения ультраструктуры поверхности клеточной стенки микроорганизмов в условиях неблагоприятного воздействия факторов биотической и абиотической природы методами атомно-силовой микроскопии. Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2016; 16(2):186–9. DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-2-186-189. 5. Дуракова О.С., Громова О.В., Ливанова Л.Ф., Авдеева Н.Г., Самохвалова Ю.И., Гаева А.В., Киреев М.Н., Волох О.А.

Современные подходы к выделению и очистке холерного тесттоксина. *Бактериология*. 2018; 3(1):59–62. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-59-62.

6. Уткин Д.В., Кузнецов О.С., Ерохин П.С., Спицын А.Н., Волох О.А., Осина Н.А. Разработка методических подходов изучения возбудителей особо опасных инфекционных болезней методом атомно-силовой микроскопии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 2:62–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2(112)-

7. Дуракова О.С., Громова О.В., Киреев М.Н., Воробьева С.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Волох О.А. Применение дот-иммуноанализа для определения специфической активности антигенов в производстве холерной вакцины. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова. 2018; 14(4):10–3.

References

. WHO: Cholera. (Cited 28 Feb 2022). [Internet]. Available from: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/cholera.

2. Onishchenko G.G., Popova A.Yu., Kutyrev V.V., Smirnova N.I., Shcherbakova S.A., Moskvitina E.A., Titova S.V. [Relevant problems of epidemiological surveillance, laboratory diagnostics and prevention of cholera in the Russian Federation]. *ZhurnalMikrobiologii*, *Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2016; (1):89–101.

3. Borisevich S.V., Darmov I.V., editors. [Guidelines on the Vaccine Prevention of Particularly Dangerous Infections]. Kirov. L.C. "Kirov Regional Printing House": 2011. 152 p.

3. Borisevich S.V., Darmov I.V., editors. [Guidelines on the Vaccine Prevention of Particularly Dangerous Infections]. Kirov: LLC "Kirov Regional Printing House"; 2011. 152 p.

4. Erokhin P.S., Utkin D.V., Osina N.A., Boiko A.V., Kuznetsov O.S., Kuklev V.E., Bugorkova T.V. [The current state of the study of the cell wall surface ultrastructure of microorganisms under the adverse effects of biotic and abiotic factors using atomic force microscopy]. Izvestiva Saratovskogo Universiteta. Novaya Seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya [News of the Saratov University: New Series. Series Chemistry. Biology. Ecology]. 2016; 16(2):186–9.

DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-2-186-189.

5. Durakova O.S., Gromova O.V., Livanova L.F., Avdeeva N.G., Samokhvalova Yu.I., Gaeva A.V., Kireev M.N., Volokh O.A. [Modern approaches to isolation and purification of cholera test toxin]. Bakteriologiya [Bacteriology]. 2018; 3(1):59–62. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-59-62.

6. Utkin D.V., Kuznetsov O.S., Erokhin P.S., Spitsyn A.N., Volokh O.A., Osina N.A. [Development of methodological approaches to the study of pathogens of particularly dangerous infectious diseases by atomic force microscopy]. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2012; (2):62–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-2(112)-62-64.

7. Durakova O.S., Gromova O.V., Kireev M.N., Vorob'eva S.A., Klokova O.D., Livanova L.F., Belyakova N.I., Volokh O.A. [The use of dot-immunoassay to determine the specific activity of antigens in the production of cholera vaccine]. Vestnik Biotekhnologii i Fiziko-Khimicheskoi Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]. 2018; 14(4): 10–3.

Durakova O.S., Vorob'eva S.A., Gaeva A.V., Krasnov Ya.M., Kuznetsov O.S., Erokhin P.S., Gromova O.V., Volokh O.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Дуракова О.С., Воробьева С.А., Гаева А.В., Краснов Я.М., Кузнецов О.С., Ерохин П.С., Громова О.В., Волох О.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. Е-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-75-85

УДК 616.98:579.842.23

Г.А. Ерошенко¹, Е.Г. Оглодин¹, А.Н. Балыкова¹, Я.М. Краснов¹, Е.А. Нарышкина¹, Т.З. Аязбаев², Н.В. Попов¹, В.В. Кутырев¹

PEKOHCTPУКЦИЯ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ЦИРКУЛЯЦИИ YERSINIA PESTIS СРЕДНЕВЕКОВОГО БИОВАРА В ВОСТОЧНОМ ПРИКАСПИИ В XX ВЕКЕ ПО ДАННЫМ ПОЛНОГЕНОМНОГО SNP-АНАЛИЗА

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²Национальный научный центр особо опасных инфекций им. М. Айкимбаева, Алматы, Республика Казахстан

Комплексный анализ накопленных эпидемиологических и эпизоотологических данных в сочетании с результатами филогенетического анализа штаммов Yersinia pestis создает основу для установления закономерностей пространственно-временного распространения возбудителя чумы и открывает перспективу долговременного прогнозирования активизации природных очагов чумы. Ранее нами была проведена реконструкция направлений распространения Y. pestis средневекового биовара в очагах чумы Северного и Северо-Западного Прикаспия в XX - начале XXI в. Цель данной работы - выявление закономерностей циркуляции Y. pestis средневекового биовара в четырех природных очагах чумы, расположенных в Восточном Прикаспии. Материалы и методы. Проведено комплексное исследование фенотипических и генетических свойств 16 штаммов Y. pestis, выделенных в Устюртском, Мангышлакском, Каракумском и Копетдагском автономных пустынных очагах чумы в 1926-1985 гг. Выполнено их сравнение со штаммами из других природных очагов чумы Восточной Европы и Центральной Азии, полученных в 1917–2003 гг. Проведено полногеномное секвенирование 12 из этих штаммов. В филогенетический анализ включены геномы еще 19 штаммов Y. pestis, секвенированные нами ранее. На основе выявленных в коровом геноме 1717 полиморфных нуклеотидов (SNPs) построена дендрограмма родственных связей исследуемых штаммов. Результаты и обсуждение. Определена принадлежность всех 16 штаммов Y. pestis из Устюртского, Мангышлакского, Копетдагского и Каракумского пустынных очагов к ветви 2.МЕD1 средневекового биовара. Все изученные штаммы из первых трех очагов и большинство штаммов из Каракумского очага вошли в каспийскую ветвь 2.МЕD1, а три штамма из Каракумского пустынного очага – в центральноазиатскую. Определены несколько волн распространения штаммов филогенетической ветви 2.MED1 Y. pestis средневекового биовара в Восточном Прикаспии в XX в.

Ключевые слова: чума, штаммы, филогения, природные очаги.

Корреспондирующий автор: Epoшeнко Галина Александровна, e-mail: geroshenko@yandex.ru.

Для цитирования: Ерошенко Г.А., Оглодин Е.Г., Балыкова А.Н., Краснов Я.М., Нарышкина Е.А., Аязбаев Т.З., Попов Н.В., Кутырев В.В. Реконструкция пространственной циркуляции Yersinia pestis средневекового биовара в Восточном Прикаспии в XX веке по данным полногеномного SNP-анализа. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:75–85. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-75-85

Поступила 14.02.2022. Принята к публ. 21.02.2022.

G.A. Eroshenko¹, E.G. Oglodin¹, A.N. Balykova¹, Ya.M. Krasnov¹, E.A. Naryshkina¹, T.Z. Ayazbaev², N.V. Popov¹, V.V. Kutyrev¹

Tracing the Spatial Circulation of *Yersinia pestis* of Medieval Biovar in the Eastern Caspian Sea Region in the 20th Century Based on Genome-Wide SNP Analysis

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

²National Scientific Center for Particularly Dangerous Infections named after M. Aikimbaev, Almaty, Republic of Kazakhstan

Abstract. A comprehensive analysis of the accumulated epidemiological and epizootiological data in combination with results from phylogenetic analysis of Yersinia pestis strains creates the basis for establishing patterns of spatialtemporal distribution of the plague pathogen and opens up the prospect of long-term forecasting of natural plague foci activation. Previously, we traced the distribution pathways of Y. pestis, medieval biovar, in the plague foci of the Northern and Northwestern Caspian Sea regions in the 20th and early 21st centuries. The purpose of this work was to identify the regularities of circulation of Y. pestis, medieval biovar, in four natural plague foci located in the Eastern Caspian Sea region. Materials and methods. A complex study of the phenotypic and genetic properties of 16 Y. pestis strains isolated in the Ustyurt, Mangyshlak, Karakum and Kopetdag autonomous desert plague foci in 1926-1985 was carried out. They were compared with strains from other natural plague foci in Eastern Europe and Central Asia obtained in 1917–2003. Whole-genome sequencing of 12 of those strains was performed. Phylogenetic analysis included the genomes of other 19 Y. pestis strains that we had sequenced earlier. Based on the 1717 polymorphic nucleotides (SNPs) identified in the core genome, a dendrogram of the relations of the studied strains was constructed. Results and discussion. All 16 Y. pestis strains from the Ustyurt, Mangyshlak, Kopetdag, and Karakum desert foci belong to the 2.MED1 branch of the medieval biovar. All investigated strains from the first three foci and most of the strains from the Karakum focus are in the Caspian 2.MED1 branch, and three strains from the Karakum desert focus are included in the Central Asian one. We have revealed several waves of dissemination of the strains under the 2.MED1 phylogenetic branch of Y. pestis of the medieval biovar in the Eastern Caspian Sea region in the 20th century.

Key words: plague, strains, phylogeny, natural foci.

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

Corresponding author: Galina A. Eroshenko, e-mail: geroshenko@yandex.ru.

Citation: Eroshenko G.A., Oglodin E.G., Balykova A.N., Krasnov Ya.M., Naryshkina E.A., Ayazbaev T.Z., Popov N.V., Kutyrev V.V. Tracing the Spatial Circulation of Yersinia pestis of Medieval Biovar in the Eastern Caspian Sea Region in the 20th Century Based on Genome-Wide SNP Analysis. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:75–85. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-75-85 Received 14.02.2022. Accepted 21.02.2022.

Eroshenko G.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5403-989X Oglodin E.G., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2955-3034 Balykova A.N., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3766-7979 Krasnov Ya.M., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4909-2394

Naryshkina E.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9190-099X Popov N.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4099-9261 Kutyrev V.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3788-3452

В Восточном Прикаспии, на территории Прикаспийской и Туранской низменностей, в границах Центрально-Азиатского пустынного природного очага чумы песчаночьего типа расположены Устюртский, Мангышлакский, Каракумский и Копетдагский автономные очаги. Основным носителем чумы в этих очагах Восточного Прикаспия является большая песчанка Rhombomys opimus. В Копетдагском очаге наряду с *R. оріти* большое эпизоотологическое значение имеет краснохвостая песчанка Meriones erythrourus. Основные переносчики – блохи рода Xenopsylla, в частности X. skrjabini, X. hirtipes, X. gerbilli, X. conformis, X. nuttallii и другие виды блох [1]. Исторически наиболее ранние вспышки чумы на этих территориях были зарегистрированы в южной части Каракумского очага в 1912 г. (аул Чайрук Марыйской области, заболело и умерло 54 человека) и в западной части этого очага в 1953 г. (Красноводская область, множественные случаи чумы), в Мангышлакском очаге в 1926 г. (Гурьевская область, заболел и умер 41 человек), в Копетдагском очаге в 1949 г. (Красноводская область, 14 заболело, 12 умерло) [2]. В последующем случаи заболевания чумой неоднократно регистрировали в Устюртском (в 1975 г. в Гурьевской области, в 1999 г. в Актюбинской области), в Мангышлакском (1927, 1948, 1964, 1973, 1974, 2003 гг.) и Каракумском (1953– 1954 гг., 1965–1966 гг.) очагах. Эпизоотии на грызунах впервые выявлены в Устюртском и Мангышлакском очагах в 1926 г., в Каракумском очаге - в 1949 г., в Копетдагском очаге – в 1955 г.

На территории этих четырех очагов распространен возбудитель Yersinia pestis основного подвида средневекового биовара. Штаммы средневекового биовара высоковирулентны и эпидемически значимы. По генетической номенклатуре ветвей штаммы средневекового биовара обозначаются как 2.MED [3-6]. Эта филогенетическая линия относительно недавно отделилась от родственной линии античного биовара 2.ANT с дальнейшей последовательной дивергенцией ветвей средневекового биовара: 2.МЕОО (Россия, Центрально-Кавказский высокогорный очаг чумы), 2.MED2 и 2.MED3 (Китай) и 2.MED1 (преимущественно очаги Кавказа, Прикаспия, Казахстана и Средней Азии). Установлено, что линия 2.MED имела самую высокую скорость распространения по сравнению с другими линиями Y. pestis, которая превышала даже скорость распространения восточного биовара, вызвавшего третью пандемию чумы [7].

В первой половине XX в. штаммы средневекового биовара вызвали вспышки чумы с высокими показателями летальности в Северном Прикаспии на территории России и Казахстана. Установлено, что популяция Y. pestis средневекового биовара из очагов Северного Прикаспия относится к ветви 2.МЕD1. Ранее дивергировала ветвь средневекового биовара 2.MED4, штаммы которой также выделялись в Северном Прикаспии в первой половине XX в. Штаммы обеих ветвей – 2.MED1 и 2.MED4 – были этиологическими агентами вспышек в Северном Прикаспии в этот период [8]. В структуре 2.МЕD1, в свою очередь, выявлено две ветви: каспийская и центральноазиатская. Штаммы первой подветви распространены в очагах Прикаспия и Кавказа, второй – в очагах Центральной Азии и Китая [9].

При проведении филогенетического анализа по данным полногеномного секвенирования были установлены пространственно-временные закономерности циркуляции Y. pestis в очагах Северного Прикаспия [10]. Показано, что популяция 2.MED1 из Северного Прикаспия в первой половине XX в. существенно расширила свой ареал в восточном направлении вдоль северной границы подзоны пустынь, что предположительно было вызвано изменением климатических условий, связанным с подъемом уровня Каспийского моря [11]. Это привело к заселению к середине прошлого века территорий на севере полноводного на тот момент Аральского моря с образованием устойчивых очагов чумы и проявлением заболеваемости у людей. В очагах Северного Прикаспия, напротив, в середине XX в., в период резкого понижения уровня Каспийского моря и возрастания аридности климата, наступил длительный межэпизоотический период, во время которого отсутствовала эпизоотическая и эпидемическая активность на этой территории. В начале второй половины прошлого века на фоне нового повышения уровня Каспийского моря очаги Северного Прикаспия были повторно заселены сохранившимися в Северном Приаралье штаммами 2.MED1. Таким образом, на основе анализа филогенетических данных была показана связь эпизоотических/эпидемических проявлений чумы в Северном Прикаспии с циклическими изменениями климата в северной подзоне пустынь Средней Азии и Казахстана. Флуктуации уровня Каспийского моря в XIX - начале XXI в. и их влияние на экосистему приграничных территорий описаны в многочисленных публикациях отечественных и зарубежных исследователей [12–15].

Пространственные особенности циркуляции чумы в Восточном Прикаспии с учетом свойств распространенных здесь штаммов Y. pestis до сих пор не исследовались, отсутствуют публикации по их популяционной структуре. Отсутствуют также данные по оценке влияния флуктуаций уровня Каспийского моря на эпизоотическую и эпидемическую активность этих очагов, что важно для выяснения пространственно-временных закономерностей циркуляции возбудителя чумы в зависимости от тенденций изменения климата в Прикаспийской и Туранской низменностях. Выполненный нами филогенетический анализ на основе полногеномного секвенирования позволил провести реконструкцию распространения популяции 2.МЕD1 в природных очагах чумы, расположенных к востоку от Каспийского моря, в ХХ в.

Материалы и методы

Штаммы Y. pestis. Исследованы штаммы Y. pestis, выделенные в природных очагах Восточного Прикаспия и других очагах Восточной Европы и Центральной Азии от носителей и переносчиков,

а также от человека (табл. 1). Штаммы *Y. pestis* получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб» (Саратов, Россия). Культивирование штаммов и анализ их биохимических свойств проводили в соответствии со стандартными методами лабораторной диагностики [16].

Полногеномное секвенирование, идентификация SNPs, построение дендрограмм. Полногеномное секвенирование выполняли с помощью Ion S5 XL System (Thermo Fischer Scientific) в соответствии с инструкцией производителя. Для приготовления библиотек образцов использовали наборы Ion XpressTM Plus Fragment Library Kit и Ion XpressTM Barcode Adapter 1-16 Kit. Обработку данных и сборку последовательностей сырых ридов de novo проводили с помощью Ion Torrent Suite software package 5.12 и Newbler gsAssembler 2.6. Секвенированные риды объединяли в контиги со средним покрытием на геном 98,56% ($50 \times$ глубина прочтения). Средний размер собранного генома составил 4,55 м.п.н. Коровые SNPs выявляли путем выравнивания контигов штаммов Y. pestis на геноме CO92 с помощью программы Wombac 2.0, затем удаляли 28 гомоплазий SNPs. Полученный набор из 1717 SNPs содержал только коровую область генома. Дендрограмму строили ме-

Таблица 1 / Table 1

Использованные в работе штаммы *Y. pestis Y. pestis* strains used in the work

| Штамм Strain | Природный очаг, место выделения Natural focus, site of isolation | Год выделения, источник Year of isolation, source | Филогенетическая ветвь, номер депонирования Phylogenetic branch, depository access number |
|-----------------|--|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| C-627 | Центрально-Кавказский высокогорный, Кабардино-Балкарская АССР, Малкинский р-н, Малкинское ущелье Central-Caucasian high-mountain, Kabardino-Balkarian ASSR, Malkinsk District, Malkinsk Gorge | 1986, Spermophilus musicus | 2.MED0, MBSI00000000 |
| C-791 | Дагестанский равнинно-предгорный, Республика Дагестан, Бабаюртовский р-н Dagestan plain-piedmont, Republic of Dagestan, Babayurt District | 2003, S. pygmaeus | 2.MED1, LQAU00000000 |
| 27 | Прикаспийский Северо-Западный степной, Ростовская обл., Заветнинский р-н Precaspian Northwestern steppe, Rostov Region, Zavetninsky District | 1924, суслик 1924, souslik | 2.MED4, JABTYQ010000001 |
| M-978 | Прикаспийский Северо-Западный степной, Калмыцкая АССР, Юстинский р-н, Черные Земли Precaspian Northwestern steppe, Kalmyk ASSR, Yustinsky District, Black Lands | 1990, S. pygmaeus | 2.MED1, LPXT00000000 |
| 165 | Волго-Уральский степной, Уральская обл., Кзыл-Кугинский р-н Volga-Ural steppe, Ural Region, Kzyl-Kuginsky District | 1932, человек 1932, patient | 2.MED1, JABTYT010000001 |
| M-1484 | Волго-Уральский степной, точка Болтай (Калмыковское противочумное отделение) Volga-Ural steppe, Boltai (Kalmykovsk plague control division) | 1992, S. pygmaeus | 2.MED1, LQAV00000000 |
| 4 | Волго-Уральский песчаный, Западный Казахстан, левый берег р. Волги, урочище Марселеу Volga-Ural sandy, Western Kazakhstan, left bank of the river Volga, Marseleu tract | 1917, верблюд 1917, camel | 2.MED4, JABTYP010000001 |
| 7(40) | Волго-Уральский песчаный, Западный Казахстан, Букеевская губерния, урочище Каныш-Чагал Volga-Ural sandy, Western Kazakhstan, Bukeevskaya Governorate, Kanysh-Chagal tract | 1922, труп человека 1922, corpse | 2.MED1, JAAIKX010000001 |
| M-1773 | Волго-Уральский песчаный, Красноярский р-н Volga-Ural sandy, Krasnoyarsk District | 2002, Meriones meridianus | 2.MED1, LYMG00000000 |

Окончание табл. 1 / Ending of table 1

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|---------|---|--|----------------------------|
| 91(134) | Устюртский пустынный, Западный Казахстан, Адаевская обл., Мангышлакский уезд, плато Усть-Урт Ustyurt desert, Western Kazakhstan, Adaevsk Region, Mangyshlak county, Ust-Urt Plateau | 1926, Rhombomys opimus | 2.MED1 |
| 85 | Устюртский песчаный, Западный Казахстан, Адаевская обл., Мангышлакский уезд Ustyurt desert, Western Kazakhstan, Adaevsk Region, Mangyshlak county | 1927, верблюд 1927, camel | 2.MED1 |
| 452 | Устюртский пустынный, Казахская ССР, 31 км на северо-восток от п. Сам Ustyurt desert, Kazakh SSR, 31 km towards north-east of Sam settlement | 1962, R. opimus | 2.MED1 |
| M-549 | Устюртский пустынный, Туркменская ССР, Красноводская обл., 3 км на северо-восток от г. Красноводска Ustyurt desert, Turkmen SSR, Krasnovodsk Region, 3 km towards north-east of Krasnovodsk city | 1975, R. opmnus | 2.MED1, LQBA00000000 |
| 580 | Северо-Приаральский пустынный, Казахская ССР, Кзыл-Ординская обл., Аральский р-н, остров Буйиркум North-Aral desert, Kazakh SSR, Kzyl-Ordinsk Region, Aral District, Buyirkum Island | 1945, человек 1945, patent | 2.MED1, JABUHZ010000001 |
| 381 | Мангышлакский пустынный, урочище Жалпак-Турт-Куль Mangyshlak desert, Zhalpak-Turt-Kul' tract | 1967, R. opimus | 2.MED1 |
| 173 | Мангышлакский пустынный, вблизи колхоза Айзискайкудук Mangyshlak desert, nearby Ayziskaykuduk collective farm | 1978, R. opimus | 2.MED1, LQAZ00000000 |
| 615 | Приаральско-Каракумский пустынный, Казахская ССР, Кзыл-Ординская обл., Ак-Басты Aral-Karakum desert, Kazakh SSR, Kzyl-Ordinsk Region, Ak-Basty | 1945, R. opimus | 2.MED1, WUCL01000001 |
| 693 | Каракумский пустынный, Туркменская ССР, Кизил-Арватский р-н Karakum desert, Turkmen SSR, Kizil-Arvatsky District | 1949, человек 1949, patient | 2.MED1, JABWHH010000001 |
| 868 | Каракумский пустынный, Туркменская ССР, Ак-Кую Karakum desert, Turkmen SSR, Ak-Kuyu | 1953, человек 1953, patient | 2.MED1 |
| 153 | Каракумский пустынный, Туркменская ССР, котловина Кырк-Илак, 7 км на юго-запад от Кизил-Куша Кагакиm desert, Turkmen SSR, Kyrk-Ilak basin, 7 km towards south-west of Kizil-Kush | 1964, песчанка 1964, gerbil | 2.MED1, JABWHI010000001 |
| M-556 | Каракумский пустынный, Туркменская ССР, Ташаузская обл., Тахтинский р-н Karakum desert, Turkmen SSR, Tashauz Region, Takhtinsky District | 1965, человек 1965, patient | 2.MED1 |
| M-557 | Каракумский пустынный, Туркменская ССР, Ашхабадский р-н, колодец Карадомок-Кую Кarakum desert, Turkmen SSR, Ashkhabad District, Karadomok-Kuyu well | 1968, человек 1968, patient | 2.MED1 |
| 650 | Каракумский пустынный, Узбекская ССР, Чиплийский р-н, левый берег р. Сыр-Дарьи Каrakum desert, Uzbek SSR, Chipliysky District, left bank of the river Syr-Darya | 1968, Ceratophyllus laeviceps 1968, Ceratophyllus laeviceps | 2.MED1 |
| M-525 | Каракумский пустынный, Туркменская ССР, Ашхабадская обл., Каахкинский р-н, Коп-Кую Кагакиm desert, Turkmen SSR, Ashkhabad Region, Kaakhkinsky District, Kop-Kuyu | 1970, R. opinus | 2.MED1, JABWHG010000001 |
| KM816 | Каракумский пустынный, Туркменская ССР, Красноводская обл., Красноводский р-н Karakum desert, Turkmen SSR, Krasnovodsk Region, Krasnovodsk District | 1985, R. opimus | 2.MED1, LPXU00000000 |
| M-1299 | Каракумский пустынный, Туркменская ССР, Красноводская обл., Красноводский р-н, р-н Кумсебшен Karakum desert, Turkmen SSR, Krasnovodsk Region, Krasnovodsk District, Kumsebshen | 1984, R. opimus | 2.MED1 |
| M-519 | Копетдагский пустынный, Туркменская ССР, Кизыл-Атрекский р-н, водохранилище Хау Гуч Кopetdag desert, Turkmen SSR, Kizyl-Atrek District, Khau Guch water reservoir | 1967, R. opimus | 2.MED1, LQAX00000000 |
| 20 | Кызылкумский пустынный, Туркестан, урочище Ак Камыш Kyzylkum desert, Turkestan, Ak Kamysh tract | 1924, человек 1924, patient | 2.MED1 |
| A-1825 | Кызыкумский пустынный, Узбекская ССР Kyzylkum desert, Uzbek SSR | 1983, R. opimus | 2.MED1, LYCM0000000 |
| 505 | Прибалхашский пустынный, Казахская ССР, Алма-Атинская обл., Джаркентский р-н, совхоз Айдарлы Balkhash desert, Kazakh SSR, Almaty Region, Dzharkentsky District, Aidarly collective farm | 1939, R. opimus | 2.MED1 |
| 40 | Прибалхашский пустынный, Казахская ССР, Талды-Курганское противочумное отделение Balkhash desert, Kazakh SSR, Taldy-Kurgansk plague control division | 1961, R. opinus | 2.MED1 |

тодом Maximum Likelihood с применением программы PhyML 3.1, модели HKY85 с использованием 500 бутстреп-реплик.

Результаты и обсуждение

В этой работе исследован 31 штамм Y. pestis. выделенный в 1917-2003 гг. в 13 очагах чумы в Восточной Европе и Средней Азии, включая 16 штаммов из четырех очагов, расположенных в Восточном Прикаспии, в том числе из Устюртского (4 штамма), Мангышлакского (2), Каракумского (9), Копетдагского (1) пустынных очагов. Для сравнения использованы также штаммы из близрасположенных очагов: Прикаспийского Северо-Западного степного (2 штамма), Волго-Уральского степного (2), Волго-Уральского песчаного (3), Северо-Приральского пустынного (1), Приаральско-Каракумского стынного (1), Кызылкумского пустынного (2) и Прибалхашского пустынного (2) очагов, а также из Центрально-Кавказского высокогорного (1) и Дагестанского равнинно-предгорного (1)

Штаммы получены от большой песчанки R. opimus (14 штаммов), полуденной песчанки M. meridianus (1), малого суслика Spermophilus pygmaeus (4), горного суслика S. musicus (1), верблюда (2), блох большой песчанки (1) и от человека (8). Анализ биохимических свойств был проведен для каждого штамма из 31, а полногеномное секвенирование – для 12 штаммов. Другие 19 штаммов были секвенированы ранее. Номера их депонирования в базе данных NCBI GenBank приведены в табл. 1. При построении филогенетического дерева использованы также нуклеотидные последовательности 11 штаммов *Y. pestis* из других очагов мира. Они включают: 620024 (№ ADPM0000000), Pestoides A (№ NC 003143), (№ NZ ACNT00000000), CO92 CMCC125002 351001 (№ ADPF00000000), (№ ADQN00000000), 91 (№ ADPU00000000) из базы данных NCBI GenBank (рис. 1). Для повышения качества разрешения на рис. 1 не приведены использованные для построения дендрограммы штаммы Y. pestis 620024 и Pestoides A.

Анализ биохимических свойств показал, что все исследованные штаммы относились к средне-

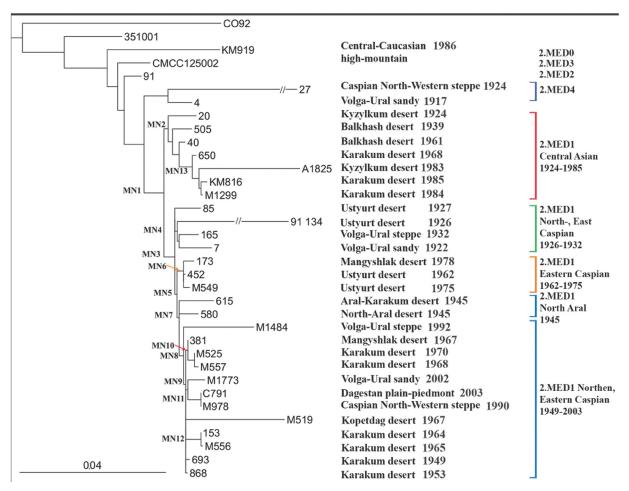


Рис. 1. Анализ филогенетического родства штаммов *Y. pestis* средневекового биовара из очагов чумы Восточного Прикаспия по данным полногеномного секвенирования. Дендрограмма Maximum Likelihood построена на основе выявленных в коровом геноме 1717 SNPs с использованием программы PHYML 3.1 и модели HKY85 с 500 bootstrap-подкреплением. SNPs в узлах MN1–MN13 (MN – medieval node) приведены в табл. 2

Fig. 1. Phylogenetic affinity analysis of medieval biovar *Y. pestis* strains from plague foci in the Eastern Caspian Sea region by whole genome sequencing data. The Maximum Likelihood dendrogram was built on the basis of 1717 SNPs identified in the core genome using the PHYML 3.1 software and the HKY85 model with 500 bootstrap reinforcement. SNPs in nodes MN1-MN13 (MN – medieval node) are given in Table 2

вековому биовару основного подвида возбудителя чумы. Они ферментировали глицерин и арабинозу, но не были способны к редукции нитратов и утилизации рамнозы, что является типичным для штаммов *Y. pestis* средневекового биовара. Для выяснения генетического родства по данным полногеномного секвенирования выполнен анализ филогенетических связей штаммов *Y. pestis* из четырех очагов чумы, расположенных к востоку от Каспийского моря. Построение дендрограммы проводили на основе 1717 единичных полиморфных локусов (SNPs), выявленных в коровом геноме взятых в исследование штаммов *Y. pestis* (рис. 1).

Все штаммы из очагов Восточного Прикаспия вошли в филогенетическую ветвь 2.MED1. Это наиболее молодая ветвь средневекового биовара. На дендрограмме ей предшествуют ветви 2.МЕD0 (Центрально-Кавказский высокогорный очаг чумы в России), 2.MED2 и 2.MED3 (очаги Китая), 2.MED4 (очаги Северного Прикаспия в России и Казахстане). Непосредственно перед 2.MED1 расположена ветвь 2.МЕD4. Популяция 2.МЕD4 средневекового биовара существовала в Северном Прикаспии (Прикаспийский Северо-Западный степной, Волго-Уральский степной и Волго-Уральский песчаный очаги) в первой половине XX в., а возможно, и раньше. Позднее отделилась ветвь 2.МЕD1, которую от ствола средневекового биовара на дендрограмме отделяет девять SNPs (филогенетический узел MN1, MN – medieval node) (рис. 1). SNPs, специфические для узлов дендрограммы MN1-MN13, приведены в табл. 2.

По итогам филогенетического анализа использованные в работе штаммы из Восточного Прикаспия вошли в две ветви 2.MED1: каспийскую и центральноазиатскую. Большинство исследованных штаммов отошли к каспийской ветви 2.MED1. Это все штаммы из Устюртского (1926, 1927, 1962, 1975 гг.), Мангышлакского (1967, 1978 гг.) и Копетдагского (1967 г.) пустынных очагов и часть штаммов из Каракумского очага (1949, 1953, 1964,1965, 1968, 1970 гг.). В то же время часть более поздних штаммов из Каракумского пустынного очага (1968, 1984, 1985 гг.) вошли в центральноазиатскую ветвь 2.MED1 средневекового биовара. Центральноазиатскую ветвь отличает наличие двух уникальных SNPs (филогенетический узел MN2), каспийскую – четырех SNPs (MN3) (табл. 2).

В начале каспийской ветви на дендрограмме находятся штаммы начала XX в. — отдельно расположенный штамм 85 (Устюртский очаг, 1927 г., верблюд) и кластер из трех штаммов (MN4 – 1 SNP): 91 (134) из Устюртского пустынного (1926 г., большая песчанка), 165 из Волго-Уральского степного (1932 г., человек), 7 из Волго-Уральского песчаного (1922 г., человек). От этих штаммов отходит подветвь (MN5 – 1 SNP), которая включает кластер (MN6 – 3 SNPs) штаммов *Y. pestis* из Восточного Прикаспия: 173 из Мангышлакского пустынного очага (1978 г.,

большая песчанка) — и два штамма из Устюртского пустынного очага: 452 (1962 г.) и М-549 (1975 г.) также от большой песчанки. Эти штаммы являются непосредственными потомками штаммов из Северного Прикаспия первой половины XX в. Это означает, что в начале второй половины XX в. в этих очагах Восточного Прикаспия фактически сохранялись штаммы первой волны распространения 2.МЕD1, которые в самом Северном Прикаспии к этому моменту уже не выделялись из-за наступления межэпизоотического периода в середине XX в.

Другая подветвь каспийской ветви 2.MED1 (MN7 – 1 SNP) начинается штаммами *Y. pestis* 615 и 580 из Северного Приаралья 1945 г. Штаммы этой подветви из Северного Приаралья предшествуют всем нижерасположенным на дендрограмме штаммам, которые являются потомками популяции, укоренившейся в Северном Приаралье в период первой волны распространения 2.MED1 из Северного Прикаспия. Она сохранились в Северном Приаралье во время длительного межэпизоотического периода, наступившего в Северном Прикаспии в середине прошлого века.

На дендрограмме от штаммов из Северного Приаралья отходит политомия, которой предшествует штамм 1484 (1992 г.) (MN8 – 2 SNPs). Наличие такой политомии свидетельствует о том, что в начале второй половины XX в. в северных и восточных районах Каспийского моря сложились условия, благоприятные для продвижения популяции 2.МЕD1 из Северного Приаралья в западном направлении в зону Прикаспия. Политомия (MN9 - 1 SNP) включает три кластера и несколько единичных штаммов Y. pestis. Первый кластер (MN10 - 1 SNPs) составлен штаммами из Мангышлакского (1962 г.) и Каракумского (1970, 1978 гг.) пустынных очагов. Второй кластер (MN11 - 1 SNPs) включает штаммы конца XX в. из Северного и Северо-Западного Прикаспия – М-1773 (Волго-Уральский песчаный, 2002 г.), С791 (Дагестанский равнинно-предгорный, 2003 г.) и М-978 Прикаспийский Северо-Западный степной (2003 г.), выделенные от полуденной песчанки и малых сусликов. Третий кластер (MN12 – 7 SNPs) этой политомии состоит из двух штаммов (153 и М556) из Каракумского пустынного очага (1964 г., песчанка; 1965 г., человек). Кроме того, от ствола политомии отходят единичные штаммы М-519 (1967 г., песчанка) из Копетдагского пустынного очага и два штамма из Каракумского пустынного очага – 693 (1949 г.) и 686 (1953 г.), полученные от человека. Все штаммы этой политомии, представленные тремя кластерами и единичными штаммами периода 1949-2003 гг., являются потомками штаммов из Северного Приаралья периода 1945 г. Они, возможно, получили распространение в Восточном, Северном и Северо-Западном Прикаспии на фоне нового подъема уровня Каспийского моря. Следует отметить, что во второй половине XX в. в природном биоценозе Мангышлакского пустынного очага

Таблица 2 / Table 2

Список единичных нуклеотидных полиморфизмов (SNPs) в филогенетических узлах MN1–MN13 дендрограммы (рис. 1) родственных связей штаммов *Y. pestis* из четырех природных очагов Восточного Прикаспия

List of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the phylogenetic nodes MN1–MN13 of the affinity dendrogram (Fig. 1) of *Y. pestis* strains from four natural foci of the Eastern Caspian Sea region

| Филогенетическая ветвь, yзел, штаммы <i>Y. pestis</i> Phylogenetic branch, node, <i>Y. pestis</i> strains | Позиция нуклеотида в геноме CO92 Nucleotide position in the CO92 genome (AL590842) | Нуклеотидная замена Nucleotide substitution | ID гена Gene ID | Продукт Product |
|--|---|--|---|--|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| | 1261149 | $C \rightarrow T$ | Межгенный: <i>sucB</i> – b0728 Intergenic: <i>sucB</i> – b0728 | Отсутствует NA |
| | 1586141 | $C \rightarrow T$ | smtA | Предполагаемая метилтрансфераза Putative methyltransferase |
| | 2444694 | $C \rightarrow A$ | Межгенный: YPO2172 – YPO2173 Intergenic: YPO2172 – YPO2173 | Отсутствует NA |
| | 3342989 | $C \rightarrow T$ | Межгенный: <i>cysK – hpr</i> Intergenic: <i>cysK – hpr</i> | Отсутствует NA |
| Филогенетическая линия 2.MED1 | 3596834 | $G \rightarrow A$ | dinP | Белок Р, индуцируемый повреждением ДНК DNA-damage-inducible protein P |
| MN1 Phylogenetic line 2.MED1 | 3805148 | $C \rightarrow A$ | Межгенный: yadG – yadF Intergenic: yadG – yadF | Отсутствует NA |
| MN1 | 3869550 | $C \rightarrow A$ | phnL | Белок фосфонатной СР-лиазной системы PhnL |
| | 300,000 | 0 11 | <i>y</i> | Protein of the phosphonate CP-lyase system PhnL |
| | 4258899 | $C \rightarrow A$ | ugpC | Транспорт sn-глицерин-3-фосфата, ATФ-связывающий белок Sn-glycerol-3-phosphate transport, ATP-binding protein |
| | 4287044 | $G \rightarrow T$ | YPO3820 | Предполагаемая катион-транслоцирующая мембранная АТРаза Р-типа Putative P-type cation-translocating membrane ATPase |
| Филогенетическая ветвь 2.MED1 Центральная Азия | 3399782 | $T \rightarrow C$ | Межгенный: YPO3043 – YPO3044 Intergenic: YPO3043 – YPO3044 | Отсутствует NA |
| MN2 Phylogenetic branch 2.MED1 Central Asia MN2 | 3437042 | $G \rightarrow A$ | apeA | Предполагаемая ацил-КоА-тиоэстераза Putative acyl-CoA thioesterase |
| Филогенетическая ветвь 2.MED1 | 568345 | $A \rightarrow T$ | YPO0524 | Консервативный гипотетический белок Conserved hypothetical protein |
| Северный, Северо-Восточный и Восточный Прикаспий MN3 | 1996390 | $C \rightarrow T$ | YPO1721 | Гипотетический белок (псевдоген) Hypothetical protein (pseudogene) |
| Phylogenetic branch 2.MED1 North-, North-Eastern, Eastern Caspian | 3030163 | $C \rightarrow T$ | YPO2702 | Предполагаемый мембранный белок Putative membrane protein |
| Sea region MN3 | 3470222 | $G \rightarrow A$ | ddhC | Предполагаемая CDP-4-кето-6- дезокси-D-глюкоза-3-дегидратаза Putative CDP-4-keto-6-deoxy-D- glucose-3-dehydratase |
| MN4 91_134, 165, 7 | 4532775 | $C \rightarrow A$ | Межгенный: $hutU-cysM$ Intergenic: $hutU-cysM$ | Отсутствует NA |
| MN5 173, 452, M549, 615, 580, 1484, 381, M557, M525, M1773, C791, M978, M519, 153, 556, 693, 868 | 2803151 | $G \rightarrow A$ | YPO2494 | Предполагаемый транспортер семейства ВССТ Putative BCCT-family transporter |

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

| 1 | 2 | 2 | Α | Окончание табл. 2 / Ending of table 2 |
|--|---------|-------------------|---|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 Межгенный: YPO0450 – YPO0451 | 5 Отсутствует |
| | 472490 | $G \rightarrow C$ | Intergenic: YPO0450 – YPO0451 | NA NA |
| MN6 173, 452, M549 | 1424616 | $G \rightarrow T$ | ber | Вероятный транспортный белок устойчивости к препаратам Probable drug resistance translocator protein |
| | 1961220 | $A \rightarrow T$ | gltP | Предполагаемый транспортный белок Putative transport protein |
| Филогенетическая ветвь 2.MED1 Северное Приаралье; Северный, Восточный Прикаспий MN7 Phylogenetic branch 2.MED1 North-Aral; Northern, Eastern Caspian MN7 | 739446 | $C \rightarrow T$ | YPO0667 | Гипотетический белок Hypothetical protein |
| Филогенетическая ветвь 2.MED1 Северный, Восточный Прикаспий MN8 | 2911550 | $C \rightarrow T$ | YPO2588 | Предполагаемый транспортный белок ABC Putative ABC transport protein |
| Phylogenetic branch 2.MED1 Northern, Eastern Caspian MN8 | 512182 | $G \rightarrow T$ | b0032 | Карбамоилфосфатсинтаза с малой цепью Carbamoyl-phosphate synthase small chain |
| MN9 381, M557, M525, M1773, C791, M978, M519, 153, M556, 693, 868 | 2445173 | $C \rightarrow T$ | YPO2173 | Вероятный регулятор ответной реакции Probable response regulator |
| MN10 M557, M525, 381 | 4415902 | $C \rightarrow A$ | glu | Фосфоенолпируваткарбоксилаза Phosphoenolpyruvate carboxylase |
| MN11 C791, M978, 1773 | 2958240 | $C \rightarrow T$ | Межгенный: glnS – ybfM Intergenic: glnS – ybfM | Отсутствует NA |
| | 1609567 | $G \rightarrow T$ | YPO1417 | Предполагаемый белок, связывающий железо-серу Putative iron-sulfur binding protein |
| | 2069730 | $G \rightarrow A$ | cheC1 | Жгутиковый белок FliL Flagellar protein FliL |
| | 2485517 | $G \rightarrow C$ | Межгенный: <i>trpH</i> – YPO2212 Intergenic: <i>trpH</i> – YPO2212 | Отсутствует NA |
| MN12 153, M556 | 2576657 | $T \rightarrow G$ | YPO2291 | Предполагаемый фактор вирулентности Putative virulence factor |
| | 2708103 | $G \rightarrow A$ | Межгенный: YPO2408 – pps Intergenic: YPO2408 – pps | Отсутствует NA |
| | 3752853 | $C \rightarrow A$ | cysN | Субъединица 1 сульфатаденилилтрансферазы Sulfate adenylyltransferase subunit 1 |
| | 4005877 | $C \rightarrow A$ | YPO3597 | Консервативный гипотетический белок Conserved hypothetical protein |
| | 996697 | $C \rightarrow A$ | visC | Предполагаемая монооксигеназа Putative monooxygenase |
| | 1812955 | $C \rightarrow T$ | ams | Рибонуклеаза E Ribonuclease E |
| | 2429318 | $A \rightarrow T$ | Межгенный: YPO2159 – nam Intergenic: YPO2159 – nam | Отсутствует NA |
| MN13 650, A1825, M816, M1299 | 2930750 | $C \rightarrow A$ | rlpB | Редкий предшественник липопротеина В Rare lipoprotein B precursor |
| | 3217929 | $C \rightarrow T$ | Межгенный: YPO2881 – YPO2882 Intergenic: YPO2881 – YPO2882 | Отсутствует NA |
| | 3436501 | $G \rightarrow A$ | ареА | Предполагаемая ацил-КоА-тиоэстераза Putative acyl-CoA thioesterase |

Note: NA – not available.

на основном носителе – большой песчанке – одновременно циркулировали штаммы, происходящие от штаммов из Северного Прикаспия первой половины XX в. (штамм 173, 1978 г.) и от штаммов из Северного Приаралья середины этого века (штамм 381, 1967 г.).

Все эти данные означают, что штаммы из Северного Приаралья 1945 г. в начале второй половины XX в. вызвали не только активизацию очагов Северного Прикаспия, но и привели к образованию устойчивых очагов в Восточном Прикаспии (Мангышлакский, Каракумский и Копетдагский) и к эпидемическим проявлениям чумы в этом регионе.

Часть штаммов одного из четырех изученных очагов, расположенных к востоку от Прикаспия, – Каракумского пустынного – вошла также в центральноазиатскую ветвь 2.МЕD1 средневекового биовара *У. реstis*. Происхождение центральноазиатской ветви достоверно неизвестно. Наиболее старый из доступных нам штаммов этой ветви – *У. реstis* 20, который был выделен во время вспышки в Кызылкумском пустынном очаге в с. Ак-Камыш (Каракалпакия, Узбекистан) в 1924 г. (1923–1924 гг., 126 заболевших, 110 умерших). В дальнейшем, по-видимому, на фоне благоприятных климатических условий центрально-азиатская популяция 2.МЕD1 продвинулась в северовосточном направлении и достигла Прибалхашья, образовав там устойчивые очаги чумы.

На дендрограмме от ствола центральноазиатской ветви 2.МЕD1 после штамма 20 из Узбекистана (1924 г.) последовательно дивергируют мы из Прибалхашского пустынного очага (1939 и 1961 гг.). От них отходит кластер (MN13 – 6 SNPs) из Каракумского очага (1968, 1985-1984 гг.). Штаммы из Каракумского очага 1968, 1984-1985 гг. являются потомками штаммов из Прибалхашского очага, пришедшими в Восточный Прикаспий в середине второй половины XX в. Таким образом, в экосистеме Каракумского очага во второй половине XX в. циркулировали штаммы, пришедшие из Северного Приаралья (1949–1970 гг.), а затем из Прибалхашья (1968-1985 гг.). Все три штамма из Каракумского пустынного очага, вошедшие в центральноазиатскую ветвь 2.МЕD1, выделены из природы от носителя большой песчанки и ее блох, сначала в Узбекистане (Чиплиская область, левый берег р. Сыр-Дарьи) в 1968 г., затем существенно западнее, в Красноводской области Туркмении в 1984-1985 гг., что говорит о последовательном продвижении центральноазиатских штаммов 2.MED1 из Прибалхашья в сторону Прикаспия и об укоренении там в тот период времени. Тот факт, что при этом штаммами пройдены значительные расстояния от Прибалхашья до Прикаспия (Красноводская область) всего за несколько лет, свидетельствует о значимой роли человека в переносе возбудителя чумы в процессе хозяйственной и торговой деятельности. При этом интродуцированные штаммы Y. pestis при наличии благоприятных условий быстро укоренялись в экосистеме природных очагов, о чем свидетельствует источник их выделения — переносчики — песчанки и их блохи.

Проведенный филогенетический анализ выявил активную циркуляцию Y. pestis в Восточном Прикаспии в XX в. В первой половине XX в. Восточного Прикаспия (Устюртский очаг, 1926 г.) достигла волна распространения 2.МЕD1 из Северного Прикаспия, штаммы которой сохранялись здесь и во второй половине XX в. (Устюртский очаг, 1962, 1975 гг.; Мангышлакский очаг, 1967, 1978 гг.). Во второй половине XX в. в Восточный Прикаспий пришла волна 2.MED1 из Северного Приаралья. Кроме того, по Каракумскому пустынному очагу также прошла и третья волна распространения 2.МЕD1, пришедшая в Восточный Прикаспий из Прибалхашья. Происхождение наиболее ранней вспышки чумы в 1912 г. в Каракумском пустынном очаге Туркмении (аул Чайрук, Марыйская область) и ее этиологический агент не установлены, ввиду отсутствия штаммов этой вспышки. Эпизоотическая активность в Каракумском очаге впервые зарегистрирована значительно позже, в 1949 г. Но с определенной долей вероятности можно предположить, что вспышка была вызвана штаммами 2.MED1 средневекового биовара первой волны распространения этой ветви, происходившего в западной, северной и восточной частях Прикаспия в первой половине XX в.

Гипотетическая схема циркуляции *Y. pestis* в очагах, расположенных к востоку от Прикаспия, представлена на рис. 2.

Таким образом, анализ полученных филогенетических данных в комплексе с эпизоотологическими и эпидемиологическими сведениями свидетельствует о том, что на протяжении XX в. в северной и южной подзонах пустынь Средней Азии и Казахстана, включая Восточный Прикаспий, происходило быстрое распространение популяции 2.MED1 Y. pestis средневекового биовара, выработавшей способность выживать в аридных ландшафтах. По-видимому, существенный вклад в этот процесс внесла хозяйственная деятельность человека. В целом результаты реконструкции основных направлений распространения штаммов филогенетической ветви 2.MED1 Y. pestis средневекового биовара в Восточном Прикаспии, в совокупности с ранее полученными данными о «пульсациях» их ареала в Северном и Северо-Западном Прикаспии, открывают новые перспективы использования молекулярно-генетических данных для выяснения закономерностей распространения чумы под действием циклических климатических изменений и, как следствие, создают основу для долгосрочного прогнозирования активности природных очагов чумы.

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

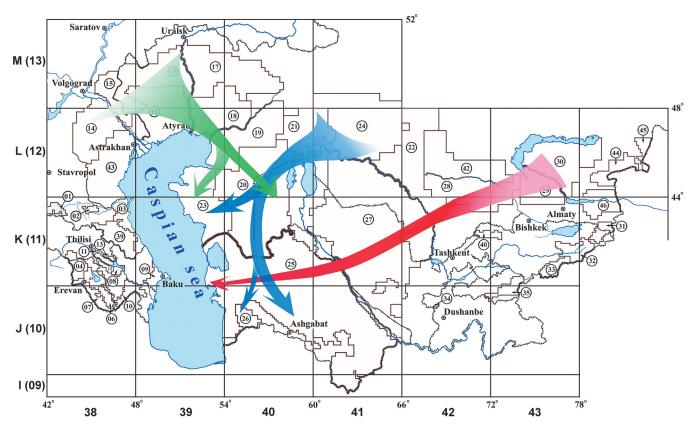


Рис. 2. Гипотетические направления распространения Y. pestis средневекового биовара 2.MED1 в Устюртском (20), Мангышлакском (23), Каракумском (25) и Копетдагском (26) пустынных очагах, расположенных к востоку от Каспийского моря. Номера этих и других очагов чумы: Прикаспийского Северо-Западного степного (14), Волго-Уральского степного (15), Волго-Уральского песчаного (16), Северо-Приаральского пустынного (21), Приаральско-Каракумского пустынного (27), Прибалхашского пустынного (30) — приведены в соответствии с классификацией природных очагов, принятой в Российской Федерации

Fig. 2. Hypothetical pathways of dissemination of *Y. pestis*, medieval biovar 2.MED1 in the Ustyurt (20), Mangyshlak (23), Karakum (25), and Kopetdag (26) desert foci located to the east of the Caspian Sea. The numbers of these and other plague foci: Caspian Northwestern steppe (14), Volga-Ural steppe (15), Volga-Ural sandy (16), North Aral desert (21), Aral-Karakum desert (24), Kyzylkum desert (27), Balkhash desert (30) – are given in accordance with the classification of natural foci adopted in the Russian Federation

Список литературы

1. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Природные очаги чумы Кавказа, Прикаспия, Средней Азии и Сибири. М.: Медицина; 2004. 191 с.

2. Кутырев В.В., Попова А.Ю., редакторы. Кадастр эпидемических и эпизоотических проявлений чумы на территории Российской Федерации и ближнего зарубежья (с 1876 по 2016 год). Саратов: Амирит; 2016. 248 с. 3. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guiyoule A

2016 год). Саратов: Амирит; 2016. 248 с.

3. 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.

4. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kuseeck 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.

5. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, Yersinia pestis. Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.

6. Li J., Wang Y., Liu F., Shen X., Wang Y., Fan M., Peng Y., Wang S., Feng Y., Zhang W., Lv Y., Zhang H., Lu X., Zhang E., Wei J., Chen L., Kan B., Zhang Z., Xu J., Wang W., Li W. Genetic source tracking of human plague cases in Inner Mongolia-Beijing, 2019. PLoS Negl. Trop. Dis. 2021; 15(8):e0009558. DOI: 10.1371/journal. pntd.0009558.

7. Xu L., Stige L.C., Leirs H., Neerinckx S., Gage K.L., Yang R., Liu O., Bramanti B., Dean K.R., Tang H., Sun Z., Stenseth N.C.

7. Xu L., Stige L.C., Leirs H., Neerinckx S., Gage K.L., Yang R., Liu Q., Bramanti B., Dean K.R., Tang H., Sun Z., Stenseth N.C., Zhang Z. Historical and genomic data reveal the influencing factors

on global transmission velocity of plague during the Third Pandemic. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2019; 116(24):11833–8. DOI: 10.1073/pnas.1901366116.

8. Ерошенко Г.А., Попов Н.В., Альхова Ж.В., Балыкова А.Н., Куклева Л.М., Червякова Н.С., Майканов Н.С., Сармулдина А.Х., Кутырев В.В. Пространственно-временной анализциркулящи Versinia pestis в Волго-Уральском песчаном очаге. Проблемы особо опасных инфекций. 2019; 3:51–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-51-57.

1069-2019-3-51-57.
9. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'hova J.V., Oglodin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/ fmicb.2018.01106.

fmicb.2018.01106.

10. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Z.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Naryshkina E.A., Kutyrev V.V. Evolution and circulation of *Yersinia pestis* in the Northern Caspian and Northern Aral Sea regions in the 20th—21st centuries. *PLoS One*. 2021; 16(2):e0244615. DOI: 10.1371/journal.pone.0244615.

11. Попов Н.В., Удовиков А.И., Ерошенко Г.А., Караваева Т.Б., Яковлев С.А., Поршаков А.М., Зенкевич Е.С., Кутырев В.В. Влияние флукгуаций уровня Каспийского моря на эпизоотическую активность Каспийского песчаного очага чумы. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2016; 1:12—7.

12. Bortnik V.N. Changes in the water level and hydrological balance of the Aral Sea. In: Micklin P.P., Williams W.D., editors. The Aral Sea Basin. NATO ASI Series (Series 2. Environment). Berlin: Springer; 1996. Vol. 12. P. 25–32. DOI: 10.1007/978-3-642-61182-7_3.

13. Kasimov N.S., Gennadiev A.N., Kasatenkova M.S., Lychagin M.Y., Kroonenberg S.B., Koltemann P. Geochemical changes in the Caspian salt marshes due to the sea level fluctuations. *Earth Science Research*. 2012; 1(2):262–78. DOI: 10.5539/esr. v1n2p262.

14. Cretaux J-F., Letolle R., Bergé-Nguyen M. History of Aral Sea level variability and current scientific debates. *Glob. Planet. Change*, 2013; 110:99–113. DOI: 10.1016/j.gloplacha.2013.05.006.

15. Chen J., Pekker T., Wilson S.R., Tapley B.D., Kostianoy A., Cretaux J.-F., Safarov E.S. Long-term Caspian Sea level change. *Geophys. Res. Lett.* 2017; 44(13):6993–7001. DOI: 10.1002/2017GL073958.

16. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней: Практическое руководство. М.: Шико; 2013. 560 с.

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. 191 p.

2. Kutyrev V.V., Popova A.Yu., editors. [Cadastre of Epidemic and Epizootic Manifestations of Plague in the Territory of the Russian Federation and Former Soviet Union (1876–2016)]. Saratov: "Amirit": 2016. 248 p.

and Epizootic Manifestations of Plague in the Territory of the Russian Federation and Former Soviet Union (1876–2016)]. Saratov: "Amirit"; 2016. 248 p.

3. 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.

4. 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.

5. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.

6. Li J., Wang Y., Liu F., Shen X., Wang Y., Fan M., Peng Y., Wang S., Feng Y., Zhang W., Lv Y., Zhang H., Lu X., Zhang E., Wei J., Chen L., Kan B., Zhang Z., Xu J., Wang W., Li W. Genetic source tracking of human plague cases in Inner Mongolia-Beijing, 2019. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2021; 15(8):e0009558. DOI: 10.1371/journal. pntd.0009558.

7. Xu L., Stige L.C., Leirs H., Neerinckx S., Gage K.L., Yang R., Liu O., Bramanti B., Dean K.R., Tang H., Sun Z., Stenseth N.C.

pntd.0009558.
7. Xu L., Stige L.C., Leirs H., Neerinckx S., Gage K.L., Yang R., Liu Q., Bramanti B., Dean K.R., Tang H., Sun Z., Stenseth N.C., Zhang Z. Historical and genomic data reveal the influencing factors on global transmission velocity of plague during the Third Pandemic. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2019; 116(24):11833–8. DOI: 10.1073/pnas.1901366116.

pnas.1901366116.

8. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Zh.V., Balykova A.N., Kukleva L.M., Chervyakova N.S., Maykanov N.S., Sarmuldina A.Kh., Kutyrev V.V. [Circulation of *Yersinia pestis* in the Volga-Ural sandy focus: spatiotemporal analysis]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (3):51–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-51-57.

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

fmicb.2018.01106.

10. Eroshenko G.A., Popov N.V., Al'khova Z.V., Kukleva L.M., Balykova A.N., Chervyakova N.S., Naryshkina E.A., Kutyrev V.V. Evolution and circulation of *Yersinia pestis* in the Northern Caspian and Northern Aral Sea regions in the 20th–21st centuries. *PLoS One*. 2021; 16(2):e0244615. DOI: 10.1371/journal.pone.0244615.

11. Popov N.V., Udovikov A.I., Eroshenko G.A., Karavaeva T.B., Yakovlev S.A., Porshakov A.M., Zenkevich E.S., Kutyrev V.V. [The influence of fluctuations in the level of the Caspian Sea on the epizootic activity of the Caspian sandy focus of plague]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]* 2016: (1):12–7

Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]. 2016; (1):12–7.

12. Bortnik V.N. Changes in the water level and hydrological balance of the Aral Sea. In: Micklin P.P., Williams W.D., editors. The Aral Sea Basin. NATO ASI Series (Series 2. Environment). Berlin: Springer; 1996. Vol. 12. P. 25–32. DOI: 10.1007/978-3-642-61182-7_3.

13. Kasimov N.S., Gennadiev A.N., Kasatenkova M.S., Lychagin M.Y., Kroonenberg S.B., Koltemann P. Geochemical changes in the Caspian salt marshes due to the sea level fluctuations. Earth Science Research. 2012; 1(2):262–78. DOI: 10.5539/esr. v1n2n262 v1n2p262

v1n2p262.
14. Cretaux J-F., Letolle R., Bergé-Nguyen M. History of Aral Sea level variability and current scientific debates. *Glob. Planet. Change*. 2013; 110:99–113. DOI: 10.1016/j.gloplacha.2013.05.006.
15. Chen J., Pekker T., Wilson S.R., Tapley B.D., Kostianoy A., Cretaux J.-F., Safarov E.S. Long-term Caspian Sea level change. *Geophys. Res. Lett.* 2017; 44(13):6993–7001. DOI: 10.1002/2017GL073958.

16. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Particularly Dangerous Infectious Diseases: Practice Guidelines]. Moscow: "Shiko"; 2013. 560 p.

Authors:

Eroshenko G.A., Oglodin E.G., Balykova A.N., Krasnov Ya.M., Naryshkina E.A., Popov N.V., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Ayazbaev T.Z. National Scientific Center for Particularly Dangerous Infections named after M. Aikimbaev. 14, Zhakhanger St., Almaty, 050054, Republic of Kazakhstan.

Об авторах:

Ерошенко Г.А., Оглодин Е.Г., Балыкова А.Н., Краснов Я.М., Нарышкина Е.А., Попов Н.В., Кутырев В.В. Российский научноисследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@ microbe ru

Аязбаев Т.З. Национальный научный центр особо опасных инфекций им. М. Айкимбаева. Республика Казахстан, 050054, Алматы, ул. Жахангер, 14.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-86-93

УДК 616.98:578.834.1

В.В. Золин, О.П. Оськина, В.В. Солодкий, А.С. Овчинникова, А.П. Агафонов, Р.А. Максютов

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ШТАММОВ КОРОНАВИРУСА SARS-CoV-2 НА РАЗЛИЧНЫХ ТИПАХ ТЕСТ-ПОВЕРХНОСТЕЙ, В ПИТЬЕВОЙ ВОДЕ, А ТАКЖЕ ИХ УСТОЙЧИВОСТЬ К ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВАМ

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

Цель исследования – изучение динамики остаточной инфекционной активности штаммов вируса SARS-CoV-2, относящихся к различным геновариантам, на разных типах поверхностей, в образцах питьевой дехлорированной воды при температуре 24–28 °C, а также их устойчивости к дезинфицирующим средствам. **Материалы и методы.** Исследования проводили с использованием штаммов коронавируса SARS-CoV-2, полученных из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекционных болезней и риккетсиозов, функционирующей на базе ГНЦ ВБ «Вектор». Изучение остаточной инфекционности коронавируса SARS-CoV-2 проводили методом титрования проб в культуре клеток. Результаты и обсуждение. Проведенные исследования подтвердили способность всех изученных штаммов коронавируса SARS-CoV-2 при температуре 24-28 °C сохранять свою инфекционную активность на большинстве исследованных типов тест-поверхностей в течение как минимум 48 часов, при этом лучше всего вирус сохранялся на нержавеющей стали и пластике. Все изученные штаммы коронавируса SARS-CoV-2 оказались жизнеспособны в питьевой дехлорированной воде на протяжении как минимум 48 часов. Кроме того, установлено, что все исследованные штаммы вируса SARS-CoV-2 чувствительны к дезинфекционным средствам разных групп, широко используемым для целей дезинфекции при работе с патогенными биологическими агентами или для обработки рук и контаминированных вирусами поверхностей. Наибольшей активностью обладали хлорсодержащие дезинфектанты. Кожные антисептики на основе этилового и изопропилового спиртов пригодны для обеззараживания рук и объектов, контаминированных вирусом SARS-CoV-2.

Ключевые слова: жизнеспособность геновариантов коронавируса SARS-CoV-2, типы поверхностей, питьевая дехлорированная вода, дезинфицирующие средства.

Корреспондирующий автор: Золин Владимир Викторович, e-mail: zolin@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Золин В.В., Оськина О.П., Солодкий В.В., Овчинникова А.С., Агафонов А.П., Максютов Р.А. Жизнеспособность штаммов коронавируса SARS-CoV-2 на различных типах тест-поверхностей, в питьевой воде, а также их устойчивость к дезинфицирующим средствам. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 2:86–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-86-93

Поступила 02.02.2022. Принята к публ. 10.03.2022.

V.V. Zolin, O.P. Os'kina, V.V. Solodky, A.S. Ovchinnikova, A.P. Agafonov, R.A. Maksyutov

Viability of SARS-CoV-2 Coronavirus Strains on Different Types of Test Surfaces, in Drinking Water and Their Resistance to Disinfectants

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

Abstract. The purpose of the research was to study the dynamics of residual infectious activity of SARS-CoV-2 virus strains belonging to different genovariants, on different types of surfaces, in samples of drinking dechlorinated water at 24–28 °C, as well as their resistance to disinfectants. Materials and methods. The studies were carried out using SARS-CoV-2 coronavirus strains obtained from the State Collection of Causative Agents of Viral Infectious Diseases and Rickettsiosis, which operates at the premises of the SSC VB "Vector". The evaluation of the residual infectivity of the SARS-CoV-2 coronavirus was carried out through titration of samples in cell culture. Results and discussion. The conducted studies have confirmed the ability of all investigated strains of the SARS-CoV-2 coronavirus to maintain their infectious activity at 24–28 °C on most of the examined types of test surfaces for at least 48 hours, while the virus is best preserved on stainless steel and plastic. All studied strains of the SARS-CoV-2 coronavirus are viable in drinking dechlorinated water for at least 48 hours. In addition, it has been found that all of them are sensitive to disinfectants of different groups, widely used for disinfection when working with pathogenic biological agents or for treating hands and surfaces contaminated with viruses. Chlorine-containing disinfectants are the most active. Skin antiseptics based on ethyl and isopropyl alcohols are suitable for disinfecting hands and objects contaminated with the SARS-CoV-2 virus.

Key words: viability of SARS-CoV-2 coronavirus genovariants, types of surfaces, drinking dechlorinated water, disinfectants.

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

Corresponding author: Vladimir V. Zolin, e-mail: zolin@vector.nsc.ru.

Citation: Zolin V.V., Os'kina O.P., Solodky V.V., Ovchinnikova A.S., Agafonov A.P., Maksyutov R.A. Viability of SARS-CoV-2 Coronavirus Strains on Different Types of Test Surfaces, in Drinking Water and Their Resistance to Disinfectants. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:86–93. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-86-93

Received 02.02.2022. Accepted 10.03.2022.

Zolin V.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4120-1178 Os'kina O.P., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9165-1524 Solodky V.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7270-0028 Ovchinnikova A.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1745-7643 Agafonov A.P., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2577-0434 Maksyutov R.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1314-281X По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), на конец второй декады января 2022 г. в мире выявлено более 332 млн случаев заболевания COVID-19 по всему миру, подтверждено более 5,0 млн летальных исходов заболевания, в Российской Федерации — более 11 млн случаев и более 326 тыс. летальных исходов, что делает пандемию COVID-19 одной из самых смертоносных в истории.

Геном коронавируса SARS-CoV-2 претерпевал изменения в течение всего периода пандемии. ВОЗ классифицировала появляющиеся геноварианты коронавируса, устанавливая ключевые мутации, изменяющие их свойства, такие как патогенность и контагиозность. Крайне важно учитывать способность вируса заражать человека без непосредственного контакта с инфицированным. При разработке стратегии борьбы с COVID-19 специалисты учитывали способность коронавируса сохранять свою инфекционную активность в воздухе, воде, а также при оседании на различные поверхности.

Стремительное распространение геноварианта омикрон (происхождение Панго: В.1.1.529) стало серьезной проблемой для стран всего мира [1, 2]. Увеличение инфекционности/трансмиссивности этого геноварианта объяснялось несколькими факторами, такими как увеличение выделения вируса инфицированными; длительный период выделения вируса; снижение минимальной вирусной нагрузки — инфекционной дозы, необходимой для появления у инфицированного клинических признаков заболевания; возможное повышение стабильности в окружающей среде [3, 4]. Однако последнее предположение нуждается в тщательной проверке.

Больной COVID-19 может обильно контаминировать вирусом SARS-CoV-2 разные поверхности при чихании и кашле. Вирус SARS-CoV-2, находящийся на руках, может легко попадать на разные поверхности при прикосновении к ним больного человека. При этом время выживания штаммов вируса SARS-CoV-2 на коже человека, по литературным данным, составляет от 9 до 21 часа [5]. Вопрос о длительности сохранения жизнеспособности различных штаммов коронавируса SARS-CoV-2 на различных типах поверхностей крайне важен, потому что вирус будет способен инфицировать человека. Период «полужизни» вируса на нержавеющей стали составил около 13 часов, на полипропилене - около 16 часов [6-8]. Из литературных источников известно, что если классифицировать материалы по устойчивости SARS-CoV-2 на их поверхности, получается следующий список по уменьшению срока жизнеспособности: полипропилен, пластик, стекло, нержавеющая сталь, свиная кожа, картон, банкнота, хлопок, дерево, бумага, ткань, медь [9–12].

Одной из основных задач, ключевой для организации и проведения мероприятий в условиях пандемии COVID-19, является определение концентрации и времени экспозиции использующихся в настоящее

время дезинфекционных средств и антисептиков в отношении циркулирующих штаммов коронавируса SARS-CoV-2.

Не менее важным путем передачи коронавируса может являться питьевая вода, особенно на эпидемиологически неблагоприятных территориях, в частности в случае возможности попадания сточных вод в систему централизованного водоснабжения населенных пунктов [13]. По данным литературы, полная инактивация коронавируса SARS-CoV-2 в пресной воде происходит только в течение нескольких дней [14]. Другие наблюдения, проведенные в ряде стран, показали, что в реках и озерах он может сохранять жизнеспособность до 25 дней [15, 16].

Целью данной работы являлось определение динамики остаточной инфекционной активности штаммов вируса SARS-CoV-2, относящихся к различным геновариантам, на различных типах тестповерхностей, в образцах питьевой дехлорированной воды, а также их устойчивости к дезинфектантам при температуре 24–28 °C.

Материалы и методы

Исследования проводили с использованием штаммов коронавируса SARS-CoV-2: референсный штамм hCoV-19/Australia/VIC01/2020 (AUS) (уханьский вариант); штамм hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020 (геновариант альфа, британский, В.1.1.7); штамм hCoV-19/Russia/MOS-SAB-1502/2021 (геновариант бета, южноафриканский, В1.351); штамм hCoV-19/Russia/MOS-2406/2021 (геновариант дельта, индийский, AY.43); штамм hCoV-19/Russia/ Moscow171619-031221/2021 (геновариант омикрон, В.1.1.529), - полученных из Государственной коллекции возбудителей вирусных инфекционных болезней и риккетсиозов, функционирующей на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Для исследований использовали штаммы коронавируса с титром $(5,5\pm0,3)$ lg ТЦД₅₀/мл.

При изучении жизнеспособности коронавируса SARS-CoV-2 в воде вируссодержащую жидкость добавляли в образцы питьевой дехлорированной воды в пропорции 1:9. Образцы воды с вирусом выдерживали при комнатной температуре 26–28 °C, динамику инактивации изучали методом отбора проб через 1, 3, 24, 48 и 72 часа и дальнейшего их титрования в культуре клеток Vero E6.

При исследовании инфекционной активности разных штаммов коронавируса SARS-CoV-2 на материалах на различные типы тест-поверхностей наносили вируссодержащую суспензию из расчета 0,5 мл на 100 см², равномерно распределяли ее по поверхности стеклянным шпателем, далее через 1, 3, 24, 48, 72 часа отбирали пробы протиранием увлажненной раствором Хэнкса стерильной марлевой салфеткой (5×5 см), проводили элюцию встряхиванием в течение 10 минут, полученный элюат наносили на культуру клеток Vero E6 и методом титрования осу-

ществляли контроль инфекционной активности коронавируса. Оценку чувствительности коронавируса к дезинфекционным средствам проводили в соответствии с требованиями руководства Р 4.2.3676-20 «4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности».

Время экспозиции штаммов вируса SARS-CoV-2 с дезинфицирующими средствами составляло 15, 30, 60 минут. При определении устойчивости штаммов вируса SARS-CoV-2 к спиртам промежутки времени были следующими: 30 секунд, 1 и 2 минуты.

Вирусную суспензию SARS-CoV-2 после экспозиции в растворе с дезинфекционными средствами разбавляли (1:1) нейтрализующим компонентом и титровали в культуре клеток. Определение титра вируса в образцах проводили на культуре клеток Vero E6 методом бляшкообразования [17].

Статистическую обработку данных проводили стандартными методами с помощью пакета компьютерных программ Statistica 10 (StatSoft Inc., 2011) с оценкой достоверности отличий ($p \le 0.05$) для 95 % доверительного уровня (I_{95}) [18]. Определение величины ТЦД/ I_{50} проводили по методу Спирмена – Кербера в модификации Ашмарина – Воробьева [19].

Результаты и обсуждение

На первом этапе исследований проведены эксперименты по изучению динамики инактивации штаммов коронавируса SARS-CoV-2 на различных тестповерхностях. Результаты представлены в табл. 1.

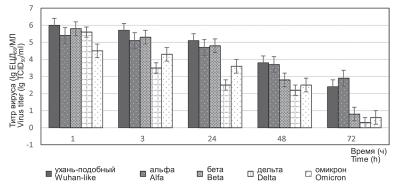
Как следует из данных табл. 1, штаммы коронавируса SARS-CoV-2 всех геновариантов способны сохранять свою инфекционную активность на различных типах тест-поверхностей при температуре 24–28 °C на протяжении как минимум 48 часов, при этом степень сохранности остаточной инфекционной активности вируса зависит от типа поверхности, лучше всего вирус сохраняется на нержавеющей стали и пластике.

Для изучения сохранности инфекционной активности геновариантов коронавируса SARS-CoV-2 использовали питьевую дехлорированную воду, результаты представлены на рисунке.

Как свидетельствуют данные рисунка, все исследованные штаммы коронавируса SARS-CoV-2 сохраняют остаточную инфекционную активность в дехлорированной питьевой воде в течение как минимум 48 часов, при этом референсный штамм (уханьский вариант) и британский штамм сохраняют достаточно высокую остаточную инфекционную активность в течение как минимум 72 часов.

Для проверки эффективности дезсредств приготовленные в соответствии с инструкцией производителя или требованиями нормативных документов дезинфицирующие растворы в рабочих концентрациях добавляли в культуральную вируссодержащую жидкость с вирусом SARS-CoV-2, выдерживали в течение 15, 30 и 60 минут и после добавления нейтрализующего компонента определяли остаточную инфекционную активность вируса. Результаты экспериментов по изучению дезсредств представлены в табл. 2.

Результаты анализов показали, что практически все используемые дезинфектанты эффективны в отношении изученных геновариантов коронавируса SARS-CoV-2. Не удовлетворяли требованию нормативных документов Р 4.2.3676-20 «4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности» и ГОСТ Р 58151.4-2018 «Средства дезинфицирующие. Методы определения показателей эффективности (с поправкой)» гипохлорит натрия, водный раствор которого в концентрации 0,1 % полностью не инактивировал коронавирусы в течение 1 часа, так же как перекись водорода в концентрации 0,1 %, третичные амины и четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) в концентрациях соответственно 0,002 и 0,1 %. Обработка гипохлоритом натрия в концентрации 0,1 %, который рекомендуется как эффективное дезсредство для поверхностей и мытья рук при загрязнении их вирусом SARS-CoV-2 [20], не приводила к инактивации вируса при контакте в течение 60 минут, при этом в концентрации 0,5 % полная инактивация вируса происходила через 15 минут совместной экспозиции вируссодержащей жидкости и дезсредства. Хлорамин при экспозиции с вируссодержащей жидкостью в течение 60 минут снижал инфекционность вируса на 4,7-5,3 lg ТЦД₅₀/мл во всех проверенных концентрациях.



Длительность сохранения инфекционной активности штаммов коронавируса SARS-CoV-2 в дехлорированной питьевой воде при температурах 24–28 °C в течение 1, 3, 24, 48, 72 часов

Duration of infectious activity retention in the SARS-CoV-2 coronavirus in dechlorinated drinking water at 24–28 °C after 1, 3, 24, 48, 72 hours

Таблица 1 / Table 1

Жизнеспособность штаммов SARS-CoV-2 на различных тест-поверхностях при температуре 24–28 °C на 1-, 3-, 24-, 48-, 72-й час после отбора проб

Viability of the SARS-CoV-2 strains on various test surfaces at 24-28 °C, 1, 3, 24, 48, and 72 hours after sampling

| Геноварианты SARS-CoV-2 | Наименование поверхности | Титр вируса SARS-CoV-2 ($lgTCID_{50}/m\pi$, $M\pm I_{95}$, $n=5$)* / время отбора проб, ч Titers of SARS-CoV-2 virus ($lgTCID_{50}/ml$, $M\pm I_{95}$, $n=5$)* / time lapse after sampling, h | | | | | | |
|------------------------------|--|---|------------|--------------|--------------|--------------|--|--|
| SARS-CoV-2 genovariants | Type of surface | 1 ч 1 h | 3 ч 3 h | 24 ч 24 h | 48 ч 48 h | 72 ч 72 h | | |
| | Нержавеющая сталь Stainless steel | 5,0±0,3 | 4,6±0,2 | 2,3±0,3 | 1,5±0,2 | 0,6±0,1 | | |
| | Пластик Plastic | 4,9±0,3 | 3,6±0,2 | 1,5±0,3 | 0,8±0,2 | ≤0,5 | | |
| Ухань-подобный Wuhan-like | Керамическая плитка Ceramic tile | 4,0±0,3 | 2,5±0,2 | 1,0±0,3 | 0,8±0,2 | ≤0,5 | | |
| | Контроль вируса (К+) Virus control (С+) | | | 5,3±0,3 | | | | |
| | Контроль клеток (К–) Virus control (С–) | | | 0 | | | | |
| | Нержавеющая сталь Stainless steel | 5,0±0,3 | 4,3±0,2 | 1,3±0,3 | 1,2±0,2 | 0,6±0,1 | | |
| | Пластик Plastic | 4,9±0,3 | 3,3±0,2 | 1,5±0,3 | 0,8±0,2 | ≤0,5 | | |
| Альфа Alfa | Керамическая плитка Ceramic tile | 4,0±0,3 | 2,3±0,2 | 1,0±0,3 | 0,6±0,2 | ≤0,5 | | |
| | Контроль вируса (K+) Virus control (C+) | | | 5,3±0,3 | | | | |
| | Контроль клеток (K–) Virus control (C–) | | _ | 0 | | | | |
| | Нержавеющая сталь Stainless steel | 5,0±0,3 | 4,6±0,2 | 2,3±0,3 | ≤ 0,5 | ≤0,5 | | |
| | Пластик Plastic | 4,9±0,3 | 4,3±0,2 | 3,5±0,3 | 1,8±0,2 | 0,8±0,2 | | |
| Бета Beta | Керамическая плитка Ceramic tile | $4,0\pm0,3$ $4,3\pm0,2$ $\leq0,5$ $\leq0,5$ $\leq0,5$ | | | | | | |
| | Контроль вируса (K+) Virus control (C+) | 5,3±0,3 | | | | | | |
| | Контроль клеток (К–) Virus control (С–) | | _ | 0 | | | | |
| | Нержавеющая сталь Stainless steel | 5,1±0,3 | 2,75±0,3 | 2,5±0,3 | 1,8±0,2 | ≤0,5 | | |
| | Пластик Plastic | 4,8±0,3 | 3,3±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | | |
| Дельта Delta | Керамическая плитка Ceramic tile | 4,2±0,3 | 2,8±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | | |
| | Контроль вируса (K+) Virus control (C+) | | | 5,3±0,3 | | | | |
| | Контроль клеток (К–) Virus control (С–) | | | 0 | | | | |
| | Нержавеющая сталь Stainless steel | 4,5±0,3 | 4,5±0,2 | 3,0±0,3 | 2,5±0,1 | ≤0,5 | | |
| | Пластик Plastic | 5,0±0,3 | 4,3±0,2 | 2,5±0,3 | 2,5±0,2 | 0,8±0,2 | | |
| Омикрон Omicron | Керамическая плитка Ceramic tile | 4,5±0,3 | 3,5±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | | |
| | Контроль вируса (К+) Virus control (С+) | | | 5,5±0,3 | | | | |
| | Контроль клеток (К–) Virus control (С–) | | | 0 | | | | |

Примечание: *-n – число экспериментов; М – среднее значение; I_{95} – 95 % доверительный интервал, p<0,05.

Note: * – n – number of experiments; M – median value; I_{95} – 95 % confidence interval, p<0.05.

Таблица 2 / Table 2

Эффективность дезинфектантов в отношении штаммов SARS-CoV-2 при температуре 24–28 °C и экспозиции с дезсредствами в течение 15, 30 и 60 минут

The effectiveness of disinfectants against SARS-CoV-2 strains at 24–28 °C and exposure to disinfectants for 15, 30, and 60 minutes

| Геноварианты SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 genovariants | Дезинфекционные средства Disinfectants | Концентрация, % Concentration, % | Титр вируса SARS-CoV-2 после экспозиции с дезинфектантами (lg ТЦД ₅₀ /мл) / время экспозиции, мин SARS-CoV-2 virus titer after exposure to disinfectants (lg TCID50/ml) / time of exposition, min | | | |
|--|---|-------------------------------------|--|---------|----------|--|
| | Disinfectants Disinfectants | | 15 мин | 30 мин | 60 мин | |
| | | | 15 min | 30 min | 60 min | |
| 1 | | 3 | 4 | 5 | 6 | |
| | Хлорамин Б | 0,02 | 1,5±0,3 | 1,0±0,2 | <0,5 | |
| | Chloramine B | 3 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Натриевая соль | 0,05 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | дихлоризоциануровой кислоты Sodium salt of dichloroisocyanuric acid | 0,06 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Гипохлорит натрия (водный раствор) | 0,1 | 2,5±0,5 | 1,1±0,2 | 0,8±0,1 | |
| | Sodium hypochlorite (aqueous solution) | 0,5 | <0,5 | <0,5 | <0,5 | |
| Ухань-подобный | Перекись водорода | 0,1 | 4,0±0,4 | 3,6±0,3 | 1,4±0,2 | |
| Ухань-подооныи Wuhan-like | Hydrogen peroxide | 3,0 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| wunan-nkc | ЧАС | 0,1 | 2,5±0,5 | 1,2±0,2 | 0,9±0,1 | |
| | QAC | 0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Третичные амины | 0,002 | 4,0±0,3 | 3,5±0,3 | 2,5±0,3 | |
| | Tertiary amines | 0,05 | 1,5±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Контроль вируса (К+) Virus control (С+) | | 5,5 | ±0,3 | | |
| | Контроль клеток (К–) Virus control (С–) | | | 0 | | |
| | Хлорамин Б | 0,02 | 1,6±0,3 | 1,2±0,2 | <0,5 | |
| Альфа Alfa | Chloramine B | 3 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Натриевая соль | 0,05 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | дихлоризоциануровой кислоты Sodium salt of dichloroisocyanuric acid | 0,06 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Гипохлорит натрия (водный раствор) | 0,1 | 2,2±0,5 | 1,2±0,2 | 0,8±0,2 | |
| | Sodium hypochlorite (aqueous solution) | 0,5 | <0,5 | <0,5 | <0,5 | |
| | Перекись водорода | 0,1 | 4,2±0,5 | 3,8±0,2 | 1,2±0,2 | |
| | Hydrogen peroxide | 3,0 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| Alla | ЧАС | 0,1 | 2,2±0,5 | 1,0±0,2 | 0,8±0,2 | |
| | QAC | 0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Третичные амины | 0,002 | 4,2±0,3 | 3,2±0,3 | 3,0±0,3 | |
| | Tertiary amines | 0,05 | 1,5±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Контроль вируса (К+) Virus control (С+) | 5,5±0,3 | | | | |
| | Контроль клеток (К–) Virus control (С–) | | | 0 | | |
| | Хлорамин Б | 0,02 | 1,5±0,3 | 1,0±0,2 | <0,5 | |
| | Chloramine B | 3 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Натриевая соль | 0,05 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | дихлоризоциануровой кислоты Sodium salt of dichloroisocyanuric acid | 0,06 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Гипохлорит натрия (водный раствор) | 0,1 | 2,0±0,2 | 1,0±0,2 | 0,6 ±0,1 | |
| | Sodium hypochlorite (aqueous solution) | 0,5 | <0,5 | <0,5 | <0,5 | |
| r | Перекись водорода | 0,1 | 3,5±0,5 | 2,5±0,3 | 1,0±0,2 | |
| Бета Веta | Hydrogen peroxide | 3,0 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| DCIA | ЧАС | 0,1 | 2,0±0,5 | 1,0±0,2 | 0,6±0,1 | |
| | QAC | 0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Третичные амины | 0,002 | 3,8±0,3 | 3,0±0,3 | 2,5±0,3 | |
| | Tertiary amines | 0,05 | 1,2±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Контроль вируса (K+) Virus control (C+) | | 5,5 | ±0,3 | | |
| | Контроль клеток (К–) Virus control (С–) | | | 0 | | |

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |
|--------------------|---|---------|----------|---------|---------|--|
| | Хлорамин Б | 0,02 | 1,5±0,3 | 1,2±0,2 | <0,5 | |
| | Chloramine B | 3 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Натриевая соль | 0,05 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | дихлоризоциануровой кислоты Sodium salt of dichloroisocyanuric acid | 0,06 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Гипохлорит натрия (водный раствор) | 0,1 | 2,5±0,5 | 1,1±0,2 | 0,8±0,1 | |
| | Sodium hypochlorite (aqueous solution) | 0,5 | <0,5 | <0,5 | <0,5 | |
| Tr. | Перекись водорода | 0,1 | 4,0±0,4 | 3,5±0,3 | 1,4±0,2 | |
| Дельта Delta | Hydrogen peroxide | 3,0 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| Dena | ЧАС | 0,1 | 2,5±0,5 | 1,4±0,2 | 0,8±0,2 | |
| | QAC | 0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Третичные амины | 0,002 | 4,2±0,3 | 3,5±0,3 | 3,0±0,3 | |
| | Tertiary amines | 0,05 | 1,4±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Контроль вируса (K+) Virus control (C+) | 5,5±0,3 | | | | |
| | Контроль клеток (K–) Virus control (C–) | 0 | | | | |
| | Хлорамин Б | 0,02 | 1,75±0,3 | 1,5±0,2 | <0,5 | |
| | Chloramine B | 3 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Натриевая соль | 0,05 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | дихлоризоциануровой кислоты Sodium salt of dichloroisocyanuric acid | 0,06 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Гипохлорит натрия (водный раствор) | 0,1 | 2,5±0,5 | 1,5±0,2 | 0,8±0,1 | |
| | Sodium hypochlorite (aqueous solution) | 0,5 | <0,5 | <0,5 | <0,5 | |
| 0 | Перекись водорода | 0,1 | 4,5±0,4 | 3,5±0,3 | 1,6±0,2 | |
| Омикрон Omicron | Hydrogen peroxide | 3,0 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| Omicron | ЧАС | 0,1 | 2,5±0,5 | 1,5±0,2 | 1,0±0,2 | |
| | QAC | 0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Третичные амины | 0,002 | 4,5±0,3 | 3,5±0,3 | 3,3±0,3 | |
| | Tertiary amines | 0,05 | 1,5±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| | Контроль вируса (К+) Virus control (C+) | | 5,5 | 5±0,3 | | |
| | Контроль клеток (K–) Virus control (C–) | 0 | | | | |

Примечание: ЧАС – четвертичные аммониевые соединения.

Note: QAC – quaternary ammonium compound.

В настоящее время средства на спиртовой основе для антисептической обработки рук являются единственными известными средствами для быстрого и эффективного уничтожения разнообразных потенциально вредных микроорганизмов на руках. Реагируя на недостаток или перебои в снабжении населения антисептиками для рук, которые неизбежно возникали во время пандемии COVID-19, специалисты ВОЗ разработали и представили практическое руководство по производству в аптеках рецептур антисептиков для рук на основе этилового и изопропилового спиртов с соблюдением требований использования реактивов только фармакопейного качества [7].

Результаты экспериментов по изучению эффективности этилового и изопропилового спиртов в качестве кожных антисептиков *in vitro* представлены в табл. 3.

Результаты экспериментов по изучению эффективности спиртов в качестве антисептиков оказались весьма обнадеживающими. Как следует из данных табл. 3, оба дезинфектанта, и этиловый, и изопропиловый спирт, в концентрации 70 % полностью

инактивируют изученные штаммы коронавируса SARS-CoV-2 спустя 30 секунд после обработки.

Таким образом, проведенные исследования подтверждают, что разные штаммы коронавируса SARS-CoV-2 способны сохранять свою инфекционную активность в окружающей среде при благоприятных для них условиях и, соответственно, представлять эпидемиологическую опасность для населения. Различные варианты коронавируса SARS-CoV-2 жизнеспособны в питьевой дехлорированной воде на протяжении как минимум 48 часов, а родительский (уханьский) штамм и британский - в течение 72 часов. Ранее мы показали, что степень сохранности остаточной инфекционной активности уханьского варианта вируса в воде зависит от ее температуры: чем она ниже, тем лучше сохраняется вирус [17]. С высокой долей вероятности можно утверждать, что это будет справедливо и для других штаммов коронавируса SARS-CoV-2. Экспериментальным путем установлено, что штаммы коронавируса SARS-CoV-2 при температуре 24-28 °C способны сохранять инфекционную активность на всех ис-

Таблица 3 / Table 3

Эффективность спиртов в отношении коронавируса SARS-CoV-2 при температуре (26±2) °C и экспозиции в течение 30, 60 и 120 секунд The effectiveness of alcohols against SARS-CoV-2 coronavirus at (26±2) °C and exposition for 30, 60 and 120 seconds

| | | Титр вируса SARS-CoV-2 после экспозиции с растворами спиртов (lg ТЦД ₅₀ /мл) / время экспозиции, с SARS-CoV-2 virus titers after exposure to alcohol solutions (lg TCID ₅₀ /ml) / time of exposition, s | | | | | | | | | | | |
|--|--------------|---|----------------------------|------|---------|-------------------|---------|----------------------------|----------------|-------------------|---------|----------------------------|--|
| Геновариант Genovariant | | 30 c 30 s | | | | 60 c 60 s | | | 120 c 120 s | | | | |
| Genovariant | этило eth | | изопропиловый isopropyl | | | этиловый ethyl | | изопропиловый isopropyl | | этиловый ethyl | | изопропиловый isopropyl | |
| | 50 % | 70 % | 50 % | 70 % | 50 % | 70 % | 50 % | 70 % | 50 % | 70 % | 50 % | 70 % | |
| Ухань-подобный Wuhan-like | 1,2±0,2 | ≤0,5 | 1,0±0,2 | ≤0,5 | 1,0±0,2 | ≤0,5 | 0,8±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| Альфа Alfa | 1,4±0,2 | ≤0,5 | 1,2±0,2 | ≤0,5 | 1,1±0,2 | ≤0,5 | 1,0±0,2 | ≤0,5 | 0,8±0,2 | ≤0,5 | 0,6±0,2 | ≤0,5 | |
| Бета Веta | 1,2±0,2 | ≤0,5 | 1,0±0,2 | ≤0,5 | 1,0±0,2 | ≤0,5 | 0,8±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| Дельта Delta | 1,2±0,2 | ≤0,5 | 1,0±0,2 | ≤0,5 | 1,4±0,2 | ≤0,5 | 0,8±0,2 | ≤0,5 | 0,6±0,2 | ≤0,5 | ≤0,5 | ≤0,5 | |
| Омикрон Omicron | 1,4±0,2 | ≤0,5 | 1,2±0,2 | ≤0,5 | 1,0±0,2 | ≤0,5 | 1,0±0,2 | ≤0,5 | 0,8±0,2 | ≤0,5 | 0,6±0,2 | ≤0,5 | |
| Контроль вируса (K+) Virus control (C+) | | 5,5±0,3 | | | | | | | | | | | |
| Контроль клеток (К–) Virus control (С–) | | | | | | | 0 | | | | | | |

следованных типах тест-поверхностей в течение как минимум 48 часов. Необходимость выявления и оценки всех возможных путей передачи коронавируса SARS-CoV-2, особенно его новых вариантов, а также времени сохранения их инфекционной активности в окружающей среде и чувствительности к дезинфектантам по-прежнему крайне важна в эпидемиологическом плане, поэтому исследования в этом направлении будут продолжены.

Кроме того, в результате исследований подтверждена пригодность дезинфекционных средств разных групп, широко используемых для целей дезинфекции при работе с патогенными биологическими агентами, и кожных антисептиков на основе этилового и изопропилового спиртов для обеззараживания рук и объектов, контаминированных разными геновариантами коронавируса SARS-CoV-2.

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

Работа выполнена в рамках Государственного задания ГЗ 46/21.

Список литературы

1. SARS-CoV-2 B.1.1.529 (Omicron) Variant - United States,

1. SAKS-Cov-z B.1.1.529 (Omicron) Variant – United States, December 1–8, 2021. MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep. 2021; 70(50):1731–4. DOI: 10.15585/mmwr.mm7050e1.

2. Science Brief: Omicron (B.1.1.529) Variant. [Электронный ресурс]. URL: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/scientific-brief-omicron-variant.html (дата обращения 20.01.2022).

3. Ephaneira readinges for Omicron (B.1.1.520) Tacking this is a specific program of the control of the

3. Enhancing readiness for Omicron (B.1.1.529): Technical brief and priority actions for Member States. World Health Organization. WHO; 2021. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/2021-12-23-global-technicalbrief-and-priority-action-on-omicron.pdf?sfvrsn=d0e9fb6c 8 (дата обращения 20.01.2022).

4. He X., Hong W., Pan X., Lu G., Wei X. SARS-CoV-2 Omicron variant: Characteristics and prevention. MedComm. 2021; 2(4):838-45. DOI: 10.1002/mco2.110.

5. Hirose R., Itoh Y., Ikegaya H., Miyazaki H., Watanabe N., Yoshida T., Bandou R., Daidoji T., Nakaya T. Differences in environmental stability among SARS-CoV-2 variants of concern: Omicron has higher stability. bioRxiv. 2022. DOI: 10.1101/2022.01.18.476607.

6. Riddell S., Goldie S., Hill A., Eagles D., Drew T.W. The effect of temperature on persistence of SARS-CoV-2 on common surfaces. *Virol J.* 2020; 17(1):145. DOI: 10.1186/s12985-020-01418-7.

10.1180/S12985-020-01418-/.

7. Casanova L.M., Jeon S., Rutala W.A., Weber D.J., Sobsey M.D. Effects of air temperature and relative humidity on coronavirus survival on surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76(9):2712-7. DOI: 10.1128/AEM.02291-09.

8. Rabenau H.F., Cinatl J., Morgenstern B., Bauer G., Preiser W., Doerr H.W. Stability and inactivation of SARS coronavirus. *Med. Microbiol. Immunol.* 2005; 194(1-2):1-6. DOI: 10.1007/s00430-004-0219-0.

9. Chin A.W.H. Chul I.T.S. Perera M.R.A. Hui K.D.V. Von

10.1007/s00430-004-0219-0.

9. Chin A.W.H., Chu J.T.S., Perera M.R.A., Hui K.P.Y., Yen H.L., Chan M.C.W., Peiris M., Poon L.L.M. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. Lancet Microbe. 2020; 1(1):e10. DOI: 10.1016/S2666-5247(20)30003-3.

10. Van Doremalen N., Bushmaker T., Morris D.H., Holbrook M.G., Gamble A., Williamson B.N., Tamin A., Harcourt J.L., Thornburg N.J., Gerber S.I., Lloyd-Smith J.O., de Wit E., Munster V.J. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. N. Engl. J. Med. 2020; 382(16):1564-7. DOI: 10.1056/NEJMc2004973.

11. Liu Y., Li T., Deng Y., Liu S., Zhang D., Li H., Wang X., Jia L., Han J., Bei Z., Li L., Li J. Stability of SARS-CoV-2 on environmental surfaces and in human excreta. J. Hosp. Infect. 2021; 107:105-7. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.10.021.

12. Harbourt D., Haddow A., Piper A., Bloomfield H., Kearney B., Gibson K. Modeling the stability of severe acute respiratory syn-

12. Harbourt D., Haddow A., Piper A., Bloomfield H., Kearney B., Gibson K. Modeling the stability of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) on skin, currency, and clothing. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2020; 14(11):e0008831. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008831.

13. Ding S., Liang T.J. Is SARS-CoV-2 also an enteric pathogen with potential fecal-oral transmission? A COVID-19 virological and clinical review. *Gastroenterology*. 2020; 159(1):53–61. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.04.052

cal and clinical review. Gastroenterology. 2020; 159(1):53–61. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.04.052.
14. van Doremalen N., Bushmaker T., Munster V.J. Stability of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) under different environmental conditions. Euro Surveill. 2013; 18(38):20590. DOI: 10.2807/1560-7917.es2013.18.38.20590.
15. Warnes S.L., Little Z.R., Keevil C.W. Human coronavirus 2005 remains infactious on common touch surface materials. mBio.

229E remains infectious on common touch surface materials. mBio.

2015; 6(6):e01697-15. DOI: 10.1128/mBio.01697-15.

16. Shutler J., Zaraska K., Holding T., Machnik M., Uppuluri K., Ashton I., Migdał Ł., Dahiya R. Risk of SARS-CoV-2 infection from contaminated water systems. *medRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.06.17.20133504.
17. Золин В.В., Оськина О.П., Солодкий В.В., Еремина М.Н., Давыдов Г.Ф., Гостева Т.А. Оценка жизнеспособности коронавируса SARS-CoV-2 на различных типах тестноверхностей а также в питьевой и морской воде. *Проблемы* поверхностей, а также в питьевой и морской воде. *Проблемы* особо опасных инфекций. 2021; 2:108–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-108-113.

18. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика;

1976. 598 с. 19. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические мето-

19. Антистические методы в микробиологических исследованиях. Ленинград: Медгиз [Ленингр. отделение]; 1962. 180 с. 20. Kampf G., Todt D., Pfaender S., Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *J. Hosp. Infect.* 2020; 104(3):246–51. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.01.022.

References

1. SARS-CoV-2 B.1.1.529 (Omicron) Variant – United States, December 1–8, 2021. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2021; 70(50):1731–4. DOI: 10.15585/mmwr.mm7050e1.

2. Science Brief: Omicron (B.1.1.529) Variant. (Cited 20 Jan 2022). [Internet]. Available from: https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/science/science-briefs/scientific-brief-omicron-variant.html.

3. Enhancing readiness for Omicron (B.1.1.529): Technical brief and priority actions for Member States. World Health Organization. WHO; 2021. (Cited 20 Jan 2022). [Internet]. Available from: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/2021-12-23-global-technical-brief-and-priority-action-on-omicron.

12-23-global-technical-brief-and-priority-action-on-omicron. pdf?sfvrsn=d0e9fb6c 8.

4. He X., Hong W., Pan X., Lu G., Wei X. SARS-CoV-2 Omicron variant: Characteristics and prevention. *MedComm*. 2021; 2(4):838–45. DOI: 10.1002/mco2.110.

5. Hirose R., Itoh Y., Ikegaya H., Miyazaki H., Watanabe N., Yoshida T., Bandou R., Daidoji T., Nakaya T. Differences in environmental stability among SARS-CoV-2 variants of concern: Omicron has higher stability. *bioRxiv*. 2022. DOI: 10.1101/2022.01.18.476607.

6. Riddell S., Goldie S., Hill A., Eagles D., Drew T.W. The effect of temperature on persistence of SARS-CoV-2 on common surfaces. *Virol J.* 2020; 17(1):145. DOI: 10.1186/s12985-020-01418-7.

7. Casanova L.M., Jeon S., Rutala W.A., Weber D.J., Sobsey M.D. Effects of air temperature and relative humidity on coronavirus survival on surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76(9):2712–7. DOI: 10.1128/AEM.02291-09.

76(9):2712–7. DOI: 10.1128/AEM.02291-09.

8. Rabenau H.F., Cinatl J., Morgenstern B., Bauer G., Preiser W., Doerr H.W. Stability and inactivation of SARS coronavirus. *Med. Microbiol. Immunol.* 2005; 194(1-2):1–6. DOI: 10.1007/s00430-004-0219-0.

9. Chin A.W.H., Chu J.T.S., Perera M.R.A., Hui K.P.Y., Yen H.L., Chan M.C.W., Peiris M., Poon L.L.M. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *Lancet Microbe.* 2020; 1(1):e10. DOI: 10.1016/S2666-5247(20)30003-3.

10. Van Doremalen N., Bushmaker T., Morris D.H., Holbrook M.G., Gamble A., Williamson B.N., Tamin A., Harcourt J.L., Thornburg N.J., Gerber S.I., Lloyd-Smith J.O., de Wit E., Munster V.J. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382(16):1564–7. DOI: 10.1056/NEJMc2004973.

11. Liu Y., Li T., Deng Y., Liu S., Zhang D., Li H., Wang X., Jia L., Han J., Bei Z., Li L., Li J. Stability of SARS-CoV-2 on environmental surfaces and in human excreta. *J. Hosp. Infect.* 2021; 107:105–7. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.10.021.

107:105–7. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.10.021.

12. Harbourt D., Haddow A., Piper A., Bloomfield H., Kearney B., Gibson K. Modeling the stability of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) on skin, currency, and clothing. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2020; 14(11):e0008831. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008831.

13. Ding S., Liang T.J. Is SARS-CoV-2 also an enteric pathogen with potential fecal-oral transmission? A COVID-19 virological and clinical review. *Gastroenterology*. 2020; 159(1):53–61. DOI: 10.1052/j.cov.tm. 2020.04.052

gen Will potential recarl-oral transinssion? A CoV-1D-19 Villotogical and clinical review. Gastroenterology. 2020; 159(1):53–61. DOI: 10.1053/j.gastro.2020.04.052.

14. van Doremalen N., Bushmaker T., Munster V.J. Stability of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) under different environmental conditions. Euro Surveill. 2013; 18(38):20590. DOI: 10.2807/1560-7917.es2013.18.38.20590.

15. Warnes S.L., Little Z.R., Keevil C.W. Human coronavirus 229E remains infectious on common touch surface materials. mBio. 2015; 6(6):e01697-15. DOI: 10.1128/mBio.01697-15.

16. Shutler J., Zaraska K., Holding T., Machnik M., Uppuluri K., Ashton I., Migdał Ł., Dahiya R. Risk of SARS-CoV-2 infection from contaminated water systems. medRxiv. 2020. DOI: 10.1101/2020.06.17.20133504.

17. Zolin V.V., Os'kina O.P., Solodky V.V., Eremina M.N., Davydov G.F., Gosteva T.A. [Assessment of the viability of SARS-CoV-2 coronavirus on various types of test surfaces, as well as in drinking and sea water]. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2021; (2):108–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-108-113.

18. Zaks L. [Statistical Estimation]. Moscow: "Statistics"; 1976. 598 p.

1976. 598 p.

19/6. 598 p.
19. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. [Statistical Methods in Microbiological Research]. Leningrad: "Medgiz" [Leningrad division]; 1962. 180 p.
20. Kampf G., Todt D., Pfaender S., Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *J. Hosp. Infect.* 2020; 104(3):246–51. DOI: 10.1016/j.jhin.2020.01.022.

Zolin V.V., Os'kina O.P., Solodky V.V., Ovchinnikova A.S., Agafonov A.P., Maksyutov R.A. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Золин В.В., Оськина О.П., Солодкий В.В., Овчинникова А.С., Агафонов А.П., Максютов Р.А. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-94-100

УДК 616.98:579.852.11

С.А. Курчева, М.М. Курноскина, И.В. Жарникова, А.Г. Кошкидько, Д.В. Русанова, А.Г. Рязанова, Л.Ю. Аксенова, Д.А. Ковалев, А.М. Жиров, А.Н. Куличенко

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ПЕРОКСИДАЗНЫЙ КОНЪЮГАТ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ К ВОЗБУДИТЕЛЮ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ В ИММУНОФЕРМЕНТНОМ АНАЛИЗЕ

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

Сибирская язва представляет собой актуальную проблему для ветеринарии и здравоохранения многих стран, включая Российскую Федерацию, что обусловливает необходимость совершенствования и разработки новых, чувствительных и специфичных диагностических средств. Цель работы - создание экспериментального пероксидазного конъюгата для выявления специфических антител к возбудителю сибирской язвы и оптимизация условий проведения иммуноферментного анализа (ИФА). Материалы и методы. Для конструирования пероксидазного конъюгата использовали пероксидазу хрена и белок A Staphylococcus aureus (Sigma-Aldrich, США). В качестве сенсибилизирующих агентов применяли бактериальные антигены, выделенные из штаммов Bacillus anthracis 55 Δ TПA-1Spo, B. anthracis Sterne 34 F2. Разработанные экспериментальные серии конъюгата исследовали в ИФА на способность связывать антитела сывороток крови больных сибирской язвой и вакцинированных лиц. Чувствительность, специфичность и точность метода рассчитывали с помощью встроенных функций пакета ROCR. Результаты и обсуждение. Разработан пероксидазный конъюгат для выявления специфических антител к возбудителю сибирской язвы при исследовании клинического материала, оптимизированы условия постановки ИФА. Для интерпретации результатов исследования использовали пороговое значение коэффициента позитивности, меньше которого результат считали отрицательным, а при равном или большем значении положительным. В ходе испытания получены достоверные отличия в показателе «коэффициент позитивности» для групп «Здоровые»/«Больные» и «Здоровые»/«Вакцинированные», тогда как отличия между группами «Больные»/«Вакцинированные» были статистически незначимы. Максимальная точность метода наблюдалась при разведении сывороток крови 1:250 и 1:500. Установлена 100 % внутрипостановочная, межпостановочная и межсерийная воспроизводимость для всех положительных образцов. Чувствительность и специфичность экспериментальных пероксидазных конъюгатов составила соответственно 100 и 95.8 %, а точность – 97.6 %.

Ключевые слова: диагностика, сибирская язва, антитела, ИФА, пероксидазный конъюгат.

Корреспондирующий автор: Курчева Светлана Александровна, e-mail: kurcheva@yandex.ru.

Для цитирования: Курчева С.А., Курноскина М.М., Жарникова И.В., Кошкидько А.Г., Русанова Д.В., Рязанова А.Г., Аксенова Л.Ю., Ковалев Д.А., Жиров А.М., Куличенко А.Н. Экспериментальный пероксидазный коньюгат для выявления специфических антител к возбудителю сибирской язвы в иммуноферментном анализе. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:94—100. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-94-100

Поступила 22.11.2021. Отправлена на доработку 03.03.2022. Принята к публ. 12.05.2022.

S.A. Kurcheva, M.M. Kurnoskina, I.V. Zharnikova, A.G. Koshkid'ko, D.V. Rusanova, A.G. Ryazanova, L.Yu. Aksenova, D.A. Kovalev, A.M. Zhirov, A.N. Kulichenko

Experimental Peroxidase Conjugate for Detection of Specific Antibodies to Anthrax Agent in Enzyme Immunoassay

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Anthrax poses a pressing issue for veterinary medicine and public health in many countries, including the Russian Federation, which necessitates the improvement and development of new, sensitive and specific diagnostic tools. The aim of the work was to create an experimental peroxidase conjugate for the detection of specific antibodies to the anthrax pathogen and to optimize the conditions for performing enzyme immunoassay (ELISA). Materials and methods. The peroxidase conjugate was constructed using horseradish peroxidase and Staphylococcus aureus protein A (Sigma-Aldrich, USA). Bacterial antigens isolated from strains of *Bacillus anthracis* 55ΔTPA-1Spo, *B. anthracis* Sterne 34 F2 were used as sensitizing agents. The developed experimental batches of the conjugate were tested in ELISA for the ability to bind antibodies in the blood sera of anthrax patients and vaccinated individuals. The sensitivity, specificity, and accuracy of the method were calculated using the built-in functions of the ROCR software package. Results and discussion. The peroxidase conjugate to detect specific antibodies to the anthrax pathogen in the study of clinical material has been developed; conditions for the ELISA performance have been optimized. To interpret the results of the study, a threshold value of the positivity coefficient was used, below which the result was considered negative, and at an equal or higher value, positive. The test demonstrated significant differences in the "positivity coefficient" indicator for the "Healthy"/"Sick" and "Healthy"/"Vaccinated" groups, while the differences between the "Sick"/"Vaccinated" groups were statistically insignificant. The maximum accuracy of the method was observed at blood serum dilutions of 1:250 and 1:500. 100 % intra-run, run-to-run and series-to-series reproducibility has been established for all positive samples. The sensitivity and specificity of the experimental peroxidase conjugates were 100 and 95.8 %, respectively, and the accuracy was 97.6 %.

Key words: diagnostics, anthrax, antibodies, ELISA, peroxidase conjugate.

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

Corresponding author: Svetlana A. Kurcheva, e-mail: kurcheva@yandex.ru.

Citation: Kurcheva S.A., Kurnoskina M.M., Zharnikova I.V., Koshkid'ko A.G., Rusanova D.V., Ryazanova A.G., Aksenova L.Yu., Kovalev D.A., Zhirov A.M.,

Kulichenko A.N. Experimental Peroxidase Conjugate for Detection of Specific Antibodies to Anthrax Agent in Enzyme Immunoassay. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii

[Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:94–100. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-94-100

Received 22.11.2021. Revised 03.03.2022. Accepted 12.05.2022.

Kurcheva S.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3564-0791 Kurnoskina M.M., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8265-5128 Zharnikova I.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8443-4089 Koshkid'ko A.G., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6617-9504 Rusanova D.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2229-6570

Ryazanova A.G., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5196-784X Aksenova L.Yu., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7744-3112 Kovalev D.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9366-5647 Zhirov A.M., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7698-7361 Kulichenko A.N., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9362-3949

Сибирская язва – особо опасная зоонозная инфекционная болезнь, вызываемая грамположительным спорообразующим микроорганизмом – Bacillus anthracis. Сибирская язва потенциально заразна для большинства млекопитающих, однако в первую очередь поражает жвачных животных, поскольку они наиболее часто подвергаются воздействию патогена в окружающей среде [1]. Современный ареал сибирской язвы сельскохозяйственных и диких животных охватывает все континенты. Особенностью сибиреязвенного микроба является способность образовывать споры и сохранять жизнеспособность в почве многие десятилетия. Попадание спор B. anthracis в организм млекопитающих может привести к системной инфекции и летальному исходу. Споры считаются преобладающей формой B. anthracis вне хозяина, но при заражении споры прорастают, образуя вирулентные вегетативные формы, которые могут размножаться в больших количествах практически во всех тканях организма. Гибель хозяина и контакт инфицированных тканей с воздухом приводят к возвращению бактерии в споровую форму [2]. Значительное количество почвенных очагов на фоне неполного учета и охвата вакцинацией поголовья сельскохозяйственных животных обусловливает потенциальную угрозу осложнения эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по сибирской язве [3]. Люди обычно заражаются сибирской язвой при контакте с инфицированными животными и зараженными продуктами животного происхождения или при непосредственном контакте со спорами *B. anthracis* [4, 5]. Подтверждением этого стала крупнейшая эпизоотия сибирской язвы среди северных оленей в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г., повлекшая за собой эпидемические осложнения [6]. Современный уровень развития биотехнологии и генетики, чрезвычайно высокая поражающая способность и устойчивость к факторам внешней среды делают возбудитель сибирской язвы одним из наиболее привлекательных для террористов при использовании его в качестве биологического диверсионного агента. Поэтому изучение этой инфекции и ее возбудителя, а также проведение исследований в области совершенствования лабораторных методов диагностики и идентификации возбудителя сибирской язвы представляют собой одну из наиболее актуальных задач борьбы с сибиреязвенной инфекцией. Диагностика сибирской язвы у человека и животных основывается на эпизоотологических, эпидемиологических, клинических, лабораторных и патологоанатомических данных.

Лабораторные исследования направлены на обнаружение и идентификацию возбудителя сибирской язвы, выявление специфических антител и аллергической перестройки в организме больных людей. В соответствии с действующими методическими указаниями МУ 4.2.2413-08 «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы», в тех случаях, когда не удается выделить культуру возбудителя для постановки диагноза этой инфекции у человека при наличии соответствующей клинической картины и эпидемиологического анамнеза, необходимо проведение генетических (ПЦР) и иммунологических (ИФА, МФА) методов исследования. Однако ввиду отсутствия зарегистрированных отечественных диагностических тест-систем для МФА и ИФА эти методы не включены в перечень тех, которыми можно лабораторно подтвердить диагноз сибирской язвы у человека. На сегодняшний день производится только один препарат, предназначенный для обнаружения специфических антител к возбудителю сибирской язвы и допущенный к обращению на территории Российской Федерации - набор реагентов «Диагностикум эритроцитарный сибиреязвенный антигенный сухой» (ФСР 2012/13064) производства ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора. Все это делает актуальным разработку и производство набора для выявления специфических антител к возбудителю сибирской язвы в сыворотке крови людей непрямым методом иммуноферментного анализа (ИФА) [7-9].

Иммуноферментный анализ чувствителен и позволяет проводить скрининг от сотен до тысяч образцов за короткий период времени, поэтому его использование является наиболее эффективным методом для выявления антител к B. anthracis в сыворотке, плазме или других биологических жидкостях. Токсин сибирской язвы состоит из трех белков, а именно: «защитного» протективного антигена (ПА), фактора отека и летального фактора. Поскольку ПА обладает иммуногенным действием, то есть способностью вызывать иммунный ответ организма [10, 11], для оценки вакцинации против сибирской язвы и ее диагностики [12] в ИФА используется полноразмерный ПА. В нескольких исследованиях оценивалась разработка и использование ИФА для обнаружения антител против ПА в популяциях домашнего скота [13, 14]. Однако при получении определенных успехов он все еще имеет ряд таких недостатков, как возможность возникновения ложноположительных

реакций, недостаточная надежность и отсутствие стандартизации анализа.

Клинический диагноз кожной формы сибирской язвы традиционно устанавливается микробиологическими методами, такими как выявление грамположительных капсулированных бацилл в мазке из пораженного участка или выделение B. anthracis в культуре. Однако окрашивание по Граму и посев на выявление B. anthracis могут быть неинформативными для пациентов, получавших антибиотикотерапию до сбора образцов. Иммунный ответ на ПА обнаруживается через 11 дней после появления симптомов и сохраняется более 8–16 месяцев. Таким образом, для эпиднадзора или во время вспышек, когда диагностические методы, чувствительные ко времени или лечению (например, посев, ПЦР и биопсия), могут быть неприменимы, серологическое тестирование может быть единственным подтверждающим диагностическим инструментом, который можно использовать [15].

Целью настоящей работы стало создание экспериментального пероксидазного конъюгата для выявления специфических антител к возбудителю сибирской язвы и оптимизация условий проведения иммуноферментного анализа.

Материалы и методы

При работе по конструированию пероксидазного конъюгата (конъюгацию проводили по модифицированному методу М.В. Wilson, Р.К. Nakane [16]) и оптимизации постановки ИФА использовали:

- пероксидазу хрена (ПХ) индикаторный фермент (тип VI-A, Rz: ~3.0 с активностью 1550 units/mg; Sigma-Aldrich, США);
- белок A *Staphylococcus aureus* (Sigma-Aldrich, США). Белок А белок с молекулярной массой 42 кДа, выделенный с поверхности клеточной стенки золотистого стафилококка. Белок А связывается с Fc-участком IgG млекопитающих.

В качестве сенсибилизирующего агента апробированы:

- протективный антиген сибиреязвенного микроба, выделенный из культурального фильтрата рекомбинантного штамма *В. anthracis* 55∆ТПА-1Ѕро по методике, описанной Н.И. Микшис с соавт. [17] (представлен для исследований РосНИПЧИ «Микроб»). Качественный и количественный анализ, а также дополнительную очистку препаратов протективного антигена проводили в лаборатории биохимии Ставропольского противочумного института;
- водорастворимый сибиреязвенный антиген (ВА), извлеченный из бактериальной массы B. anthracis Sterne 34 F_2 (вегетативная форма), обеззараженной кипячением. Технология получения включала в себя водно-солевую экстракцию и ультразвуковую дезинтеграцию с последующим осаждением белковых фракций сульфатом аммония [18];
- комплекс вышеназванных антигенов в различном процентном соотношении компонентов.

Антигены хранили в лиофилизированном состоянии небольшими аликвотами (100 мкл; 3,0 мг/мл) в 0,9 % растворе натрия хлорида.

Результаты ИФА регистрировали с помощью фотометра Multiskan FC (Thermo scientific, Финляндия), измеряя оптическую плотность (ОП) при длине волны 450 нм. По результатам ОП рассчитывали значение критической оптической плотности (ОП $_{\kappa pum}$) по формуле (1):

$$O\Pi_{\kappa pum.} = O\Pi_{cp} K^- + 0,1, \qquad (1)$$

где $O\Pi_{cp}$ K $^-$ – среднее значение $O\Pi$ для отрицательного контрольного образца.

Для интерпретации результатов исследования применяли коэффициент позитивности (КП), рассчитанный по формуле (2):

$$K\Pi = O\Pi_{uccn. cbis.} / O\Pi_{\kappa pum.}$$
 (2)

Для определения диагностической эффективности сконструированных экспериментальных серий конъюгата использовали сыворотки крови:

- здоровых взрослых людей, не болевших ранее сибирской язвой и не вакцинированных против нее, 12 образцов. Сыворотки получены из ГБУЗ СК «Ставропольская краевая станция переливания крови»;
- больных кожной формой сибирской язвы 5 образцов. Сыворотки получены из Референс-центра по мониторингу за возбудителем сибирской язвы;
- вакцинированных против сибирской язвы (взятие материала на 14-е сутки после вакцинации) 4 образца. Сыворотки получены из Референс-центра по мониторингу за возбудителем сибирской язвы.

Все сыворотки были протестированы в двух экземплярах без тепловой инактивации с добавлением мертиолата натрия до концентрации 1:10000.

В качестве отрицательного контроля использовали сыворотку здорового человека, которую обрабатывали аналогичным образом.

В качестве твердой фазы применяли 96-луночные полистироловые планшеты с плоским дном фирмы Costar (США).

Обработку и статистический анализ данных проводили с использованием языка R (версия 4.0.2) [19], а также пакетов tidyverse [20], ROCR [21] и ggpubr [22]. Анализ групповых отличий проводили с использованием одностороннего дисперсионного анализа Краскела — Уоллиса. Отличия считали значимыми при р<0,05. Чувствительность, специфичность и точность метода, а также площадь под ROC-кривой рассчитывали с помощью встроенных функций пакета ROCR.

Основные параметры ИФА, а именно чувствительность, точность и воспроизводимость, могут существенно изменяться при варьировании условий проведения эксперимента (температура, ионная сила и рН реакционной среды, концентрационные соотношения компонентов и продолжительность

их взаимодействия). Это определяет необходимость оптимизации каждой стадии анализа, для чего использовали эмпирический подбор параметров постановки теста.

Результаты и обсуждение

При создании диагностического теста важным моментом является определение его антигенной композиции и условий адсорбции на твердой фазе, т.е. установление оптимальной концентрации антигена (Аг), состава сенсибилизирующего буфера, условий отмывания несвязавшихся компонентов, времени и температуры связывания Аг с поверхностью полистироловых планшетов. Оптимальную сенсибилизирующую дозу бактериального агента определяли в серии опытов с использованием сывороток крови больных сибирской язвой, вакцинированных, а также здоровых людей и пероксидазного конъюгата с белком А. В экспериментах испытывали различные виды Аг в концентрациях 10, 50, 100, 200, 300 мкг/мл и их смеси в разных пропорциях. Процесс адсорбции Аг оценивали по интенсивности реакции с контрольными сыворотками крови людей. Наиболее оптимальный уровень насыщения поверхности лунок планшета достигался при их сенсибилизации комплексом антигенов с содержанием в 1 мл 0,1 М раствора фосфатно-солевого буфера (ФСБ), рН 7,2: $\Pi A - 30$ мкг и BA - 100 мкг.

Для определения оптимальных условий инкубации при сенсибилизации комплексом (ВА+ПА) оценивали интенсивность реакции при выдерживании (3, 2, 1 ч) в термошейкере (37±1) °С (250 об/мин), а также 18 ч при температуре 4 °С. Анализ результатов проведенных исследований позволил установить, что оптимальным для сенсибилизации лунок планшета (ВА+ПА) является режим 37 °С, 3 ч в условиях термошейкера, в то время как при остальных значениях выдержки адсорбционная способность анти-

генного комплекса, а также специфичность реакции несколько ниже. Инкубация при температуре 4 °C возможна при определенных условиях расчета времени постановки реакции без потери чувствительности и специфичности.

В ходе работ установлена необходимость блокирования свободных центров связывания для исключения «фоновых помех». При разведении клинических образцов сывороток крови людей и иммунопероксидазного конъюгата целесообразно использовать ФСБ с 0,5 % БСА и Tween 20 до 0,05 %.

Далее была оптимизирована стадия взаимодействия опытных сывороток крови с иммобилизованными на поверхности полистирола специфическими антигенами. Исследования проводили в интервале от 30 до 90 мин при температуре 37 °С и иммунопероксидазным конъюгатом (от 15 до 60 мин с шагом 15). Оптимальное время инкубации сывороток составило 60 мин, а инкубация планшета с иммунопероксидазным конъюгатом — 15 мин в условиях термошейкера (700 об/мин). В более короткий срок не происходит эффективного взаимодействия компонентов реакции, а увеличение продолжительности инкубации не только удлиняет время постановки реакции, но и способствует появлению фонового окрашивания.

При определении рабочего разведения пероксидазного конъюгата максимальные значения зафиксированы при его взаимодействии с испытуемыми сыворотками – 15 мин при температуре 37 °C с перемешиванием в термошейкере 700 об/мин с разведением конъюгата 1:2000.

При интерпретации результатов исследования использовали пороговое значение коэффициента позитивности, меньше которого результат считали отрицательным, а при равном или большем значении — положительным. В ходе оптимизации данного параметра отмечено, что с увеличением порогового значения КП уменьшается чувствительность и увеличивается специфичность метода (рис. 1).

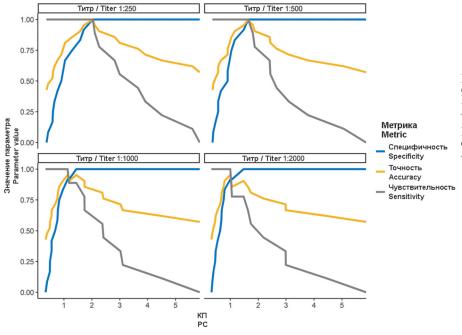


Рис. 1. Кривые чувствительности, специфичности и точности при постановке ИФА:

КП – коэффициент позитивности

Fig. 1. Sensitivity, specificity and accuracy curves in ELISA: *PC* – positivity coefficient

| Титр Dilution titer | Пороговое значение КП Threshold value of PC | Чувствительность, % Sensitivity, % | Специфичность, % Specificity, % | Точность, % Ассигасу, % |
|------------------------|---|---------------------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| 1:250 | 2,035 | 100 | 100 | 100 |
| 1:500 | 1,640 | 100 | 100 | 100 |
| 1:1000 | 1,132 | 100 | 91,67 | 91,67 |
| 1:2000 | 1.001 | 100 | 91.67 | 91.67 |

Метрики пероксидазного конъюгата в ИФА

Metrics of peroxidase conjugate in ELISA

В качестве порогового значения КП использовали значение из точки пересечения кривых чувствительности и специфичности, где вероятности совершения ошибки I и II рода равны, а точность метода максимальна (таблица). Итоговые чувствительность и специфичность экспериментальных серий изготовленного пероксидазного конъюгата при постановке ИФА составили соответственно 100 и 95,8%, а точность -97,6%.

Одной из важнейших метрик качества бинарного классификатора является ROC-кривая, показывающая зависимость доли истинноположительных результатов от доли ложноположительных результатов при варьировании порога решающего правила. Количественную интерпретацию ROC-кривой дает показатель AUC — площадь, ограниченная ROC-кривой и осью доли ложных положительных результатов. Для данного исследования пероксидазного конъюгата в ИФА AUC=0,9815, что соответствует высокому качеству модели с большой прогностической силой (рис. 2).

При испытании экспериментальных серий конъюгата использовали различные разведения (от 1:250 до 1:2000) сывороток крови больных и вакцинированных против сибирской язвы, которые вносили в лунки планшета, сенсибилизированные комплексным антигеном (ВА+ПА). Постановка реакции осуществлялась согласно отработанным параметрам. Результаты исследования представлены на рис. 3.

В ходе лабораторных испытаний установлено, что для всех титров получены достоверные отличия в показателе КП для групп «Здоровые»/«Больные» и «Здоровые»/«Вакцинированные», тогда как отличия между группами «Больные»/«Вакцинированные» статистически незначимы. При разведениях сыворотки 1:250 и 1:500 для всех проб получен правильный результат, тогда как при больших разведениях обнаружено по одному ложноположительному результату.

В результате проведенных исследований изготовлен пероксидазный конъюгат с белком А *S. aureus* для использования в иммуноферментном анализе при выявлении специфических антител к возбудителю сибирской язвы в лабораторных условиях. Установлены оптимальные параметры и условия постановки ИФА с разработанным конъюгатом:

- сенсибилизация планшета раствором антигенного комплекса (ВА, $10 \text{ мкг} + \Pi \text{A}$, 3 мкг в лунку) в 0,1 М ФСБ, рН 7,2; время сенсибилизации лунок 3 ч в условиях термошейкера (250 об/мин; 37 °C);
- буферный раствор для разведения образцов сывороток крови и пероксидазного конъюгата ФСБ, рН 7,2, содержащий 0,05 % Tween 20 и 0,5 % БСА;
- взаимодействие сывороток с иммобилизованным антигенным комплексом 60 мин в условиях термошейкера (700 об/мин; 37 °С), после инкубации пятикратное промывание лунок планшета раствором фосфатно-солевого буфера с Tween 20 (ФСБ-Т, pH 7,3);

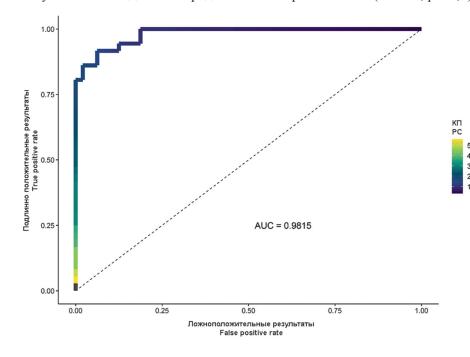


Рис. 2. ROC-кривая для исследования пероксидазного конъюгата в ИФА

Fig. 2. ROC-curve for the study of peroxidase conjugate in ELISA

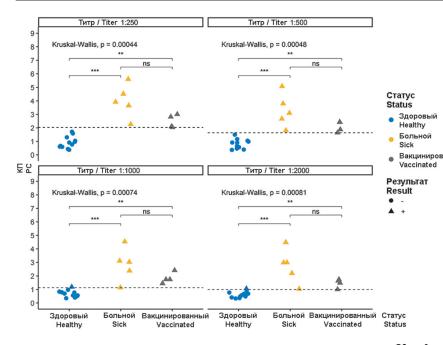


Рис. 3. Результаты ИФА. Уровни статистической значимости:

 $ns - p \ge 0.05$; ** - p < 0.01; *** - p < 0.001; nунктирной линией указано пороговое значение КП

Fig. 3. ELISA results. Statistical significance levels:

 $ns-p \ge 0.05$; ** - p<0.01; *** - p<0.001; the dotted line indicates the threshold value of the PC

- время экспозиции с конъюгатом 15 мин в условиях термошейкера (700 об/мин; 37 °C), после инкубации пятикратное промывание лунок планшета ФСБ-Т;
- после промывания проведение детекции ферментативной активности образовавшихся на твердой фазе специфических иммунных комплексов: в лунки помещают по 100 мкл раствора 3,3',5,5'-тетраметилбензидина в субстратном буфере, содержащем перекись водорода, выдерживают планшет в течение 10 мин в защищенном от света месте. Реакцию останавливают добавлением в лунки по 100 мкл 4Н раствора серной кислоты;
- результаты анализа регистрируют измерением ОП в лунках планшета на спектрофотометре при двухволновом режиме: при основной длине волны — 450 нм и длине волны сравнения – 620 нм.

Чувствительность, специфичность и точность экспериментальных серий изготовленного пероксидазного конъюгата при постановке ИФА составили соответственно 100; 95,8 и 97,6 %.

Разработанный пероксидазный конъюгат с протеином A S. aureus достаточно прост в исполнении и может применяться для определения наличия антител в сыворотках крови больных сибирской язвой и вакцинированных лиц методом иммуноферментного анализа. Обладает высокой чувствительностью и стабильностью.

Положительные результаты исследуемых сывороток крови больных сибирской язвой и вакцинированных лиц подтверждены при использовании дополнительных методов исследования Референс-центром по мониторингу за возбудителем сибирской язвы с использованием экспериментальных тест-систем производства Ставропольского противочумного института (непрямой метод флуоресцирующих антител [7] и in vitro аллергодиагностика с сибиреязвенным аллергеном методом проточной цитометрии [23]).

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

Список литературы

1. Pilo P., Frey J. Pathogenicity, population genetics and dissemination of *Bacillus anthracis*. *Infect. Genet. Evol.* 2018; 64:115–25. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.06.024.

anthracis physiology 2009; 30(6):386–96. Koehler T.M. Bacillus Med. genetics. *Mol. Aspects* 10.1016/j.mam.2009.07.004.

10.1016/j.mam.2009.07.004.
3. Chateau A., Van der Verren S.E., Remaut H., Fioravanti A. The *Bacillus anthracis* cell envelope: composition, physiological role, and clinical relevance. *Microorganisms*. 2020; 8(12):1864. DOI: 10.3390/ microorganisms8121864.
4. Pilo P., Frey J. *Bacillus anthracis*: molecular taxonomy, population genetics, phylogeny and patho-evolution. *Infect. Genet. Evol.* 2011; 11(6):1218–24. DOI: 10.1016/j.meegid.2011.05.013.

5. Doganay M., Demiraslan H. Human anthrax as a re-emerging disease. *Recent Pat. Anti-Infect. Drug Discov.* 2015; 10(1):10–29. DOI: 10.2174/1574891x10666150408162354.

БОІ: 10.21/4/15/4891X10066150408162354.

6. Попова А.Ю., Куличенко А.Н., редакторы. Опыт ликвидации вспышки сибирской язвы на Ямале в 2016 году. Ижевск: Принт-2; 2017. 313 с.

7. Аксенова Л.Ю., Рязанова А.Г., Жданова Е.В., Цыганкова О.И., Буравцева Н.П., Еременко Е.И., Тюменцева И.С., Коготкова О.И., Зуенко А.А., Куличенко А.Н. Разработка и апробация тест осистемы для обнаружения антител к возбудителю сибирской язвы непрямым методом флуоресцирующих антител. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2013; 4:76–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-76-78.

8. Grundmann O. The current state of bioterrorist attack surveillance and preparedness in the US. *Risk Manag. Healthc. Policy.* 2014; 7:177–87. DOI: 10.2147/RMHP.S56047.
9. Сысуев Е.Б., Поздняков А.М., Стрыгин А.В.,

verifince and preparedness in the Os. Risk Manag. Healinc. Policy. 2014; 7:177–87. DOI: 10.2147/RMHP.S56047.

9. Сысуев Е.Б., Поздняков А.М., Стрыгин А.В., Ираклионова Н.С. Основные принципы диагностики бактериальных поражений. Сибирская язва. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2013; 7:95–6.

10. Marcus H., Danieli R., Epstein E., Velan B., Shafferman A., Reuveny S. Contribution of immunological memory to protective immunity conferred by a Bacillus anthracis protective antigenbased vaccine. Infect. Immun. 2004; 72(6):3471–7. DOI: 10.1128/IAI.72.6.3471-3477.2004.

11. Reuveny S., White M.D., Adar Y.Y., Kafri Y., Altboum Z., Gozes Y., Kobiler D., Shafferman A., Velan B. Search for correlates of protective immunity conferred by anthrax vaccine. Infect. Immun. 2001; 69(5):2888–93. DOI: 10.1128/IAI.69.5.2888-2893.2001.

12. Quinn C.P., Semenova V.A., Elie C.M., Romero-Steiner S., Greene C., Li H., Stamey K., Steward-Clark E., Schmidt D.S., Mothershed E., Pruckler J., Schwartz S., Benson R.F., Helsel L.O., Holder P.F., Johnson S.E., Kellum M., Messmer T., Thacker W.L., Besser L., Plikaytis B.D., Taylor T.H. Jr, Freeman A.E., Wallace K.J., Dull P., Sejvar J., Bruce E., Moreno R., Schuchat A., Lingappa J.R., Martin S.K., Walls J., Bronsdon M., Carlone G.M., Bajani-Ari M., Ashford D.A., Stephens D.S., Perkins B.A. Specific, sensitive, and

quantitative enzyme-linked immunosorbent assay for human immu-

quantitative enzyme-inixed immunosorbent assay for numan immunoglobulin G antibodies to anthrax toxin protective antigen. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8(10):1103–10. DOI: 10.3201/eid0810.020380.

13. Kingston J.J., Majumder S., Uppalapati S.R., Makam S.S., Urs R.M., Murali H.S., Batra H.V. Anthrax outbreak among cattle and its detection by extractable antigen 1 (EA1) based sandwich ELISA and immuno PCR. *Indian J. Microbiol.* 2015; 55:29–34. DOI: 10.1007/s12088-014-0494-4.

14. Hassan J., Rahman M.B., Chowdhury S.M.Z.H., Rabidas S.K., Parvej M.S., Nazir K.N.H.N.H. ELISA based anthrax antibody titer in cattle induced by locally prepared anthrax vaccine originated from Sterne F-24 strain in Bangladesh. *Microbes Health*. 2015; 4(1):36–8. DOI: 10.3329/mh.v4i1.23104.

15. Ghosh N., Goel A.K. Anti-protective antigen IgG enzymentials.

linked immunosorbent assay for diagnosis of cutaneous anthrax in India. *Clin. Vaccine Immunol.* 2012; 19(8):1238–42. DOI: 10.1128/CVI.00154-12.

CVI.00154-12.

16. Wilson M.B., Nakane P.K. Recent developments in the pe-riodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp W., Holubar K., Wick G., editors. Immunofluorescence and Related Staining Techniques. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press; 1978. P. 215–24.

17. Микшис Н.И., Попова П.Ю., Семакова А.П., Кудрявцева О.М., Бугоркова С.А., Кравцов А.Л. Изучение влияния антигенов полученных из рекомбинантного штамма Bacillus anthracis.

нов, полученных из рекомбинантного штамма *Bacillus anthracis* 55 ΔТПА-18ро-, на органы и ткани иммунизированных животных. *Биотехнология*. 2017; 33(5):45–60. DOI: 10.21519/0234-2758-2017-33-5-45-60.

18. Горобец Е.А., Афанасьев Е.Н., Тюменцева И.С., Василенко Н.Ф. Совершенствование способа получения иммунных кроличьих сибиреязвенных капсульно-соматических сыво-

роток. Медицинский вестных кансульно-сомагических сывороток. Медицинский вестных Северного Кавказа. 2008; 1:42–4.
19. R. Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [Электронный ресурс]. URL:

Computing, Vienna, Austria. [Электронный ресурс]. СКС. https://www.R-project.org. 20. Wickham H., Averick M., Bryan J., Chang W., D'Agostino P. Grolemund G., Hayes A., Henry L.,

20. Wickham H., Averick M., Bryan J., Chang W., D'Agostino McGowan L., François R., Grolemund G., Hayes A., Henry L., Hester J., Kuhn M., Pedersen T.L., Miller E., Bache S.M., Müller K., Ooms J., Robinson D., Seidel D.P., Spinu V., Takahashi K., Vaughan D., Wilke C., Woo K., Yutani H. Welcome to the tidyverse. J. Open Source Softw. 2019; 4(43):1686. DOI: 10.21105/joss.01686.

21. Sing T., Sander O., Beerenwinkel N., Lengauer T. ROCR: visualizing classifier performance in R. Bioinformatics. 2005; 21(20):3940–1. DOI: 10.1093/bioinformatics/bti623.

22. Alboukadel Kassambara (2020). ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots. [R package version 0.4.0]. [Электронный ресурс]. URL: https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr.

23. Пономаренко Д.Г., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Логвиненко О.В., Рязанова А.Г., Аксенова Л.Ю., Буравцева Н.П., Тюменцева И.С., Курчева С.А., Куличенко А.Н. Применение САЅТ-теста для оценки у людей специфической реактивности к возбудителю сибирской язвы. Медицинская иммунология. 2020; 22(5):1017–24. DOI: 10.15789/1563-0625-UCT-2058.

References

1. Pilo P., Frey J. Pathogenicity, population genetics and dissemination of *Bacillus anthracis*. *Infect. Genet. Evol.* 2018; 64:115–25. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.06.024.

2. Koehler T.M. *Bacillus anthracis* physiology and genetics. *Mol. Aspects Med.* 2009; 30(6):386–96. DOI: 10.1016/j.mam.2009.07.004.

3. Chateau A., Van der Verren S.E., Remaut H., Fioravanti A. The *Bacillus anthracis* cell envelope: composition, physiological role, and clinical relevance. *Microorganisms*. 2020; 8(12):1864. DOI: 10.3390/ microorganisms8121864.
4. Pilo P., Frey J. *Bacillus anthracis*: molecular taxonomy, population genetics, phylogeny and patho-evolution. *Infect. Genet. Evol.* 2011; 11(6):1218–24. DOI: 10.1016/j.meegid.2011.05.013.
5. Doganay M., Demiraslan H. Human anthrax as a re-emerging disease. *Recent Pat. Anti-Infect. Drug Discov.* 2015; 10(1):10–29. DOI: 10.2174/1574891x10666150408162354.
6. Popova A.Yu., Kulichenko A.N., editors. [Experience in Eradication of Anthrax Outbreak in Yamal in 2016]. Izhevsk: "Print-2"; 2017. 313 p.
7. Aksenova L.Yu., Ryazanova A.G., Zhdanova E.V., Tsygankova O.I., Buravtseva N.P., Eremenko E.I., Tyumentseva I.S., 3. Chateau A., Van der Verren S.E., Remaut H., Fioravanti A.

7. Aksenova L.Yu., Ryazanova A.G., Zhdanova E.V., Tsygankova O.I., Buravtseva N.P., Eremenko E.I., Tyumentseva I.S., Kogotkova O.I., Zuenko A.A., Kulichenko A.N. [Construction and approval of the test-system for the detection of antibodies to anthrase approval of the test-system for the detection of antibodies to anthrax agent using indirect fluorescent immunoassay]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (4):76–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-76-78.

8. Grundmann O. The current state of bioterrorist attack surveillance and preparedness in the US. *Risk Manag. Healthc. Policy*. 2014; 7:177–87. DOI: 10.2147/RMHP.S56047.

9. Sysuev E.B., Pozdnyakov A.M., Strygin A.V., Iraklionova N.S. [Basic principles of diagnosis of bacterial lesions.

Anthrax.] Mezhdunarodny Zhurnal Prikladnykh i Fundamental'nykh

Anthrax.] Mezhdunarodny Zhurnal Prikladnykh i Fundamental'nykh Issledovaniy [International Journal of Applied and Basic Research].

2013; (7):95–6.

10. Marcus H., Danieli R., Epstein E., Velan B., Shafferman A., Reuveny S. Contribution of immunological memory to protective immunity conferred by a Bacillus anthracis protective antigenbased vaccine. Infect. Immun. 2004; 72(6):3471–7. DOI: 10.1128/IAI.72.6.3471-3477.2004.

11. Reuveny S., White M.D., Adar Y.Y., Kafri Y., Altboum Z., Gozes Y., Kobiler D., Shafferman A., Velan B. Search for correlates of protective immunity conferred by anthrax vaccine. Infect. Immun. 2001; 69(5):2888–93. DOI: 10.1128/IAI.69.5.2888-2893.2001.

12. Quinn C.P., Semenova V.A., Elie C.M., Romero-Steiner S., Greene C., Li H., Stamey K., Steward-Clark E., Schmidt D.S., Mothershed E., Pruckler J., Schwartz S., Benson R.F., Helsel L.O., Holder P.F., Johnson S.E., Kellum M., Messmer T., Thacker W.L., Besser L., Plikaytis B.D., Taylor T.H. Jr, Freeman A.E., Wallace K.J., Dull P., Sejvar J., Bruce E., Moreno R., Schuchat A., Lingappa J.R., Martin S.K., Walls J., Bronsdon M., Carlone G.M., Bajani-Ari M., Ashford D.A., Stephens D.S., Perkins B.A. Specific, sensitive, and quantitative enzyme-linked immunosorbent assay for human immunoglobulin G antibodies to anthrax toxin protective antigen. Emerg.

quantitative enzyme-infred immunosorbent assay for numan immunoglobulin G antibodies to anthrax toxin protective antigen. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8(10):1103–10. DOI: 10.3201/eid0810.020380.

13. Kingston J.J., Majumder S., Uppalapati S.R., Makam S.S., Urs R.M., Murali H.S., Batra H.V. Anthrax outbreak among cattle and its detection by extractable antigen 1 (EA1) based sandwich ELISA and immuno PCR. *Indian J. Microbiol.* 2015; 55:29–34. DOI: 10.1007/s12088-014-0494-4.

14. Hassan J., Rahman M.B., Chowdhury S.M.Z.H., Rabidas S.K., Parvej M.S., Nazir K.N.H.N.H. ELISA based anthrax antibody titer in cattle induced by locally prepared anthrax vaccine originated from Sterne F-24 strain in Bangladesh. *Microbes Health*. 2015; 4(1):36–8. DOI: 10.3329/mh.v4i1.23104.

15. Ghosh N., Goel A.K. Anti-protective antigen IgG enzymelinked immunosorbent assay for diagnosis of cutaneous anthrax in India. *Clin. Vaccine Immunol.* 2012; 19(8):1238–42. DOI: 10.1128/CVI.00154-12.

CVI.00154-12.

16. Wilson M.B., Nakane P.K. Recent developments in the per-riodate method of conjugating horseradish peroxidase (HRPO) to antibodies. In: Knapp W., Holubar K., Wick G., editors. Immunofluorescence and Related Staining Techniques. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press; 1978. P. 215–24.

17. Mikshis N.I., Popova P.Yu., Semakova A.P., Kudryavtseva O.M., Bugorkova S.A., Kravtsov A.L. [Study of the effect of antigens obtained from the recombinant Bacillus anthracis 55\(\Delta\text{TPA-ISpo-strain}\) on the organs and tissues of immunized animals]. Biotekhnologiya [Biotechnology]. 2017; 33(5):45–60. DOI: 10.21519/0234-2758-2017-33-5-45-60.

18. Gorobets E.A., Afanas'ev E.N., Tyumentseva I.S., Vasilenko N.F. [Improvement of the method for obtaining immune rabbit anthrax capsular-somatic sera]. Meditsinsky Vestnik Severnogo Kavkaza [Medical Bulletin of the North Caucasus]. 2008; (1):42–4.

19. R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. [Internet]. Available from: https://www.R-project.

Vienna, Austria. [Internet]. Available from: https://www.R-project.

20. Wickham H., Averick M., Bryan J., Chang W., D'Agostino 20. Wickhain H., Averick M., Bryan J., Chang W., D' Agostnio McGowan L., François R., Grolemund G., Hayes A., Henry L., Hester J., Kuhn M., Pedersen T.L., Miller E., Bache S.M., Müller K., Ooms J., Robinson D., Seidel D.P., Spinu V., Takahashi K., Vaughan D., Wilke C., Woo K., Yutani H. Welcome to the tidyverse. *J. Open Source Softw*. 2019; 4(43):1686. DOI: 10.21105/joss.01686.
21. Sing T., Sander O., Beerenwinkel N., Lengauer T. ROCR: visualizing elessifier performance in R. Riginformatics. 2005:

21. Sing T., Sander O., Beerenwinkel N., Lengauer T. ROCR: visualizing classifier performance in R. *Bioinformatics*. 2005; 21(20):3940-1. DOI: 10.1093/bioinformatics/bti623. 22. Alboukadel Kassambara (2020). ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots. [R package version 0.4.0]. [Internet]. Available from: https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr. 23. Ponomarenko D.G., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Logvinenko O.V., Ryazanova A.G., Aksenova L.Yu., Buravtseva N.P., Tyumentseva I.S., Kurcheva S.A., Kulichenko A.N. [The use of the CAST test to assess human specific reactivity to anthrax agent]. *Meditsinskaya Immunologiya [Medical Immunology]*. 2020; 22(5):1017-24. DOI: 10.15789/1563-0625-UCT-2058.

Authors:

Kurcheva S.A., Kurnoskina M.M., Zharnikova I.V., Koshkid'ko A.G., Rusanova D.V., Ryazanova A.G., Aksenova L.Yu., Kovalev D.A., Zhirov A.M., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Курчева С.А., Курноскина М.М., Жарникова И.В., Кошкидько А.Г., Русанова Д.В., Рязанова А.Г., Аксенова Л.Ю., Ковалев Д.А., Жиров А.М., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-101-106

УДК 616.993(665.7)

Е.В. Найденова¹, М.Ю. Карташов², А.П. Шевцова¹, А.В. Шиповалов², А.С. Кабанов², Н.Д. Болдырев², Е.И. Кривошеина², M.G. Diallo³, A.A. Nassour⁴, M.B. Bah⁴, I. Nourdine⁴, M. Keyra⁵, L. Kaba⁵, S. Camara⁵, M.T. Diallo⁵, S. Boumbaly⁴, Y. Sidime⁵, B.B. Кутырев¹

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ИММУННОЙ ПРОСЛОЙКИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ЗООНОЗНЫХ ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ В ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

¹ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация; ³Региональный университет, Киндиа, Гвинейская Республика; ⁴Исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи, Киндиа, Гвинейская Республика; ⁵Институт медицинской ветеринарии, Далаба, Гвинейская Республика

На Африканском континенте самыми распространенными зооантропонозами являются коксиеллез и лихорадка Рифт-Валли. Известно, что один из показателей циркуляции возбудителей на определенной территории – это выявление специфических антител класса IgG в сыворотках крови сельскохозяйственных животных. Цель работы – выявление методом иммуноферментного анализа (ИФА) специфических антител класса IgG в собранных на территории Гвинейской Республики сыворотках крови сельскохозяйственных животных к возбудителям зоонозных инфекционных болезней: коксиеллеза, бруцеллеза, сапа, Крымской геморрагической лихорадки, лихорадок Западного Нила и Рифт-Валли. Материалы и методы. Для работы составлена панель из 970 образцов сывороток крови сельскохозяйственных животных из всех ландшафтно-географических зон Гвинеи. Выявление специфических антител проводили с помощью ИФА с препаратами, рекомендованными для ветеринарных исследований. **Результаты и обсуждение.** Специфические антитела к зоонозам выявлены в 700 из 1074 образцов (65,2 % от общего количества), в том числе к Coxiella burnetii – в 172 (16,0 %); Brucella spp. – в 212 (19,7 %); к вирусам лихорадок: Рифт-Валли – в 85 (7,9%); Крымской геморрагической – в 139 (12,9 %) и Западного Нила – в 92 (8,6 %). Антитела к Burkholderia mallei в исследуемом материале не обнаружены. Положительные образцы зарегистрированы во всех ландшафтно-географических зонах. Таким образом, актуальной задачей являются продолжение изучения циркуляции возбудителей зоонозов и зооантропонозов на территории Гвинейской Республики и организация регулярного мониторинга распространения зоонозных инфекционных болезней совместно с ветеринарными службами, что позволит своевременно прогнозировать и координировать проведение профилактических (противоэпидемических) мероприятий.

Ключевые слова: зоонозные инфекционные болезни, сыворотки крови сельскохозяйственных животных, иммуноферментный анализ, иммунная прослойка, иммуноглобулины класса IgG, Гвинейская Республика.

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

Для цитиирования: Найденова Е.В., Карташов М.Ю., Шевцова А.П., Шиповалов А.В., Кабанов А.С., Болдырев Н.Д., Кривошеина Е.И., Diallo M.G., Nassour A.A., Bah M.B., Nourdine I., Keyra M., Kaba L., Camara S., Diallo M.T., Boumbaly S., Sidime Y., Кутырев В.В. Определение уровня иммунной прослойки сельскохозяйственных животных к возбудителям зоонозных инфекционных болезней в Гвинейской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 2:101-106. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-101-106

Поступила 06.05.2021. Принята к публ. 11.05.2022.

E.V. Naidenova¹, M.Yu. Kartashov², A.P. Shevtsova¹, A.V. Shipovalov², A.S. Kabanov², N.D. Boldyrev², E.I. Krivosheina², M.G. Diallo³, A.A. Nassour⁴, M.B. Bah⁴, I. Nourdine⁴, M. Keyra⁵, L. Kaba⁵, S. Camara⁵, M.T. Diallo⁵, S. Boumbaly⁴, Y. Sidime⁵, V.V. Kutyrev¹

Identification of the Farm Animals Immune to Pathogens of Zoonotic Infectious Diseases in the Republic of Guinea

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

²State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation;

³Regional University, Kindia, Republic of Guinea; ⁴Research Institute of Applied Biology of Guinea, Kindia, Republic of Guinea;

⁵Institute of Veterinary Medicine, Dalaba, Republic of Guinea

Abstract. The most common anthropozoonoses on the African continent are coxiellosis and Rift Valley fever. It is known that detection of specific IgG antibodies in the blood sera of farm animals is one of the indicators of the pathogen circulation in a certain territory. The aim of the work was to identify specific IgG antibodies in the blood sera of farm animals collected on the territory of the Republic of Guinea to pathogens of zoonotic infectious diseases: coxiellosis, brucellosis, glanders, CCHF, West Nile and Rift Valley fevers, using enzyme immunoassay (ELISA). Materials and methods. A panel of 970 samples of blood sera from farm animals inhabiting all landscape-geographical zones of Guinea was compiled for the work. Identification of specific antibodies was carried out using enzyme immunoassay with preparations recommended for veterinary studies. Results and discussion. Specific antibodies to zoonoses were detected in 700 out of 1074 samples (65.2 % of the total), including: to Coxiella burnetii – in 172 (16.0 %); to Brucella spp. – in 212 (19.7 %); viruses of Rift Valley fever – 85 (7.9 %); CCHF – in 139 (12.9 %) and West Nile fever – in 92 (8.6 %). Antibodies to Burkholderia mallei were not found in the tested material. Positive samples were registered in all landscape-geographical zones. Thus, an urgent task is to continue studying the circulation of pathogens of zoonoses and anthropozoonoses in the territory of the Republic of Guinea and to organize regular monitoring over the spread of zoonotic infectious diseases in collaboration with veterinary services, which will allow timely forecasting and coordinating prophylactic (anti-epidemic) measures to prevent cases of diseases.

Key words: zoonotic infectious diseases, blood sera of farm animals, enzyme immunoassay, immune cohort, IgG immunoglobulins, Republic of Guinea.

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

Funding: The studies were conducted within the framework of the Orders of the Government of the Russian Federation No. 2904-r dated December 22, 2017 and No. 2985-r dated November 14, 2020 on Russian-Guinean scientific and technical cooperation in the field of epidemiology, prevention and monitoring of bacterial and viral infections in the Republic of Guinea.

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

Citation: Naidenova E.V., Kartashov M.Yu., Shevtsova A.P., Shipovalov A.V., Kabanov A.S., Boldyrev N.D., Krivosheina E.I., Diallo M.G., Nassour A.A., Bah M.B., Nourdine I., Keyra M., Kaba L., Camara S., Diallo M.T., Boumbaly S., Sidime Y., Kutyrev V.V. Identification of the Farm Animals Immune to Pathogens of Zoonotic Infectious Diseases in the Republic of Guinea. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:101–106. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-101-106

Received 06.05.2021. Accepted 11.05.2022.

Naidenova E.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6474-3696 Kartashov M.Yu., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7857-6822 Shevtsova A.P., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-0600-3801 Shipovalov A.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1201-8307 Kabanov A.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6287-0912 Boldyrev N.D., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8854-0287 Krivosheina E.I., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5181-0415 Diallo M.G., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4507-4575
Bah M.B., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4565-269X
Nourdine I., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2970-9676
Boumbaly S., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4506-6033
Sidime Y., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0742-0468
Kutyrev V.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3788-3452

Зоонозные болезни (зоонозы), включающие в себя более 200 нозологических форм, составляют значительную долю среди недавно выявленных и многих существующих инфекционных болезней и являются большой проблемой для здравоохранения большинства стран мира [1]. В качестве патогенов чаще всего выступают бактерии и вирусы, которые попадают в организм человека при прямом контакте с зараженными животными, а также через пищу, воду или объекты окружающей среды. Часть зоонозов, являясь общими для человека и животных, представляют не только медицинскую, но и серьезную ветеринарную проблему [2].

Наиболее значимыми зооантропонозами, широко распространенными практически на всем Африканском континенте, исключая территорию Сахары, традиционно являются коксиеллез и лихорадка Рифт-Валли [3]. Во многих странах Африки (ЮАР, Нигерия, Гамбия, Кения, Сенегал, Зимбабве и др.) есть регионы, эндемичные по бруцеллезу, где периодически регистрируются вспышки данной инфекционной болезни среди крупного (КРС) и мелкого рогатого скота (МРС) [4–7], а также приводятся данные о выявлении генетических маркеров возбудителей, в большинстве случаев относящихся к видам Brucella abortus и В. melitensis [8–10]. Четких сведений о циркуляции возбудителя сапа на территории стран Африки в доступных источниках найти не удалось. Ряд авторов указывают, что данный зооноз является эндемичным для Африканского региона, но никаких конкретных сведений более не приводится [11].

Известно, что один из показателей циркуляции возбудителей зоонозных инфекционных болезней на определенной территории — это выявление специфических антител класса IgG в сыворотках крови сельскохозяйственных животных.

В разные годы на территории некоторых районов Африки проводились исследования по изучению

иммунной прослойки у КРС и МРС к риккетсиям, бруцеллам, коксиеллам, вирусам Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) и лихорадки Рифт-Валли [3, 12–20], а также к вирусу Западного Нила у домашних и синантропных птиц [21].

Гвинейская Республика расположена в Западной Африке, на побережье Атлантического океана. На основании географических и природно-климатических характеристик территория страны условно разделена на четыре ландшафтно-географические зоны: Нижняя (Приморская), Средняя, Верхняя и Лесная.

В 80-е гг. XX в. сотрудниками Советско-Гвинейской микробиологической и вирусологической лаборатории, функционирующей в Гвинее, было начато изучение уровня иммунитета к возбудителям лихорадок Ку, Рифт-Валли, Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ) и некоторым другим возбудителям у сельскохозяйственных животных. При проведении серологического обследования было показано, что антитела к Coxiella burnetii в сыворотках крови КРС были выявлены в 8 % исследованных проб, к вирусу лихорадки Рифт-Валли – в 0,5 % [22], а к вирусу ККГЛ – в 12,3 % [23]. В середине 90-х гг. прошлого столетия, в связи с отсутствием достаточного финансирования и закрытием лаборатории, работа была прекращена. В 2017 г., почти через 30 лет, создан Российско-Гвинейский центр эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней и построена современная диагностическая лаборатория в г. Киндиа [24], что позволило возобновить исследования в данном направлении, а также увеличить спектр изучаемых патогенов.

Цель настоящей работы — выявление методом иммуноферментного анализа (ИФА) специфических антител класса IgG к возбудителям коксиеллеза, бруцеллеза, сапа, КГЛ, лихорадок Западного Нила и Рифт-Валли в собранных на территории Гвинейской Республики сыворотках крови КРС.

Материалы и методы

Материал для исследования собран в 2018—2022 гг. во всех ландшафтно-географических зонах страны сотрудниками Института прикладной биологии Гвинеи (г. Киндиа) и Института медицинской ветеринарии (г. Далаба) и доставлен в лабораторию Российско-Гвинейского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней с соблюдением правил биологической безопасности и температурного режима.

Образцы крови из яремной вены отбирали, используя общепринятую методику, на скотобойнях у взрослых животных (возраст более 1,5 года) без признаков инфекционных заболеваний после их осмотра ветеринарным врачом. Для работы была создана панель из 1074 образцов крови КРС.

Полученные сыворотки тестировали методом ИФА с использованием наборов реагентов: ID Screen® Q Fever Indirect Multi-species для выявления специфических антител класса IgG к С. burnetii; ID Screen® Brucellosis Serum Indirect Multi-species – к В. abortus, melitensis и suis (суммарные); ID Screen® Glanders Double Antigen Multi-species – к Вurkholderia mallei; ID Screen® West Nile Competition Multi-species – к вирусу Западного Нила; ID Screen® Rift Valley Fever Competition Multi-species – к вирусу лихорадки Рифт-Валли и ID Screen® ССНГ Double Antigen Multi-species – к вирусу ККГЛ. Все вышеперечисленные диагностические препараты рекомендованы для использования в качестве ветеринарных и производятся компанией ID Screen (Франция).

Статистическая обработка полученных данных проводилась путем определения доли положительных образцов в каждой выборке и расчета 95 % доверительных интервалов (ДИ) согласно методу Уилсона [25]. Наличие или отсутствие статистически

значимых различий в уровнях серопревалентности среди КРС из разных ландшафтно-географических зон оценивали путем сопоставления ДИ.

Результаты и обсуждение

При исследовании 1074 образцов сывороток крови КРС антитела класса IgG к зоонозам выявлены в 700 (65,2 % от общего количества) случаях, что свидетельствует о контакте животных с данными возбудителями. Положительные образцы зарегистрированы во всех ландшафтно-географических районах Гвинейской Республики.

В результате проведенной работы антитела к $C.\ burnetii$ выявлены в 172 сыворотках крови КРС, что составило 16,0 %. Иммуноглобулины класса IgG к вирусам лихорадки Рифт-Валли, ККГЛ и Западного Нила содержали 85 (7,9 %), 139 (12,9 %) и 92 (8,6 %) образца соответственно. В 212 случаях (19,7 %) в пробах детектированы суммарные антитела класса IgG к Brucella spp. Антитела к $B.\ mallei$ в исследуемом материале не обнаружены. Все полученные во время работы данные представлены в таблице.

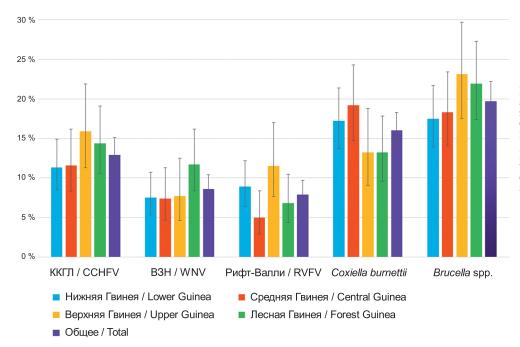
При анализе полученных результатов показано, что по сравнению с 1980-ми гг. в настоящее время в Гвинее уровень иммунной прослойки среди сельско-хозяйственных животных к возбудителю лихорадки Ку вырос в 1,3 раза, к вирусу Рифт-Валли – в 3,2 раза, в отношении вируса ККГЛ рост был незначительным. Вероятнее всего, это связано с большей чувствительностью и специфичностью метода ИФА по сравнению с методиками, используемыми в предыдущих работах для изучения уровня иммунной прослойки у сельскохозяйственных животных в Гвинее.

Кроме того, в настоящем исследовании впервые для Гвинейской Республики получены данные об уровне иммунной прослойки среди КРС к основ-

Выявление специфических антител к возбудителям зоонозных инфекционных болезней в собранных на территории Гвинейской Республики сыворотках крови сельскохозяйственных животных

Identification of specific antibodies to pathogens of zoonotic infectious diseases in the blood sera of farm animals, collected on the territory of the Republic of Guinea

| Ландшафтно- географические зоны | Общее количество исследован- | Результаты выявления антител класса IgG: количество положительных проб; доля положительных проб (%); ДИ Results of detection of IgG class antibodies: number of positive samples; the proportion of positive samples (%); CI | | | | | | |
|---|--|---|---|--|---------------------------|---------------------------|------------------------|--|
| Landscape-geographical zones | ных образцов Total number of samples tested | Вирус ККГЛ Crimean-Congo hemorrhagic fever virus (CCHFV) | Вирус Западного Нила West Nile Virus (WNV) | Вирус лихорадки Рифт-Валли Rift Valley fever virus (RVFV) | Coxiella burnetii | Brucella spp. | Burkholderia mallei | |
| Нижняя Гвинея Lower Guinea | 371 | 42; (11,3); 8,5–14,9 | 28; (7,5); 5,3–10,7 | 33; (8,9); 6,4–12,2 | 64; (17,2); 13,7–21,4 | 65; (17,5); 13,9–21,7 | 0 | |
| Средняя Гвинея Central Guinea | 257 | 30; (11,6); 8,3–16,2 | 19; (7,4); 4,7–11,3 | 13; (5,0); 2,9–8,4 | 49; (19,2); 14,7–24,3 | 47; (18,3); 14,1–23,4 | 0 | |
| Верхняя Гвинея Upper Guinea | 182 | 29; (15,9); 11,3–21,9 | 14; (7,7); 4,6–12,5 | 21; (11,5); 7,7–17,0 | 24; (13,2); 9,1–18,8 | 42; (23,1); 17,5–29,7 | 0 | |
| Лесная Гвинея Forest Guinea | 264 | 38; (14,4); 10,6–19,1 | 31; (11,7); 8,4–16,2 | 18; (6,8); 4,4–10,5 | 35; (13,2); 9,6–17,8 | 58; (21,9); 17,4–27,3 | 0 | |
| Итого по всей стране Total across the country | 1074 | 139; (12,9); 11,0–15,1 | 92; (8,6); 7,1–10,4 | 85; (7,9); 6,4–9,7 | 172; (16,0); 13,9–18,3 | 212; (19,7); 17,4–22,2 | 0 | |



Распределение специфических антител к возбудителям зооно-зов в сыворотках крови КРС, собранных в разных ландшафтногеографических зонах Гвинеи

Distribution of specific antibodies to zoonotic agents in the blood sera of cattle, collected in different landscape-geographical zones of Guinea

ным патогенным видам бруцелл, а также к вирусу Западного Нила. Достаточно высокие показатели количества специфических суммарных антител класса IgG к B. abortus, melitensis и suis свидетельствуют о существовании неблагополучных по бруцеллезу регионов на территории страны. Полученные данные о выявлении иммунной прослойки у сельскохозяйственных животных к возбудителю лихорадки Западного Нила подтверждают циркуляцию вируса в изученных регионах и указывают на формирование здесь природных и природно-антропоургических очагов инфекции.

Специфических антител класса IgG к B. mallei ни в одном образце не выявлено, но на основании полученных сведений полностью исключить отсутствие циркуляции возбудителя сапа на данной территории нельзя, необходимо проведение дальнейших исследований. Достоверной разницы ДИ в уровнях иммунной прослойки к возбудителям зоонозных инфекционных болезней среди сельскохозяйственных животных, обитающих в разных ландшафтногеографических зонах Гвинеи, также не выявлено. Результаты сравнения представлены на рисунке.

Тот факт, что в исследовании использовали сыворотки крови уже взрослых особей, позволяет сделать вывод, что специфические антитела класса IgG к возбудителям данного спектра зоонозов были синтезированы в крови животных при контакте с патогенами в течение жизни, а не переданы вертикальным путем. По сведениям, полученным от ветеринаров, проводивших осмотр перед забоем, и от сотрудников, собиравших образцы, животные выпасались в пределах границ заявленных ландшафтно-географических зон, соответственно, контакты с возбудителями могли произойти только на указанных территориях. Особых различий в условиях содержания и выгула также не отмечено.

Таким образом, с учетом высокой эпидемиологической значимости данных инфекционных болезней, актуальной задачей остается продолжение изучения циркуляции возбудителей зоонозов на территории Гвинейской Республики. Организация совместно с ветеринарными службами Гвинеи регулярного мониторинга распространения инфекционных болезней, общих для человека и животных, позволит своевременно прогнозировать и координировать проведение профилактических (противоэпидемических) мероприятий по предупреждению случаев заболеваний в рамках концепции «Единое здоровье» (One Health), разработанной ВОЗ в сотрудничестве с Всемирной организацией по охране здоровья животных (World Organization for Animal Health) [26].

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

Финансирование. Исследования проводились в рамках распоряжений Правительства Российской Федерации от 22 декабря 2017 г. № 2904-р и от 14 ноября 2020 г. № 2985-р о российско-гвинейском научно-техническом сотрудничестве в области эпидемиологии, профилактики и мониторинга бактериальных и вирусных инфекций в Гвинейской Республике.

Список литературы

1. Зоонозы. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses (дата обращения

int/ru/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses (дата обращения 17.09.2021).

2. Disease Data Collection. [Электронный ресурс]. URL: https://www.oie.int/en/disease (дата обращения 17.04.2022).

3. Carugati M., Kilonzo K.G., Crump J.A. Fever, bacterial zoonoses and One Health in sub-Saharan Africa. Clin. Med. (Lond.). 2019; 19(5):375–80. DOI: 10.7861/clinmed.2019-0180.

4. Brucellosis. [Электронный ресурс]. URL: https://www.oie.int/en/disease/brucellosis (дата обращения 17.04.2022).

5. Ntirandekura J.-B., Matemba L.E., Kimera S.I., Muma J.B., Karimuribo E.D. Association of brucellosis with abortion prevalence

in humans and animals in Africa: A review. *Afr. J. Reprod. Health.* 2018; 22(3):120–36. DOI: 10.29063/ajrh2018/v22i3.13.

2018; 22(3):120–36. DOI: 10.29063/ajrh2018/v2213.13.
6. Ledwaba M.B., Ndumnego O.C., Matle I., Gelaw A.K., van Heerden H. Investigating selective media for optimal isolation of *Brucella* spp. in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2020; 87(1):e1–9. DOI: 10.4102/ojvr.v87i1.1792.
7. Ledwaba M.B., Gomo C., Lekota K.E., Le Flèche P., Hassim A., Vergnaud G., van Heerden H. Molecular characterization of *Brucella* species from Zimbabwe. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(5):e0007311. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007311.
8. Касьян Ж.А., Найденова Е.В., Карташов М.Ю., Баяндин РБ Boumbalv S. Diallo M.G., Nourdine I., Boiro М.I., Осина

Р.Б., Boumbaly S., Diallo M.G., Nourdine I., Boiro M.I., Осина Н.А., Щербакова С.А. Выявление ДНК возбудителя бруцеллеза в биологическом материале от крупного рогатого скота в Гвинейской Республике. В кн.: Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Достижения в области обеспечения санитарноредакторы. Достижения в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в государствах – участниках СНГ в рамках реализации стратегии ВОЗ по внедрению ММСП (2005 г.) до 2016 года. Материалы XIII Межгосударственной научно-практической конференции. Саратов; 2016. С. 104–5. 9. Sanogo M., Fretin D., Thys E., Saegerman C. Exploring the diversity of field strains of *Brucella abortus* Biovar 3 isolated in West Africa. *Front. Microbiol.* 2017; 8:1232. DOI: 10.3389/ fmicb.2017.01232.

in West Africa. Front. Microbiol. 2017; 8:1232. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01232.

10. Kairu-Wanyoike S., Nyamwaya D., Wainaina M., Lindahl J., Ontiri E., Bukachi S., Njeru I., Karanja J., Sang R., Grace D., Bett B. Positive association between Brucella spp. seroprevalences in livestock and humans from a cross-sectional study in Garissa and Tana River Counties, Kenya. PLoS Negl. Trop. Dis. 2019; 13(10):e0007506. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007506.

11. Verma A.K., Saminathan M., Tiwari R., Dahama K., Singh V. Glanders — a re-emerging zoonotic disease: A review. J. Biol. Sci. 2014; 14:38–51. DOI: 10.3923/jbs.2014.38.51.

12. Kamga R.M.N., Silatsa B.A., Farikou O., Kuiate J.-R., Simo G. Detection of Brucella antibodies in domestic animals of southern Cameroon: Implications for the control of brucellosis. Vet. Med. Sci. 2020; 6(3):410–20. DOI: 10.1002/vms3.264.

13. Johnson S.A.M., Kaneene J.B., Asare-Dompreh K., Tasiame W., Mensah I.G., Afakye K., Simpson S.V., Addo K. Seroprevalence of Q fever in cattle, sheep and goats in the Volta region of Ghana. Vet. Med. Sci. 2019; 5(3):402–11. DOI: 10.1002/vms3.160.

14. Sindato C., Pfeiffer D.U., Karimuribo E.D., Mboera L.E.G., Rweyemamu M.M., Paweska J.T. A spatial analysis of Rift Valley fever virus seropositivity in domestic ruminants in Tanzania. PLoS One. 2015; 10(7):e0131873. DOI: 10.1371/journal.pone.0131873.

15. Boussini H., Lamien C.E., Nacoulma O.G., Kaboré A., Poda G., Viljoen G. Prevalence of Rift Valley fever in domestic ruminants in the central and northern regions of Burkina Faso. Rev. Sci. Tech. 2014; 33(3):893–901.DOI: 10.20506/rst.33.3.2327.

16. Loureiro D., Moura-Costa L.F., Jordão R.S., Menezes N.C., Macedo E.S., Guimarães T.S., Meyer R., Portela R.W. Seroprevalence of antibodies against bacterial pathogens in sheep from Equatorial Guinea. Rev. Sci. Tech. 2017; 36(3):965–70. DOI: 10.20506/rst.36.3.2728.

17. Deressa F.B., Kal D.O., Gelalcha B.D., Magalhães R.J.S.

10.20506/rst.36.3.2728.

10.20506/fst.36.3.2/28.

17. Deressa F.B., Kal D.O., Gelalcha B.D., Magalhães R.J.S. Seroprevalence of and risk factors for Q fever in dairy and slaughterhouse cattle of Jimma town, South Western Ethiopia. *BMC Vet. Res.* 2020; 16(1):385. DOI: 10.1186/s12917-020-02598-8.

18. Gwida M., El-Ashker M., El-Diasty M., Engelhardt C., Khan I., Neubauer H. Q fever in cattle in some Egyptian Governorates: a preliminary study. *BMC Res. Notes.* 2014; 7:881. DOI: 10.1186/1756-0500-7-881.

19. Bunyaviral diseases of animals (excluding Rift Valley fever and Crimean-Congo haemorrhagic fever). [Электронный ресурс]. URL: https://www.oie.int/en/disease/bunyaviral-diseases-of-ani-

This.//www.oic.in/cei/disease/outhyaviral-disease-oi-alin-mals-excluding-rift-valley-fever-and-crimean-congo-haemorrhagic-fever (дата обращения 17.04.2022).

20. Sas M.A., Comtet L., Donnet F., Mertens M., Vatansever Z., Tordo N., Pourquier P., Groschup M.H. A novel double-antigen sandwich ELISA for the species-independent detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus-specific antibodies. *Antiviral. Res.* 2018; 151:24–6. DOI: 10.1016/j.antiviral.2018.01.006.

21. Assaid N., Arich S., Ezzikouri S., Benjelloun S., Dia M., Faye O., Akarid K., Beck C., Lecollinet S., Failloux A.-B., Sarih M. Serological evidence of West Nile virus infection in human populations and domestic birds in the Northwest of Morocco. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2021; 76:101646. DOI: 10.1016/j.

cimid.2021.101646. 22. Каливоги 22. Каливоги С., Буаро М.Е., Константинов О.К., Плотникова Л.Ф. Иммунная структура населения и домашних животных Гвинейской Республики в отношении риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки и лихорадки Ку. Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2013;

1:28–30.
23. Бутенко А.М. Изучение циркуляции арбовирусов в Гвинейской Республике. Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 1996; 2:40–5.

24. Найденова Е.В., Лопатин А.А., Сафронов В.А., Коломоец Е.В., Левковский А.Е., Силла А.Л., Старшинов В.А., Щербакова С.А., Малеев В.В. Обеспечение биологической без-Щербакова С.А., Малеев В.В. Обеспечение биологической безопасности при проведении противоэпидемических мероприятий в период ликвидации эпидемии лихорадки Эбола в Гвинейской Республике. Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2018; 7(3):102–8. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13015.

25. Confidence interval calculator. [Электронный ресурс]. URL: https://pedro.org.au/english/resources/confidence-interval-calculator (дата обращения 17.04.2022).

26. TF_MR_071106_OIE_Initiatives_for_Zoonoses_Control. [Электронный ресурс]. URL: https://www.oie.int/en/document/tf_mr_071106_oie_initiatives_for_zoonoses_control (дата обращения 17.04.2022).

References

1. [Zoonotic diseases]. (Cited 17 Sep 2021). [Internet]. Available from: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/

Available from: https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses.

2. Disease Data Collection. (Cited 17 Apr 2022). [Internet]. Available from: https://www.oie.int/en/disease.

3. Carugati M., Kilonzo K.G., Crump J.A. Fever, bacterial zoonoses and One Health in sub-Saharan Africa. Clin. Med. (Lond.). 2019; 19(5):375–80. DOI: 10.7861/clinmed.2019-0180.

4. Brucellosis. (Cited 17 Apr 2022). [Internet]. Available from: https://www.oie.int/en/disease/brucellosis.

5. Ntirandekura J.-B., Matemba L.E., Kimera S.I., Muma J.B., Karimuribo E.D. Association of brucellosis with abortion prevalence in humans and animals in Africa: A review. Afr. J. Reprod. Health. 2018; 22(3):120–36. DOI: 10.29063/ajrh2018/v22i3.13.

6. Ledwaba M.B., Ndumnego O.C., Matle I., Gelaw A.K., van Heerden H. Investigating selective media for optimal isolation of Brucella spp. in South Africa. Onderstepoort J. Vet. Res. 2020; 87(1):e1–9. DOI: 10.4102/ojvr.v87i1.1792.

7. Ledwaba M.B., Gomo C., Lekota K.E., Le Flèche P.,

87(1):e1–9. DOI: 10.4102/ojyr.v8/11.1/92.

7. Ledwaba M.B., Gomo C., Lekota K.E., Le Flèche P., Hassim A., Vergnaud G., van Heerden H. Molecular characterization of *Brucella* species from Zimbabwe. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13(5):e0007311. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007311.

8. Kas'yan Zh.A., Naidenova E.V., Kartashov M.Yu., Bayandin R.B., Boumbaly S., Diallo M.G., Nourdine I., Boiro M.I., Osina N.A., Shcherbakova S.A. [Identification of brucellosis agent DNA in biological material from cattle in the Republic of Guineal In: N.A., Shcheroakova S.A. [Identification of bruceflosts agent DNA in biological material from cattle in the Republic of Guinea]. In: Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Achievements in the Sphere of Sanitary-Epidemiological Welfare Provision in the CIS Member-States within the Framework of the WHO Strategy on the IHR (2005) Implementation through to 2016. Proceedings of the XIII Inter-State Scientific-and-Practical Conference (November 1–2, 2016, Saratov)].

Saratov; 2016. P. 104–5.

9. Sanogo M., Fretin D., Thys E., Saegerman C. Exploring the diversity of field strains of *Brucella abortus* Biovar 3 isolated in West Africa. *Front. Microbiol.* 2017; 8:1232. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01232.

in West Africa. Front. Microbiol. 2017; 8:1232. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01232.

10. Kairu-Wanyoike S., Nyamwaya D., Wainaina M., Lindahl J., Ontiri E., Bukachi S., Njeru I., Karanja J., Sang R., Grace D., Bett B. Positive association between Brucella spp. seroprevalences in livestock and humans from a cross-sectional study in Garissa and Tana River Counties, Kenya. PLoS Negl. Trop. Dis. 2019; 13(10):e0007506. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007506.

11. Verma A.K., Saminathan M., Tiwari R., Dahama K., Singh V. Glanders — a re-emerging zoonotic disease: A review. J. Biol. Sci. 2014; 14:38–51. DOI: 10.3923/jbs.2014.38.51.

12. Kamga R.M.N., Silatsa B.A., Farikou O., Kuiate J.-R., Simo G. Detection of Brucella antibodies in domestic animals of southern Cameroon: Implications for the control of brucellosis. Vet. Med. Sci. 2020; 6(3):410–20. DOI: 10.1002/vms3.264.

13. Johnson S.A.M., Kaneene J.B., Asare-Dompreh K., Tasiame W., Mensah I.G., Afakye K., Simpson S.V., Addo K. Seroprevalence of Q fever in cattle, sheep and goats in the Volta region of Ghana. Vet. Med. Sci. 2019; 5(3):402–11. DOI: 10.1002/vms3.160.

14. Sindato C., Pfeiffer D.U., Karimuribo E.D., Mboera L.E.G., Rweyemamu M.M., Paweska J.T. A spatial analysis of Rift Valley fever virus seropositivity in domestic ruminants in Tanzania. PLoS One. 2015; 10(7):e0131873. DOI: 10.1371/journal.pone.0131873.

15. Boussini H., Lamien C.E., Nacoulma O.G., Kaboré A., Poda G., Viljoen G. Prevalence of Rift Valley fever in domestic ruminants in the central and northern regions of Burkina Faso. Rev. Sci. Tech. 2014; 33(3):893–901.DOI: 10.20506/rst.33.3.2327.

16. Loureiro D., Moura-Costa L.F., Jordão R.S., Menezes N.C.. Macedo E.S., Guimarães T.S., Meyer R., Portela R.W.

16. Loureiro D., Moura-Costa L.F., Jordão R.S., Menezes N.C., Macedo E.S., Guimarães T.S., Meyer R., Portela R.W. Seroprevalence of antibodies against bacterial pathogens in sheep from Equatorial Guinea. *Rev. Sci. Tech.* 2017; 36(3):965–70. DOI: 10.20506/rst.36.3.2728.

17. Deressa F.B., Kal D.O., Gelalcha B.D., Magalhães R.J.S. Seroprevalence of and risk factors for Q fever in dairy and slaughterhouse cattle of Jimma town, South Western Ethiopia. *BMC Vet. Res.*

2020; 16(1):385. DOI: 10.1186/s12917-020-02598-8.

2020; 16(1):385. DOI: 10.1186/s12917-020-02598-8.

18. Gwida M., El-Ashker M., El-Diasty M., Engelhardt C., Khan I., Neubauer H. Q fever in cattle in some Egyptian Governorates: a preliminary study. *BMC Res. Notes.* 2014; 7:881. DOI: 10.1186/1756-0500-7-881.

19. Bunyaviral diseases of animals (excluding Rift Valley fever and Crimean-Congo haemorrhagic fever). (Cited 17 Apr 2022). [Internet]. Available from: https://www.oie.int/en/disease/bunyaviral-diseases-of-animals-excluding-rift-valley-fever-and-crimean-congo-haemorrhagic-fever

congo-haemorrhagic-fever.

20. Sas M.A., Comtet L., Donnet F., Mertens M., Vatansever Z., Tordo N., Pourquier P., Groschup M.H. A novel double-antigen sandwich ELISA for the species-independent detection of Crimean-

sandwich ELISA for the species-independent detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus-specific antibodies. *Antiviral. Res.* 2018; 151:24–6. DOI: 10.1016/j.antiviral.2018.01.006.
21. Assaid N., Arich S., Ezzikouri S., Benjelloun S., Dia M., Faye O., Akarid K., Beck C., Lecollinet S., Failloux A.-B., Sarih M. Serological evidence of West Nile virus infection in human populations and domestic birds in the Northwest of Morocco. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2021; 76:101646. DOI: 10.1016/j. cimid.2021.101646.

22. Kalivogui S., Boiro M.E., Konstantinov O.K., Plotnikova L.F. [The immune structure against Q-fever and tickborne spotted fever group rickettsioses in the population and domestic animals of the Republic of Guinea]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*.

Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases].

1 uruzuurnye вонегт [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]. 2013; (1):28–30.
23. Butenko A.M. [Studies on arboviruses circulation in the Republic of Guinea]. Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]. 1996; (2):40–5.

(2):40–5.
24. Naydenova E.V., Lopatin A.A., Safronov V.A., Kolomoets E.V., Levkovskiy A.E., Silla A.L., Starshinov V.A., Shcherbakova S.A., Maleev V.V. [Biological safety at carrying out anti-epidemic measures during the liquidation of the epidemic Ebola fever in the Republic of Guinea]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training].* 2018; 7(3):102–8. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13015.

25. Confidence interval calculator. (Cited 17 Apr 2022). [Internet]. Available from: https://pedro.org.au/english/resources/

confidence-interval-calculator.

26. TF_MR_071106_OIE_Initiatives_for_Zoonoses_Control.
[Internet]. (Cited 17 Apr 2022). Available from: https://www.oie.int/en/document/tf_mr_071106_oie_initiatives_for_zoonoses_control.

Authors:

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

Kartashov M.Yu., Shipovalov A.V., Kabanov A.S., Boldyrev N.D., Krivosheina E.I. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation.

E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Diallo M.G. Regional University. Kindia, Republic of Guinea

Nassour A.A., Bah M.B., Nourdine I., Boumbaly S. Research Institute
of Applied Biology of Guinea. Kindia, Republic of Guinea.

Keyra M., Kaba L., Camara S., Diallo M.T., Sidime Y. Institute of
Veterinary Medicine. Dalaba, Republic of Guinea.

Об авторах:

Найденова Е.В., Шевцова А.П., Кутырев В.В. Российский научноисследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. rusrapi@microbe.ru.

Карташов М.Ю., Шиповалов А.В., Болдырев Н.Д., Кривошеина Е.И., Кабанов А.С. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Diallo M.G. Региональный университет. Гвинейская Республика,

Киндиа.

Nassour A.A., Bah M.B., Nourdine I., Boumbaly S. Исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи. Гвинейская Республика, Киндиа

Keyra M., Kaba L., Camara S., Diallo M.T., Sidime Y. Институт медицинской ветеринарии. Гвинейская Республика, Далаба.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-107-114

УДК 616.98:579.841.93

Н.А. Осина, Д.А. Ситмбетов, И.В. Доманина, Е.Г. Булгакова, Ж.А. Касьян, И.А. Касьян, О.Ю. Ляшова, С.А. Щербакова

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОВАРОВ *BRUCELLA SUI*S МЕТОДОМ МУЛЬТИЛОКУСНОЙ ПЦР С УЧЕТОМ РЕЗУЛЬТАТОВ В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

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

Цель исследования – разработка методического подхода для определения биоваров Brucella suis методом мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени. Материалы и методы. В работе использовали 16 штаммов B. suis различных биоваров, по 2 шт. - B. neotomae и B. canis. Определение таксономической принадлежности штаммов бруцелл осуществляли по протоколам Bruce-ladder, Suis-ladder, БРУ-ДИФ. Подбор праймеров и зондов проводили с помощью программного обеспечения на сайте www.genscript.com и программы GeneRanner 6.5.52. Фрагментное секвенирование по Сэнгеру осуществляли на генетическом анализаторе 3500 XL в соответствии с рекомендациями производителя. Оценку гомологии нуклеотидных последовательностей проводили по алгоритму BLAST, используя базу данных GenBank NCBI. Результаты и обсуждение. У штаммов B. suis различных биоваров проведен анализ структурной организации геномных островов IncP и GI-3. Установлено, что у штаммов 2, 4 биоваров В. suis и В. canis в результате гомологичной рекомбинации в геномном острове IncP утрачена концевая часть гена BRA0368, включающая 21 нуклеотид (повторяющийся в гене BRA0367) и стоп-кодон ТАА, а также практически полностью последовательность гена BRA0367. Прямой повтор из 21 нуклеотида и стоп-кодона TGA гена BRA0367 заместил аналогичную область гена BRA0368, что привело к образованию делеции размером 185 п.н. В структуре GI-3 отличий у биоваров отмечено не было. Полученные результаты позволили разработать подход (Suis-ДИФ) для дифференциации биоваров B. suis, основанный на амплификации генов, расположенных в геномных островах IncP и GI-3, методом ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени. Подтверждена его специфичность при исследовании штаммов B. suis из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб». Проведенные исследования расширяют и дополняют сведения о генетической неоднородности видов и биоваров бруцелл. Предложенный способ определения биоваров B. suis методом мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени расширяет возможности идентификации бруцелл с помощью молекулярно-генетических методов.

Ключевые слова: мультилокусная ПЦР, внутривидовая дифференциация, *Brucella suis*, биовары, геномные острова IncP и GI-3, структурная организация, фрагментное секвенирование по Сэнгеру.

 $\mathit{Koppecnoh}\mathit{дupyющий}$ asmop : Осина Наталия Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Осина Н.А., Ситмбетов Д.А., Доманина И.В., Булгакова Е.Г., Касьян Ж.А., Касьян И.А., Ляшова О.Ю., Щербакова С.А. Разработка способа определения биоваров *Brucella suis* методом мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 2:107–114. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-107-114

Поступила 15.04.2022. Принята к публ. 16.05.2022.

N.A. Osina, D.A. Sitmbetov, I.V. Domanina, E.G. Bulgakova, Zh.A. Kas'yan, I.A. Kas'yan, O.Yu. Lyashova, S.A. Shcherbakova

Development of a Method for Determination of *Brucella suis* Biovars Using Multilocus Real-Time PCR

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

Abstract. The aim of the study was to develop a methodological approach to determination of Brucella suis biovars through multilocus PCR with real-time registration of results. Materials and methods. We used 16 strains of B. suis of various biovars, B. neotomae and B. canis - 2 strains of each. Determination of the taxonomic affiliation of Brucella strains was carried out according to the Bruce-ladder, Suis-ladder, BRU-DIF protocols. The selection of primers and probes was performed using the software on the website www.genscript.com and the GeneRanner 6.5.52 program. Fragment sequencing according to Sanger was performed on a 3500 XL genetic analyzer in accordance with the manufacturer's recommendations. Nucleotide sequence homology was assessed using the BLAST algorithm and the GenBank NCBI database. Results and discussion. An analysis of the structural organization of IncP and GI-3 genomic islands has been carried out in B. suis strains of various biovars. It has been established that in strains of B. suis II, IV biovars and B. canis, the terminal part of the BRA0368 gene, comprising 21 nucleotides (repeated in the BRA0367 gene) and the "TAA" stop codon, as well as almost the entire sequence of the BRA0367 gene were lost, owing to homologous recombination in the IncP genome island. A 21-nucleotide direct repeat and the "TGA" stop codon of the BRA0367 gene replaced the analogous region of the BRA0368 gene which resulted in the deletion the size of 185 bp. No differences have been noted in the structure of GI-3 in biovars. The evidence obtained made it possible to develop the approach (Suis-DIF) for differentiating B. suis biovars, based on the amplification of genes located in the IncP and GI-3 genomic islands using real-time PCR. Its specificity was confirmed in the study of B. suis strains from the fund of the State Collection of Pathogenic Bacteria of the Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". The conducted studies expand and supplement the data on the genetic heterogeneity of Brucella species and biovars. The proposed method for differentiating biovars of B. suis using multilocus PCR with real-time registration of results enhances the capacities for Brucella identification using molecular-genetic methods.

Key words: multilocus PCR, intraspecific differentiation, Brucella suis, biovars, IncP and GI-3 genomic islands, structural organization, Sanger fragment sequencing.

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

Corresponding author: Natalia A. Osina, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Osina N.A., Sitmbetov D.A., Domanina I.V., Bulgakova E.G., Kas'yan Zh.A., Kas'yan I.A., Lyashova O.Yu., Shcherbakova S.A. Development of a Method for Determination of Brucella suis Biovars Using Multilocus Real-Time PCR. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:107–114. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-107-114 Received 15.04.2022. Accepted 16.05.2022.

Osina N.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0954-5683 Sitmbetov D.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2766-2624 Domanina I.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4731-8089 Bulgakova E.G., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2405-2684 Kas'yan Zh.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9828-3277 Kas'yan I.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4998-7673 Shcherbakova S.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1143-4069

Возбудитель бруцеллеза относится к роду Brucella, включающему на сегодняшний день 12 самостоятельных видов: B. abortus (7 биоваров), B. melitensis (3 биовара), B. suis (5 биоваров), B. canis, B. ovis, B. neotomae, B. ceti, B. pinnipedialis, B. microti, B. inopinata, B. papionis, B. vulpis. Наиболее вирулентными для человека являются B. melitensis, B. abortus и B. suis 1–4-го биоваров. Поэтому при идентификации патогена представляется необходимым определение его видовой и биоварной принадлежности. Для решения данной задачи накоплен положительный опыт по применению полимеразной цепной реакции (ПЦР) с электрофоретическим и гибридизационнофлуоресцентным учетом результатов [1–5].

Для дифференциации биоваров *B. suis* разработан и рекомендован BO3 протокол Suis-ladder [3]. основанный на амплификации локусов ВМЕП426 (делетирован у В. canis), BMEI1688 (амплифицируется только у *B. suis* 2-го и 4-го биоваров), *BR1080* (делетирован у *B. suis* 2-го биовара), *BMEI0205* (Bruce 11 – содержит VNTRs, различающие биовары B. suis). Ампликоны визуализируют и определяют их размер после проведения электрофореза в агарозном геле. Ранее нами при идентификации штаммов бруцелл из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» было установлено, что профиль амплификации по протоколу Suis-ladder для ряда штаммов *B. suis* 5-го биовара не совпал ни с одним из представленных в данном протоколе [6]. Это связано с тем, что у данных штаммов в локусе ВМЕІ0205 было выявлено семь повторов VNTR вместо девяти, описанных в протоколе. Возможно, с увеличением количества исследуемых штаммов будут получены новые профили амплификации, что потребует внесения дополнений в протокол Suis-ladder. В связи с этим представляется актуальной разработка иных способов внутривидовой дифференциации B. suis с помощью молекулярногенетических технологий.

Целью работы являлась разработка методического подхода для определения биоваров *B. suis* методом мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Материалы и методы

В работе использовали 20 штаммов бруцелл, из них 5 - B. suis 1-го биовара, 2 - B. suis 2-го биовара, 1 - B. suis 3-го биовара, 2 - B. suis 4-го биовара, 6 - B.

 $B. \ suis \ 5$ -го биовара, $2-B. \ neotomae$, $2-B. \ canis$. Все культуры получены из Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб».

Штаммы возбудителя бруцеллеза выращивали на эритрит-агаре (НИИ им. Мечникова, Москва) (рН 7,2) при температуре (37 ± 1) °C в течение 48 ч. Из выросших культур готовили суспензии в 2 мл 0,9 % раствора натрия хлорида по отраслевому стандартному образцу мутности 10 единиц ФГБУ «НЦЭСМП» — ОСО 42-28-85-П (10МЕ), что соответствовало $1,6\cdot10^9$ м.к./мл для возбудителя бруцеллеза. Затем десятикратными разведениями в 0,9 % растворе натрия хлорида микробные взвеси доводили до концентрации $1\cdot10^3$ м.к./мл. Количество клеток в приготовленных разведениях проверяли путем высева из концентрации $1\cdot10^3$ м.к./мл по 0,1 мл микробной взвеси (100 м.к.) каждого тест-штамма на три чашки Петри с соответствующей средой.

Для обеззараживания проб к ним добавляли мертиолят натрия до конечной концентрации 1:10000 (0,01 %), прогревали при 56 °C в течение 30 мин, с последующим смешиванием 100 мкл полученной суспензии с лизирующим буфером на основе 6-молярного гуанидинизотиоцианата в объеме, указанном в инструкции к набору для выделения ДНК, и инкубированием в течение 15 мин при температуре (65±1) °C. Выделение ДНК осуществляли с помощью набора «ДНК-сорб В». Работу проводили в соответствии с инструкцией к препарату.

Постановку ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов осуществляли на приборе типа RotorGene (Qiagen, Германия) и CFX96 (BioRad, США), а с электрофоретической детекцией — на амплификаторе Mastercycler (Eppendorf, Германия) и в камере SybCell GT (BioRad, США) в 2 % агарозном геле.

Определение таксономической принадлежности штаммов бруцелл осуществляли по протоколам Bruce-ladder и Suis-ladder в соответствии с рекомендациями авторов [2, 3] и по разработанному нами ранее протоколу БРУ-ДИФ [7].

Фрагментное секвенирование по Сэнгеру осуществляли на генетическом анализаторе 3500 XL в соответствии с рекомендациями производителя.

Подбор праймеров и зондов проводили с помощью программного обеспечения на сайте www. genscript.com (Bioinformatics Tools / Molecular Biology / Real-time PCR (TaqMan) Primer Design) и программы GeneRunner 6.5.52. Оценку гомологии по-

следовательностей – по алгоритму BLAST, используя базу данных GenBank NCBI.

Результаты и обсуждение

Выбор ДНК-мишеней для определения биоваров В. suis методом мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени. Ранее нами были разработаны методические подходы и диагностические препараты на их основе для определения видовой принадлежности бруцелл (В. abortus, В. melitensis, В. suis, В. ovis, В. canis, В. neotomae) методом мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени [1,7]. Результаты исследования подтвердили перспективность использования в качестве ДНК-мишеней для этих целей генов, которые в разной степени встречаются у отдельных видов патогена. В связи с этим, приступая к разработке способа дифференциации биоваров В. suis методом ПЦР-РВ, необходимо было провести поиск локусов

как лежащих в консервативных участках генома (в отличие от протокола Suis-ladder), так и делетированных у определенных биоваров.

Особого внимания в данном направлении заслуживают геномный остров IncP, характерный для *B. suis* 1—4-го биоваров, *B. canis* и *B. microti*, и GI-3, отсутствующий у данных видов [8, 9].

При изучении *in silico* встречаемости генов, входящих в остров IncP (BRA0362–BRA0379 по нуклеотидной последовательности *B. suis* 1330, хромосома 2, GenBank NCBI № AE014292), нами было показано, что локус BRA0367 обнаруживается не во всех геномах *B. suis* и *B. canis* [1]. Поэтому проведен мониторинг *in vitro* генов острова у штаммов данных видов и дополнительно *B. neotomae* методом ПЦР с электрофоретическим учетом результатов. Подбор специфичных праймеров осуществляли на основе нуклеотидной последовательности *B. suis* 1330 (GenBank NCBI № AE014292) с помощью программы GeneRunner 6.5.52. (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1
Результаты амплификации с праймерами на гены острова IncP у штаммов B. suis, B. canis, B. neotomae
Results of amplification with primers for IncP island genes in B. suis, B. canis, B. neotomae strains

| | | | | | ние специф ation of spe | | | |
|----------------|--|---|-----------|----------|----------------------------|---|---|---|
| Локус Locus | Нуклеотидная последовательность праймеров, 5'-3' Nucleotide sequence of primers, 5'-3' | | Би Bio | B. canis | B. neotomae | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| BRA0362 | F: aaatgcgattgaggctatc R: ggtcgccattcacctttg | + | + | + | + | _ | + | + |
| BRA0363 | F: aaagaattaaggagagcaag R: atcaatccatgcctcgac | + | + | + | + | - | + | + |
| BRA0364 | F: atgagtagccgaaacagc R: tgccaccetttccttctc | + | + | + | + | - | + | + |
| BRA0365 | F: tacctcgctgccgttcttc R: gcagctcgatgcactggataag | + | + | + | + | _ | + | + |
| BRA0366 | F: acgtctccgattgagagttaac R: cgcctgctagccaagaatc | + | + | + | + | _ | + | + |
| BRA0367 | F: cggctgcggaattggtcatc R: tgattgccgccctctgtctc | + | _ | + | _ | _ | _ | - |
| BRA0368 | F: tttcacggctgcggaattg R: ccagccgcatgttcaacac | + | + | + | + | _ | + | + |
| BRA0370 | F: tcagtgggccgcgtaatag R: cggcctagcaagagcgttatg | + | + | + | + | - | + | + |
| BRA0371 | F: cccttgctgatcctttcc R: aaacttgacaatgaggcag | + | + | + | + | - | + | + |
| BRA0372 | F: aaatgcgattgaggctatc R: ctcagcgagccacaatttc | + | + | + | + | _ | + | + |
| BRA0373 | F: atgatcgcacatcgcatcaacc R: gcaccttgttgatggccacatg | + | + | + | + | _ | + | + |
| BRA0374 | F: tacgtttcgtcgtcgcgtccac R: aaggtggcagtagcggcaaacc | + | + | + | + | - | + | + |
| BRA0375 | F: ctgggcgtggttcttgatg R: gatccgaggagagcgttcaac | + | + | + | + | - | + | + |
| BRA0376 | F: tcaaggctgttggattcg R: acggctacatcatcaagag | + | + | + | + | _ | + | + |
| BRA0377 | F: tecaaatetgataccaaatage R: egeaategeeteactatte | + | + | + | + | _ | + | + |
| BRA0379 | F: tcatggcttcttgatgctg R: atcaaagaggaagccacgaac | + | + | + | + | - | + | + |

Установлено, что при исследовании штаммов В. suis 2-го и 4-го биоваров, В. canis и В. neotomae отсутствуют амплификации с праймерами, фланкирующими локус BRA0367. Для штаммов В. suis 5-го биовара отмечено отсутствие всего острова IncP, что совпадает с данными М. Mancilla et al. [8].

Протяженность делеции локуса BRA0367 определена с помощью праймеров, фланкирующих фрагмент BRA0366–BRA0368 размером 538 п.н.: del1456 5'-GCATCCCAAGAGCCACAAG-3' и del1993 5'-AACGTGCAGCAGCAGCTCCAGAAG-3'. Эти праймеры при исследовании штаммов *B. suis* 1–4-го биоваров и *B. canis* методом ПЦР инициировали синтез специфичных ампликонов. Проведено определение их нуклеотидной последовательности методом фрагментного секвенирования по Сэнгеру (рис. 1).

Установлено, что у изученных в данной работе штаммов 2-го биовара — B. suis И-99, 4-го биовара — B. suis И-99, 4-го биовара — B. suis 40 и B. canis 6/66 в результате гомологичной рекомбинации утрачена концевая часть гена BRA0368, включающая 21 нуклеотид (повторяющийся у гена BRA0367) и стоп-кодон ТАА, а также практически полностью — последовательность гена BRA0367. Прямой повтор из 21 нуклеотида и стопкодона TGA гена BRA0367 заместил аналогичную область гена BRA0368 (рис. 1). При такой генетической перестройке размер делеции составил 185 п.н.

Последующий анализ известных геномов бруцелл in silico показал, что выявленная делеция характерна для пяти штаммов B. suis 2-го биоваpa (Bs143CITA, Bs364CITA, PT09172, PT09143, Bs396CITA), двух штаммов B. suis 4-го биовара (40, BSP), девяти штаммов *B. canis* (GB1, FDAARGOS 420, 2010009751, 2009013648, 2009004498, RM6/66, SVA13, Oliveri, HSK A52141), штаммов B. neotomae (NCTC10084, NCTC10071, NCTC10070, 5К33). У штаммов В. suis 1-го и 3-го биоваров 60, 686, S2, 1330 и В. microti CCM 4915 гены BRA0366-BRA0368 были интактными. Штаммы B. ceti и представители Brucella spp. оказались гетерогенными по структуре острова IncP: содержали как интактные BRA0366-BRA0368, так и делецию локуса *BRA0367*.

На следующем этапе с использованием базы данных GenBank NCBI у штаммов бруцелл разных видов проанализирована структура геномного острова GI-3 (ВМЕІ1674—ВМЕІ1703 по нуклеотидной последовательности *В. melitensis* 16М, хромосома 1, GenBank NCBI № АЕ008917). Гены, входящие в состав GI-3, выявлены у штаммов *В. abortus*, *В. melitensis*, *В. ovis*, *В. ceti*, *В. pinnipedialis*, *В. suis* 2-го и 5-го биоваров, что в полной мере согласуется с данными М. Mancilla *et al.* [8], а также І. Lopez-Goni *et al.* [3], которые при разработке протокола Suis-ladder наблюдали амплификацию локуса *ВМЕІ1688* острова GI-3 у штаммов *В. suis* 2-го и 5-го биоваров. При этом делеций или вставок в данной области не отмечено.

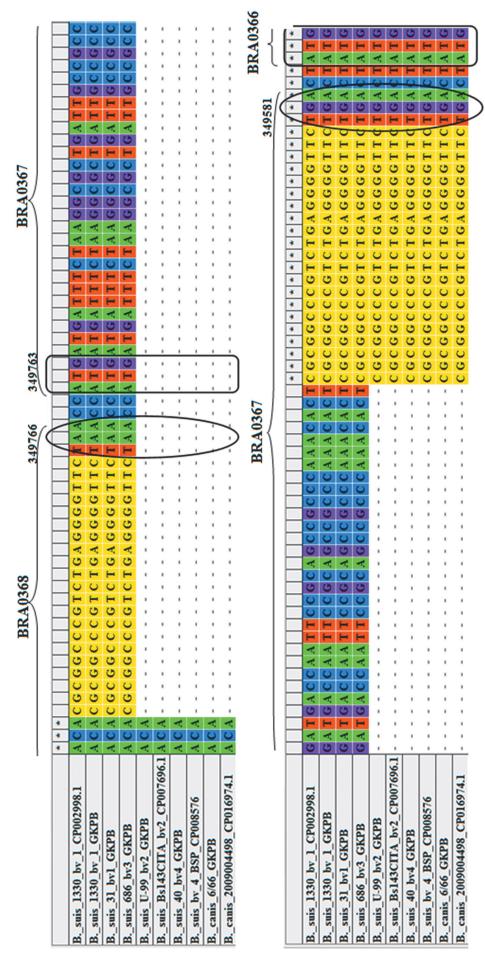
Собственные исследования и анализ депонированных геномов бруцелл позволили выбрать в каче-

стве перспективных ДНК-мишеней для дифференциации биоваров *B. suis* методом ПЦР-РВ локусы: BRA0367 – делетирован у В. suis 2-го и 4-го биоваров, *B. canis*, *B. neotomae*; *BRA0378* – делетирован у *B. suis* 5-го биовара, *BMEI1683* – делетирован у B. suis 1, 3 и 4-го биоваров; и локус BR0262, который был использован нами ранее как специфичный для *B. suis / B. canis / B. neotomae* [1]. Поскольку разрабатываемый методический подход будет направлен на внутривидовую дифференцию выделенных культур B. suis, то для снижения риска получения неспецифичных результатов из-за присутствия этих локусов у других видов бруцелл необходима предварительная идентификация B. suis с использованием какого-либо протокола Bruce-ladder, БРУ-ДИФ или диагностического препарата «БРУ-ДИФ-РГФ», «ОМ-скрин-Бруцелла-РВ». Поэтому вся последуюшая работа выполнялась только на штаммах *B. suis*.

Разработка и условия проведения мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени для определения биоваров В. suis. На основе нуклеотидной последовательности указанных генов подобраны олигонуклеотидные праймеры и зонды ТаqМап, обеспечивающие амплификацию с учетом результатов в режиме реального времени (табл. 2). В состав зондов для возможности проведения реакции в мультилокусном формате были введены флуоресцентные метки и гасители флуоресценции FAM-BHQ1, R6G-BHQ1, ROX-BHQ2, Cy5-BHQ2.

В ходе ряда экспериментов определены оптимальные условия амплификации фрагментов указанных локусов с учетом результатов в режиме реального времени. Установлено, что образование флуоресцентного сигнала по соответствующим каналам наблюдалось при проведении реакции в моноформате. тогда как в мультилокусном формате сразу с четырьмя парами праймеров и зондов накопление флуоресценции отсутствовало. Возможно, это связано с тем, что локусы BRA0367 и BRA0378 расположены близко друг к другу. Для решения данного вопроса предложено осуществлять реакцию в двух реакционных смесях: GO - с праймерами и зондами, комплементарными локусам BR0262 и BRA0367, и RY - комплементарными локусам BMEI1683 и BRA0378. При таком подходе наблюдалось эффективная амплификация всех выбранных локусов (рис. 2).

Программа амплификации в двух реакционных смесях адаптирована для амплификаторов RotorGene Q (Qiagen, Германия) и CFX96 (BioRad, США) и включала предварительную денатурацию при температуре 95 °C в течение 5 мин; 10 циклов 95 °C – 30 с, 56 °C – 30 с, 72 °C – 10 с; 35 циклов 95 °C – 30 с, 56 °C – 30 с (учет флуоресценции), 72 °C – 10 с. Для всех красителей в случае использования термоциклера RotorGene Q – границы значений по усилению сигнала 5 и 10. Для реакционной смеси GO регистрацию флуоресценции осуществляли по каналам FAM и ROX, для реакционной



Жептым цветом выделены прямые повторы, красным прямоугольником — старт-кодоны, черным овалом — стоп-кодоны. Нуклеотиды по последовательности В. suis 1330 GenBank NCBI № AE014292: ВR40366 (349578—349781), ВR40368 (350557—349766). Размер делеции — 185 п.н. Рис. 1. Структурная организация генов ВRA0368-ВRA0366 геномного острова IncP штаммов В. suis разных биоваров и В. canis:

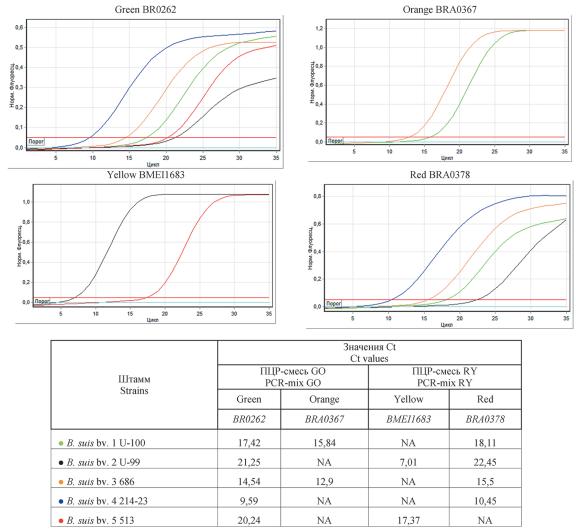
Direct repeats are highlighted in yellow, start codons are marked with red rectangle, and stop codons – with black oval. Nucleotides by the sequence of B. suis 1330 GenBank NCBI No. AE014292: BR40366 (349578–34765), BR40368 (350557–349766). The size of the deletion is 185 bp Fig. 1. Structural organization of BRA0368–BRA0366 genes in IncP genomic island of B. suis strains of different biovars and B. canis:

Таблица 2 / Table 2

Нуклеотидная последовательность праймеров и зондов, подобранных в данной работе для определения биоварной принадлежности *B. suis*, и амплификация ДНК-мишеней с их участием у штаммов различных биоваров

Nucleotide sequence of primers and probes selected within the frames of this work to determine the biovar affiliation of *B. suis* and amplification of DNA targets with their participation in strains of various biovars

| Локус | Нуклеотидная последовательность праймеров и зондов, 5'-3' | | | чие амплифи Amplificatior | | |
|----------|---|------------|------------|------------------------------|------------|------------|
| Locus | Nucleotide sequence of primers and probes, 5'-3' | Bs 1 bv | Bs 2 bv | Bs 3 bv | Bs 4 bv | Bs 5 bv |
| BR0262 | F: CTTGGTTTGTAGCGGTTGAC R: AAACGTCTTCGTCTCCTCAG P: FAM-ATTCGATCCTCTTCAAGCGCCCGT-RTQ1 | + | + | + | + | + |
| BMEI1683 | F: ATGACGGGAAATGTCGCTTG R: GCCAATTAAGCGACGCAATC P: R6G-CGCGTGCAGTTCTCTTGCTGA-RTQ1 | _ | + | - | _ | + |
| BRA0367 | F: CAGTGCCGACCCACGAG R: GATTTCTAAGGCGCTGATTGC P: ROX-CGCCCTCTGTCTCGTCTCGGCC-BHQ2 | + | - | + | - | - |
| BRA0378 | F: AGCATTTCCTCGTACCCACA R: TGGGTCCACACATCATCGAA P: Cy5-CGCGCAAGACAACCCACAGC-BHQ2 | + | + | + | + | - |



Примечание: NA – нет амплификации.

Note: NA - no amplification

Рис. 2. Результаты амплификации выбранных локусов в мультилокусном формате при исследовании штаммов *B. suis* различных биоваров (учет результатов в режиме реального времени на термоциклере RotorGene Q)

Fig. 2. The results of amplification of selected loci in a multilocus format in the study of *B. suis* strains of various biovars (recording of results in real time mode on the RotorGene Q thermal cycler)

Таблица 3 / Table 3

Результаты определения специфичности разработанной мультилокусной ПЦР Suis-ДИФ

The results of determining the specificity of the developed multilocus PCR Suis-DIF

| | | C | | флуоресценци uorescence | R | Результаты исследования Research results | | |
|---------------------------------|------------------|--------|-------------------|----------------------------|-------------------|--|-------------|--|
| Штаммы Strains | Биовар Biovar | ' | лесь GO nix GO | , | лесь RY nix RY | Разработанная мультилокусная ПЦР Suis-ДИФ | | |
| | | BR0262 | BRA0367 | BMEI1683 | BRA0378 | Developed multilocus PCR | Suis-ladder | |
| | | Green | Orange | Yellow | Red | Suis-DIF | | |
| В. suis 1330, 31, 6, И-100, 463 | 1 | + + | | - | + | bv 1/3 | bv 1 | |
| B. suis Thomsen, И-99 | 2 | + | _ | + | + | bv 2 | bv 2 | |
| B. suis 686 | 3 | + | + | _ | + | bv 1/3 | bv 3 | |
| B. suis 40, 214-23 | 4 | + | - | - | + | bv 4 | bv 4 | |
| B. suis 513, C-445, 89, 470 | 5 | + | - | + | - | bv 5 | bv 5 | |
| B. suis C-450, C-451 | | + | _ | + | _ | bv 5 | н/и n/i | |

Примечание: bv – биовар, н/о – не определено, н/и – биовар не идентифицируется, поскольку при использовании системы Suis-ladder получен амплификационный профиль, не описанный в данном протоколе [6].

Note: by – biovar, n/d – not determined, n/i – biovar not identified, because when using the Suis-ladder system, an amplification profile was obtained that was not described in this protocol [6].

смеси-2 — по каналам JOE/HEX и Cy5/Quasar 670. При использовании амплификатора RotorGene Q по-казатели для учета результатов следующие: устранение выбросов — 10 %, Threshold/Порог по каналу FAM и Cy5 — 0,05, JOE и ROX — 0,1, коррекция уклона — не используется.

Чувствительность и специфичность муль*тилокусной ПЦР Suis-ДИФ*. Для определения чувствительности и специфичности предложенного подхода (Suis-ДИФ) исследовали штаммы бруцелл различных видов и биоваров (табл. 3). Установлено, что определение биоваров B. suis, выполненное с помощью предложенного протокола Suis-ДИФ, по большинству штаммов совпало с данными, полученными по протоколу Suis-ladder. Более того, удалось идентифицировать биовар у двух штаммов B. suis -С-450 и С-451, выделенных из органов лесной мыши в Малгобекском районе Республики Ингушетия, для которых определить биовар с помощью системы Suisladder не представлялось возможным. Полученный у них профиль амплификации (774/488/278/197 п.н.) не представлен в указанном протоколе [6]. Количество VNTR в локусе *BMEI0205* было наиболее близким, но не идентичным для штаммов *B. suis* 5-го биовара. При использовании ДНК-мишеней, предложенных нами, амплификационный профиль этих штаммов оказался идентичным профилю штаммов B. suis 5-го биовара. Это, с одной стороны, говорит о хорошей биовар-дискриминирующей способности предложенного подхода Suis-ДИФ, а с другой – о наличии нового VNTR-профиля для штаммов *B. suis* 5-го биовара.

Чувствительность разработанной мультилокусной ПЦР составила 1·10⁵ м.к./мл. При такой концентрации патогена во всех случаях вне зависимости от биоварной принадлежности наблюдалось образование флуоресцентных сигналов по соответствующим каналам.

Таким образом, предложен методический подход, обеспечивающий определение биоваров *B. suis* на основании выявления генов, расположенных в геномных островах IncP и GI-3, методом ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени. Результаты экспериментов и анализ имеющихся в базе данных GenBank NCBI нуклеотидных последовательностей бруцелл свидетельствуют о различиях в структурной организации и встречаемости данных островов у разных биоваров патогена. Для выполнения анализа разработана мультилокусная ПЦР Suis-ДИФ и подтверждена ее специфичность при исследовании штаммов B. suis из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий РосНИПЧИ «Микроб». Различия в структуре IncP и GI-3 островов у штаммов B. suis могут быть связаны с адаптацией патогена к определенным носителям: свиньи – 1-й и 3-й биовары, зайцы и кабаны – 2-й биовар, северные олени – 4-й биовар, мышевидные грызуны – 5-й биовар. Проведенные исследования расширяют и дополняют сведения о генетической неоднородности видов и биоваров бруцелл, что играет важную роль в понимании процесса персистенции возбудителя в макроорганизме и его эволюции.

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

Список литературы

1. Касьян Ж.А., Осина Н.А., Щербакова С.А. Разработка тест-системы для дифференциации видов бруцелл методом ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 3:47–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-47-51.

2. López-Goñi I., García-Yoldi D., Marín C.M., de Miguel M.J., Muñoz P.M., Blasco J.M., Jacques I., Grayon M., Cloeckaert A., Ferreira A.C., Cardoso R., Corrêa de Sá M.I., Walravens K., Albert D., Garin-Bastuji B. Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species, including

the vaccine strains. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(10):3484–7. DOI: 10.1128/JCM.00837-08.

3. López-Goñi I., García-Yoldi D., Marín C.M., de Miguel M.J. Barquero-Calvo E., Guzmán-Verri C., Albert D., Garin-Bastuji B. New Bruce-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of *Brucella suis* and the discrimination of *Brucella suis* and *Brucella canis*. *Vet. Microbiol.* 2011; 154(1–2):152–5. DOI: 10.1016/j.

canis. Vet. Microbiol. 2011; 154(1–2):152–5. DOI: 10.1016/j. vetmic.2011.06.035.

4. Probert W.S., Schrader K.N., Khuong N.Y., Bystrom S.L., Graves M.H. Real-time multiplex PCR assay for detection of Brucella spp., B. abortus, and B. melitensis. J. Clin. Microbiol. 2004; 42(3):1290–3. DOI: 10.1128/JCM.42.3.1290-1293.2004.

5. Redkar R., Rose S., Bricker B., DelVecchio V. Real-time detection of Brucella abortus, Brucella melitensis and Brucella suis. Mol. Cell. Probes. 2001; 15(1):43–52. DOI: 10.1006/mcpr.2000.0338.

6. Осина Н.А., Касьян Ж.А., Касьян И.А., Ляшова О.Ю., Осин А.В. Определение видовой принадлежности штаммов бруцелл из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий

осин А.В. Определение видовои принадлежности штаммов орущелл из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий «Микроб» с помощью амплификационных и рестрикционных технологий. Проблемы особо опасных инфекций. 2016; 4:69—74. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-69-74.

7. Касьян Ж.А., Осина Н.А., Касьян И.А. Способ определения видовой принадлежности возбудителя бруцеллеза методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени. Патент РФ № RU2621864C1, опубл. 07.06.2017. Бюл. № 16.

8. Mancilla M. The Brucella genomic islands. In Brucella: Molecular Microbiology and Genomics. López-Goñi I., O'Callaghan D., editors. Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2012. P. 36—57. DOI: 10.21775/9781913652531.

9. Paulsen I.T., Seshadri R., Nelson K.E., Eisen J.A., Heidelberg J.F., Read T.D., Dodson R.J., Umayam L., Brinkac L.M., Beanan M.J., Daugherty S.C., Deboy R.T., Durkin A.S., Kolonay J.F., Madupu R., Nelson W.C., Ayodeji B., Kraul M., Shetty J., Malek J., Van Aken S.E., Riedmuller S., Tettelin H., Gill S.R., White O., Salzberg S.L., Hoover D.L., Lindler L.E., Halling S.M., Boyle S.M., Fraser C.M. The Brucella suis genome reveals fundamental similarities between animal and plant pathogens and symbionts. Proc. Natl Acad. Sci. animal and plant pathogens and symbionts. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2002; 99(20):13148–53. DOI: 10.1073/pnas.192319099.

References

1. Kas'yan Z.A., Osina N.A., Shcherbakova S.A. [Development of the test-system for differentiation of *Brucella* species, using real-time PCR]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (3):47–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-47-51.

10.21055/05/0-1069-2016-3-47-51.

2. López-Goñi I., García-Yoldi D., Marín C.M., de Miguel M.J., Muñoz P.M., Blasco J.M., Jacques I., Grayon M., Cloeckaert A., Ferreira A.C., Cardoso R., Corrêa de Sá M.I., Walravens K., Albert D., Garin-Bastuji B. Evaluation of a multiplex PCR assay (Bruce-ladder) for molecular typing of all *Brucella* species, including the vaccine strains. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(10):3484–7. DOI: 10.1128/JCM.00837-08.

3. López-Goñi I., García-Yoldi D., Marín C.M., de Miguel M.J., Barquero-Calvo E., Guzmán-Verri C., Albert D., Garin-Bastuji B. New Bruce-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of New Bruce-ladder multiplex PCR assay for the biovar typing of Brucella suis and the discrimination of Brucella suis and Brucella canis. Vet. Microbiol. 2011; 154(1–2):152–5. DOI: 10.1016/j. vetmic.2011.06.035.

4. Probert W.S., Schrader K.N., Khuong N.Y., Bystrom S.L., Graves M.H. Real-time multiplex PCR assay for detection of Brucella spp., B. abortus, and B. melitensis. J. Clin. Microbiol. 2004; 42(3):1290–3. DOI: 10.1128/JCM.42.3.1290-1293.2004.

5. Redkar R., Rose S., Bricker B., DelVecchio V. Realtime detection of Brucella abortus, Brucella melitensis and Brucella suis. Mol. Cell. Probes. 2001; 15(1):43–52. DOI: 10.1006/mcpr.2000.0338.

6. Osina N.A., Kas'yan Z.A., Kas'yan I.A.. Lvashova O.Yii

6. Osina N.A., Kas'yan Z.A., Kas'yan I.A., Lyashova O.Yu., Osin A.V. [Determination of specific appurtenance of *Brucella* strains stored in the State Collection of Pathogenic Bacteria "Microbe", using amplification and restriction techniques]. *Problemy Osobol*

using amplification and restriction techniques]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (4):69–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-69-74.

7. Kas'yan Zh.A., Osina N.A., Kas'yan I.A. [A method for determining the specific appurtenance of the brucellosis agent using PCR with hybridization-fluorescence registration of results in real-time mode]. RF patent No. RU2621864C1, publ. 06/07/2017. Bull. No. 16.

Bull. No. 16.

8. Mancilla M. The *Brucella* genomic islands. In *Brucella: Molecular Microbiology and Genomics*. López-Goñi I., O'Callaghan D., editors. Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2012. P. 36–57. DOI: 10.21775/9781913652531.

9. Paulsen I.T., Seshadri R., Nelson K.E., Eisen J.A., Heidelberg J.F., Read T.D., Dodson R.J., Umayam L., Brinkac L.M., Beanan M.J., Daugherty S.C., Deboy R.T., Durkin A.S., Kolonay J.F., Madupu R., Nelson W.C., Ayodeji B., Kraul M., Shetty J., Malek J., Van Aken S.E., Riedmuller S., Tettelin H., Gill S.R., White O., Salzberg S.L., Hoover D.L., Lindler L.E., Halling S.M., Boyle S.M., Fraser C.M. The *Brucella suis* genome reveals fundamental similarities between animal and plant pathogens and symbionts. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2002; 99(20):13148–53. DOI: 10.1073/pnas.192319099.

Authors:

Osina N.A., Sitmbetov D.A., Domanina I.V., Bulgakova E.G., Kas'yan Zh.A., Kas'yan I.A., Lyashova O.Yu., Shcherbakova S.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Осина Н.А., Ситмбетов Д.А., Доманина И.В., Булгакова Е.Г., Касьян Ж.А., Касьян И.А., Ляшова О.Ю., Щербакова С.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-115-121

УДК 616.98:579.841.95

О.Л. Старцева, Ю.В. Богданова, Т.М. Гридина, С.А. Курчева, А.Г. Кошкидько, А.С. Степанищева

МЕНЕДЖМЕНТ РИСКА ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ И ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO* НАБОРА РЕАГЕНТОВ «ДИАГНОСТИКУМ ЭРИТРОЦИТАРНЫЙ АНТИГЕННЫЙ ТУЛЯРЕМИЙНЫЙ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫЙ»

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

Цель работы – применение менеджмента риска при производстве и использовании медицинских изделий для диагностики *in vitro* на примере экспериментальных серий набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный антигенный туляремийный лиофилизированный». **Материалы и методы.** В работе использовали экспериментальные серии набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный антигенный туляремийный лиофилизированный». Для проведения идентификации, оценки и анализа рисков относительно рассматриваемого медицинского изделия предложен и адаптирован в производственных условиях метод анализа видов и последствий потенциальных отказов (FMEA). Идентификацию рисков, связанных с производством и контролем медицинских изделий для диагностики *in vitro*, проводили с использованием технологического регламента, стандартных операционных процедур и производственных записей. **Результаты и обсуждение.** Основным результатом стала разработка системы корректирующих действий, направленной на снижение рисков и обеспечение регулярного мониторинга. Предложенные схемы проведения процесса менеджмента риска могут быть использованы как типовые при проектировании и разработке медицинских изделий для диагностики *in vitro* с учетом специфики каждого отдельного производства. Отчетные документы, разработанные в рамках системы, применимы при инспекционной проверке надлежащей производственной практики и в части комплектации регистрационного досье диагностического препарата с последующей регистрацией в системе здравоохранения Российской Федерации.

Ключевые слова: менеджмент риска, идентификация рисков, оценка рисков, корректирующие действия, медицинские изделия для диагностики *in vitro*.

Корреспондирующий автор: Старцева Ольга Леонидовна, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Для цитирования: Старцева О.Л., Богданова Ю.В., Гридина Т.М., Курчева С.А., Кошкидько А.Г., Степанищева А.С. Менеджмент риска при производстве и использовании медицинского изделия для диагностики *in vitro* набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный антигенный туляремийный лиофилизированный». Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:115—121. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-115-121

. Поступила 17.06.2020. Отправлена на доработку 28.09.2020. Принята к публ. 30.11.2021.

O.L. Startseva, Yu.V. Bogdanova, T.M. Gridina, S.A. Kurcheva, A.G. Koshkid'ko, A.S. Stepanishcheva

Risk Management in the Manufacturing and Use of the Medical Product for *in vitro* Diagnostics: Reagent Kit "Lyophilized Erythrocyte Antigenic Tularemia Diagnosticum"

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to implement the risk management strategies in the manufacturing and use of medical products for *in vitro* diagnostics by the example of the experimental series of the reagent kit "Lyophilized erythrocyte antigenic tularemia diagnosticum". Materials and methods. We tested experimental series of the reagent panel "Lyophilized erythrocyte antigenic tularemia diagnosticum". To carry out the identification, assessment and analysis of risks regarding the considered medical product, failure mode and effects analysis (FMEA) was proposed and adapted under production conditions. Identification of risks associated with manufacturing and control of medical products for *in vitro* diagnostics was carried out using technological regulations, standard operational procedures and manufacturing notes. Results and discussion. The main outcome of the study is the development of a corrective actions system aimed at reducing the risks and ensuring consistent monitoring. The proposed schemes for carrying out the risk management process can be used as standard ones in the design and development of medical products for *in vitro* diagnostics, taking into account the specifics of each individual manufacturing. The reporting documents developed within the framework of the system are applicable during the inspection of good manufacturing practice and in terms of completing the registration profile of a diagnostic product with subsequent registration in the healthcare system of the Russian Federation.

Key words: risk management, risk identification, risk assessment, corrective actions, medical products for in vitro diagnostics.

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

Corresponding author: Ol'ga L. Startseva, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Citation: Startseva O.L., Bogdanova Yu.V., Gridina T.M., Kurcheva S.A., Koshkid'ko A.G., Stepanishcheva A.S. Risk Management in the Manufacturing and Use of the Medical Product for in vitro Diagnostics: Reagent Kit "Lyophilized Erythrocyte Antigenic Tularemia Diagnosticum". Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:115–121. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-115-121

Received 17.06.2020. Revised 28.09.2020. Accepted 30.11.2021.

Startseva O.L., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5493-5296 Bogdanova Yu.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6607-1544 Gridina T.M., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7581-7179 Kurcheva S.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3564-0791 Koshkid'ko A.G., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6617-9504 Stepanishcheva A.S., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4135-5196 Контроль над инфекционными заболеваниями в Российской Федерации и разработка эффективных мер профилактики на сегодняшний день остаются одними из основных задач практического здравоохранения. Заболевание туляремией имеет международное значение, показатели заболеваемости на территории РФ, сопредельных государств и в мире в целом остаются стабильно высокими. Планирование и проведение профилактических мероприятий, направленных на предупреждение возникновения и распространения случаев заболевания туляремией среди людей, сохраняют свою актуальность [1, 2].

Лабораторная диагностика туляремии в комплексе санитарно-профилактических мероприятий включает в себя серологические исследования, эффективность которых во многом определяется качеством и диагностическими возможностями применяемых медицинских изделий для *in vitro* диагностики (МИ ИВД). Вопросы разработки и совершенствования технологий изготовления МИ ИВД, позволяющих в короткие сроки определить причину эпидемических осложнений и провести противоэпидемические мероприятия, также стоят на первом месте в области общественного здравоохранения [3–5].

ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора специализируется на производстве медицинских изделий для диагностики *in vitro*, предназначенных для выявления заболеваний, вызванных особо опасными инфекциями. В рамках плановой научной деятельности на постоянной основе проводится разработка новых иммунобиологических препаратов, совершенствуются существующие технологии с учетом их безопасности, эффективности и качества [6].

Биотехнология получения МИ для диагностики особо опасных инфекций и индикации их возбудителей *in vitro* сопряжена с использованием биологического сырья, что представляет существенный риск при их производстве и применении в лабораторной практике. Выявление и устранение ошибок на ранних этапах проектирования производства с помощью менеджмента риска является неотъемлемой частью процессов обеспечения качества, гарантирующей безопасность конечного продукта.

Применение менеджмента риска регламентировано стандартом ISO 14971:2011, который устанавливает процедуру определения опасностей, связанных с применением МИ (включая изделия для диагностики *in vitro*) для пациентов и пользователей, а также процедуры управления рисками и мониторинга результативности данного управления [7, 8]. Процесс менеджмента риска должен осуществляться производителями на протяжении всего жизненного цикла МИ ИВД — от формулирования входных данных до постпроизводственного наблюдения за выпускаемыми медицинскими изделиями. На этапе формулирования входных данных проведение менеджмента риска позволяет выявить потенциальные опасности, связанные с применением медицинского изделия [9, 10].

Цель работы – применение менеджмента риска при производстве и использовании медицинских изделий для диагностики *in vitro* на примере экспериментальных серий набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный антигенный туляремийный лиофилизированный».

Набор предназначен для диагностики туляремии и индикации ее возбудителя методом непрямой геммаглютинации (РНГА). Область применения набора — клиническая лабораторная диагностика. Потенциальный риск применения — класс 2б.

Материалы и методы

Менеджмент риска проводили в рамках научных исследований по разработке биотехнологии получения МИ ИВД набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный антигенный туляремийный лиофилизированный» (далее по тексту — набор) в соответствии с требованиями ГОСТ ISO 14971-2011 с использованием стандартизованного метода анализа видов и последствий потенциальных отказов (FMEA) [11, 12].

Результаты и обсуждение

Менеджмент риска применяли на всех стадиях жизненного цикла продукции, включающих производство, контроль, хранение и транспортировку, использование и утилизацию. Процесс менеджмента риска, как правило, состоит из пяти последовательных подпроцессов, начинать которые целесообразно с идентификации возможных опасностей, связанных с производством и использованием медицинского изделия; проведения анализа рисков, качественной и/или количественной оценки рисков, возникающих в результате опасностей; управления рисками; оценки результативности управления; отчета и совокупности записей по менеджменту риска [13, 14]. Для проведения процесса менеджмента была организована экспертная группа, включающая руководителя отдела качества и специалистов, обладающих специальными техническими знаниями, касающимися конкретного МИ ИВД (особенностей производства, технологических процессов и контроля качества).

Выявление потенциальных опасностей осуществляли на основе анализа работы с подобными видами медицинских изделий, учитывая собственный опыт изготовителя, нашедший отражение в технической и эксплуатационной документации. Это позволило выявить и идентифицировать риски, включая те из них, которые уже находятся под управлением.

Идентификацию рисков, связанных с производством и контролем МИ ИВД набора, проводили с использованием разработанных и утвержденных в установленном порядке промышленного регламента (ПР) и стандартных операционных процедур (СОП), а также производственных записей.

Анализировали общую блок-схему технологического процесса и раздел технологического контроля.

В разделе контроля ПР приведен перечень важнейших контрольных точек производства, влияющих на качество конечного продукта и обеспечивающих соблюдение установленного технологического режима. В понятие контрольной точки включены наименование стадии или операции производства и объекта контроля. Каждая контрольная точка указана с приведением наименования контролируемого показателя и применяемой единицы измерения, норматива контролируемого показателя с допустимыми отклонениями.

Биотехнология производства МИ ИВД набора состоит из пяти технологических процессов (ТП), каждый из которых включает ряд операций подготовительных и вспомогательных работ (ВР). Операции ВР в технологических процессах с ничтожно малой вероятностью возникновения опасностей в анализе не учитывались.

В результате анализа производства выделены девять критических контрольных точек по каждому отдельно учитываемому опасному фактору (табл. 1).

Очевидно, что рисковые ситуации присутствуют на всех этапах производственного процесса. Нарушения в выделенных контрольных критических точках оказывают существенное влияние на качество и безопасность готового продукта в целом. В результате определены возможные причины возникновения и последовательность событий по каждому опасному фактору производственного процесса и в совокупности записей документально отражены

в файле менеджмента риска. Для удобства проведения дальнейшего анализа данные риски объединены и идентифицированы как «Ошибки в технологическом процессе при производстве».

Рисковые ситуации, которые могут возникнуть при хранении и транспортировке, анализировали на основе протоколов и отчетов по изучению стабильности МИ ИВД набора при установлении срока годности и имитации условий транспортирования. Минимизация выявленных рисков может быть реализована внесением соответствующей информации в макет маркировки первичной и вторичной упаковок, что может способствовать и возникновению новых рисков.

Упаковка и маркировка являются важными элементами производства МИ ИВД. Значительное количество предъявляемых претензий и последующих отзывов продукции с рынка связаны с ошибками в процессе упаковки и несоответствием нанесенной на упаковку информации. Неоднозначность и неточность формулировок в маркировке и инструкции по применению могут привести к последствиям разной степени серьезности для потребителя. Анализ записей, подтверждающих выполнение контроля процесса упаковки и выявление опасных факторов на этом этапе, в свою очередь, минимизирует возникновение опасностей при использовании МИ ИВД в специализированной лаборатории.

Производство и контроль МИ ИВД связаны с использованием патогенных биологических агентов II группы, представляющих угрозу для здоровья обслуживающего персонала, а также с необходимостью обеспечения биологической безопасности при рабо-

Таблица 1 / Table 1

Контрольные критические точки на стадии производства Critical control points at manufacturing stages

| Стадия технологического процесса Process stage | Контрольная критическая точка Critical control point | Опасный фактор Hazard |
|--|--|---|
| ТП-1 – Получение антигена туляремийного микроба TP-1 – Obtaining of tularemia microbe antigen | K ₁ | |
| BP-1.1 – Выращивание биомассы AW-1.1 – Biomass cultivation | K ₂ | Наличие живых бактерий Francisella tularensis The presence of live bacteria of Francisella tularensis |
| BP-1.2 – Стерилизация биомассы AW-1.2 – Sterilization of biomass | K ₃ | |
| TП-2 – Получение диагностикума эритроцитарного TP-2 – Obtaining of erythrocytic diagnosticum | K_4 | Отсутствие специфической активности и специфичности. Отсутствие гомогенности Lack of specific activity and specificity. Lack of homogeneity |
| BP-2.1 – Получение формалинизированных эритроцитов AW-2.1 – Obtaining of formaldehyde treated red blood cells | K ₅ | Спонтанное склеивание эритроцитов. Spontaneous gluing of red blood cells |
| ТП-3 — Лиофилизация TP-3 — Lyophilization | K ₆ | Параметры лиофилизации. Возможность контаминации. Разгерметизация первичной упаковки |
| BP-3.1 – Розлив диагностикума в ампулы, герметизация (опай) AW-3.1 – Bottling of diagnosticum in ampoules, sealing (soldering) | K ₇ | Lyophilization parameters. The possibility of contamination. Primary package depressurization |
| ТП-4 – Маркировка и упаковка ТР-4 – Marking and packaging | K_8 | Текст маркировки. Целостность упаковки. Нарушение комплектности Labeling text. Packaging integrity. Violation of completeness |
| ТП-5 — Хранение, транспортировка ТР-5 — Storage, transportation | K ₉ | Температурный режим Temperature mode |

те в лаборатории. В связи с этим в первую очередь выделены опасные факторы, которые могут привести к возникновению опасных ситуаций и причинению вреда. Опасные факторы дифференцированы на биологические, химические и физические.

В результате мониторирования данных выявлено шесть категорий вероятных опасностей возникновения риска (R_1 – R_6), рассмотрены возможные причины их возникновения и последствия воздействия опасного фактора:

- ошибки в технологическом процессе при производстве набора (R_1) ;
 - ошибки при маркировке компонентов (R₂);
- нарушение правил хранения и транспортировки (\mathbb{R}_3);
- ошибки в рабочем ходе при использовании МИ ИВД (R_4);
- угроза для здоровья обслуживающего персонала при работе с МИ ИВД в диагностической лаборатории (R_5);
- опасность отходов, риск, связанный с обработкой отходов (R_6).

Для визуализации выделенных рисков использовали матрицу последствий и вероятностей (рисунок). Разработанная матрица дает представление, какой риск требует дальнейшего или более подробного анализа, какой риск необходимо обрабатывать в первую очередь, а какой следует рассматривать на более высоком уровне менеджмента. Входными данными

к процессу являются шкалы опасности и вероятности, установленные в соответствии с выделенными рисками. Вероятность возникновения каждого опасного фактора и уровень его опасности оценивали по пятибалльной шкале, с последующим выставлением экспертных оценок определения приемлемости или неприемлемости рисков.

Оценку опасности (S) располагали в порядке возрастания риска: очень небольшая (1), малая (2), серьезная (3), критическая (4), катастрофическая (5). Уровни вероятности (Р) в матрице установлены в порядке убывания: частая (5), вероятная (4), случайная (3), незначительная (2), невероятная (1).

Количественную оценку рисков проводили на основе вычисления коэффициента риска по формуле [15]:

$$Kr = S \cdot P$$

где Kr – коэффициент риска; S – уровень опасности возникновения риска; P – уровень вероятности возникновения риска.

В зависимости от величины Кг определяли категорию риска:

- Kr≤4 риск приемлемый, корректирующих мероприятий не требуется;
- $5 \le Kr \le 9$ риск допустимый, решение о проведении корректирующих мероприятий принимается в каждом конкретном случае;

| | | | | k | Сачественный уровень Qualitative hazard | * * | |
|--|------------------------------|---|-------------------------------|----------------|--|---------------------------------|----------------------------------|
| | | | очень небольшая very small | малая small | серьезная serious | критическая critical | катастрофическая catastrophic |
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| и | частая frequent | 5 | | | | | |
| вероятности y level (P) | вероятная probable | 4 | | R_2 | | | |
| овень (Р) вероятнос Probability level (Р) | случайная random | 3 | | R_6 | R ₁ , R ₃ | R ₄ , R ₅ | |
| Уровень | незначительная insignificant | 2 | | | | | |
| N | невероятная improbable | 1 | | | | | |

Примечание: категория рисков:

Note: risk category:

9≥Kr≥5

Kr≥10

Риск приемлемый. Риск можно принять без мер по исправлению, корректирующих мероприятий не требуется. **The risk is acceptable.** The risk can be taken without steps to remedy it; corrective measures are not required.

Риск допустимый и контролируемый. В производственные процессы необходимо ввести корректирующие меры для снижения риска. The risk is acceptable and manageable. Corrective measures must be introduced into production processes to reduce the risk.

Риск значимый. Выполнение работ запрещено, следует провести мероприятия по снижению риска до допустимого уровня. The risk is significant. Performance of activities is prohibited; measures should be taken to reduce the risk to an acceptable level.

Матрица последствий и вероятностей Consequences and probability matrix - Kr≥10 – риск значимый, корректирующие мероприятия необходимы.

К серьезному возникновению с уровнем случайной вероятности отнесены риски R_1 , R_3 . Риски R_2 , R_6 оценивались с малым уровнем опасности, возможным и случайным уровнем вероятности возникновения соответственно. Диапазон рисков показывает, что в производственные процессы необходимо ввести ряд корректирующих действий.

Риски, имеющие критический уровень опасности $(R_4,\ R_5)$, вошли в категорию значимых рисков и требуют проведения срочных мероприятий для снижения их экспертной оценки до приемлемого минимума.

Далее были выработаны корректирующие действия по каждому риску. Риски допустимого уровня $(R_1,\ R_2,\ R_3,\ R_6)$ после проведения корректирующих мероприятий переведены в категорию приемлемых путем осуществления межоперационных контролей. В табл. 2 приведены корректирующие действия для рисков $R_4,\ R_5$, имеющих значимый уровень. Как видно из таблицы, внедрение рекомендованных дей-

ствий позволит сократить риск путем проведения контролей параметров при выходе конечного продукта из процесса производства и перевести его из категории значимого в категорию допустимого.

Для оценки эффективности разработанных корректирующих действий, отслеживания выявленных рисков и идентификации новых проводится мониторинг рисков. Мониторинг и контроль над рисками, так же как и другие процессы управления рисками, являются непрерывными и происходят на протяжении всего жизненного цикла МИ ИВД. На этапе мониторинга производится пересмотр решения по принятию риска, а также наблюдение за выполнением принятых мер по их уменьшению или устранению. С целью систематизации записей и других документов, созданных в процессе менеджмента риска, разработан файл менеджмента риска (ФМР). В рамках файла соблюдена прослеживаемость для каждой идентифицированной опасности в процессе жизненного цикла рассматриваемого МИ ИВД. Для набора ФМР содержит пять основных разделов:

- описание и идентификация набора;

 ${\it Ta 6 mu ya \ 2 \ / \ Ta ble \ 2}$ Идентификация, причины возникновения, последствия значимых рисков и мероприятия по их снижению

| | Identification, causes, consequences of significant risks are | d measures to reduce them |
|---|---|---|
| № риска Risk No. | R_4 | R_5 |
| Опасность / Идентификация риска Hazard / Risk identification | Биологическая, химическая / Ошибки в рабочем ходе при использовании МИ ИВД Biological, chemical / Errors in the course of work when using MP for IVD | Биологическая / Угроза для здоровья обслуживающего персонала при работе с МИ ИВД в диагностической лаборатории Вiological / Threat to the health of the servicing personnel when working with MP for IVD in the diagnostic laboratory |
| Возможная причина возникновения риска Possible cause of risk occurrence | Непрофессиональный подход при использовании набора. Неквалифицированный персонал Non-professional approach when using the panel. Low-skilled staff | Нарушение требований действующих санитарных правил и инструкции по применению набора Violation of the requirements of current sanitary regulations and instructions for use to the kit |
| Возможные последствия воздействия риска Possible consequences of exposure to risk | Использование непредусмотренных для данного изделия видов анализируемого биологического материала. Несоблюдение условий хранения компонентов в процессе использования набора Usage of biological materials to be analyzed not designed for this product. Non-compliance with storage conditions when using the product | Незащищенный контакт с биологическим материалом, нарушение методики пробоподготовки, в том числе использование непредусмотренной для работы с набором Unprotected contact with biological material, violation of sample preparation methods, including the use of technique unintended for working with the kit |
| Оценка рисков Risk assessment | P3, S4, Kr12 | P3, S4, Kr12 |
| Корректирующие действия Corrective actions | Использование набора только квалифицированным персоналом в соответствии с инструкцией по применению производителя. Внесение в инструкцию по применению перечня допустимых видов биологических проб. Внесение в инструкцию по применению информации о сроках годности приготовленных для работы растворов Usage of the kit by qualified personnel only, in accordance with the manufacturer's instructions for use. Inclusion in the instructions for use regarding a list of permitted types of biological samples. Inclusion in the instructions for use of information on the expiration dates of solutions prepared for work | Указание отдельным разделом в инструкции по применению мер безопасности при работе с биологическим материалом A separate section in the instruction manual on the implementation of safety measures when working with biological material |
| Оценка рисков Risk assessment | P2, S4, Kr8 | P2, S4, Kr8 |

Примечание: Р – оценка вероятности возникновения риска; Ѕ – оценка опасности возникновения риска; Кг – коэффициент риска.

Note: P - assessment of the probability of risk occurrence; S - hazard assessment of the risk; Kr - risk coefficient.

- предусмотренное назначение и определение характеристик, относящихся к безопасности;
- идентификация опасностей и инициирующие их события (прогнозируемые, возможные);
- мероприятия по снижению рисков, верификация проведения и эффективности мероприятий;
 - оценивание совокупного остаточного риска;
- производственный и постпроизводственный мониторинг рисков.

Файл менеджмента риска является ключевым элементом при завершении разработки менеджмента риска и составляет неотъемлемую часть документального оформления процесса управления рисками.

Таким образом, проведены идентификация, оценка и анализ рисков, связанных с производством и применением МИ ИВД набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный антигенный туляремийный лиофилизированный», на протяжении всего жизненного цикла. Риски R_4 , R_5 , внесенные в категорию значимых (Kr≥10), после проведения корректирующих действий снижены до допустимого уровня. Управление данной категорией рисков основано на обеспечении постпроизводственного мониторинга и контроля проведения мероприятий. Принятые меры по управлению допустимыми рисками (R_1, R_2, R_3, R_6) способствовали снижению их экспертной оценки до категории приемлемых (Kr≤4). Согласно критериям, установленным в матрице последствий и вероятностей, польза от предусмотренного применения набора реагентов «Диагностикум эритроцитарный антигенный туляремийный лиофилизированный» превышает остаточный риск. Информация об остаточном риске учтена при разработке технической и эксплуатационной документации МИ ИВД, разработанной производителем.

Предложенные схемы проведения процесса менеджмента риска могут быть использованы как типовые при проектировании и разработке МИ ИВД с учетом специфики каждого отдельного производства. Отчетные документы, разработанные в рамках системы, применимы при инспекционной проверке надлежащей производственной практики и в части комплектации регистрационного досье диагностического препарата с последующей регистрацией в системе здравоохранения Российской Федерации.

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

Список литературы

1. Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Холин А.В., Мазепа А.В., Куликалова Е.С., Транквилевский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Эпизоотолого-эпидемиологическая храмов М.Б., Дяльов И.А. Энизонолого-эпидемиологическая ситуация по туляремии на территории Российской Федерации в 2019 г. и прогноз на 2020 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 1:21–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-21-32.

2. Burnett M.W. Tularemia. J. Spec. Oper. Med. 2016;

3. Старцева О.Л., Курчева С.А. Прогнозирование сроков годности иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих туляремийных сухих. *Здоровье населения и среда обитания*. 2019; 2:56–60. 4. Ryan K.J., Ray C.J. Sherris Medical Microbiology: an Introduction to Infectious Diseases. 4th ed. New York, USA:

McGraw-Hill; 2004. 992 p.

5. Splettstoesser W.D., Tomaso H., Dahouk S.Al., Neubauer H., Schuff-Werner P. Diagnostic procedures in tularemia with special focus on molecular and immunological techniques. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health.* 2005; 52(6):249–61. DOI: 10.1111/ j.1439-0450.2005.00863.x.

6. Тюменцева И.С., Афанасьев Е.Н., Курчева С.А., Гаркуша Ю.Ю., Семирчева А.А., Старцева О.Л., Жданова Е.В. Оптимизация системы контроля биотехнологии производства медицинских иммунобиологических препаратов, выпускаемых «Ставропольский противочумный институт» тотребнадзора. Современные прогламы науки и образования. 2014; 6. [Электронный ресурс]. URL: http://science-education.ru/ru/article/view?id=16655 (дата обращения 17.06.2020). 7. Эмануэль А.В., Иванов Г.А., Гейне М.Д. Применение менеджмента рисков на основе стандарта ИСО 14971:

методические подходы. Вестник Росздравнадзора. 2013; 3:45–59.

8. Гирш Т.А. Анализ рисков при производстве лекарст-

 8. Гирії Г.А. Анализ рисков при производстве лекарственных средств. Методы оценки соответствия. 2013; 5:22—4.
 9. Бурова Е.Д., Ходько С.В., Гущина С.В., Макарова М.Н., Макаров В.Г. Управление рисками для обеспечения качества доклинических исследований лекарственных средств. Ведомости Научного центра экспертиза средств медицинского применения Регуляторные исследования и экспертиза лекарственменения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарствен-

менения. Гезульторные исслеоования и экспертиза лекарственных средств. 2017; 7(1):25–32.

10. Горюнова Л. Менеджмент риска. Ремедиум. 2011; 7:16–23.

11. Эмануэль А.В., Иванов Г.А., Черничук О.В., Эмануэль В.Л., Эмануэль Ю.В., Светалкина Е.Д. Менеджмент рисков как

основа системы менеджмента качества медицинской лаборатории. *Ремедиум Приволжье*. 2016; 4:27–31.

12. Приймак Е.В., Николаева Н.Г. Применение метода FMEA при анализе экологических рисков фармацевтического предприятия. *Методы менеджмента качества*. 2011; 11:22–30.

13. Береговых В.В., Спицкий О.Р. Применение подхода, основанного на рисках, для определения критических факто-

ров при переносе технологии в производстве лекарственных средств. *Вестник РАМН*. 2014; 9–10:117–22. 14. Дилай Н.В., Калынюк Т.Г. Управление рисками для ка-

чества по содержанию бактериальных эндотоксинов при произ-

водстве лекарственных средств для парентерального применения. Вестник фармации. 2015; 3:11–6.

15. Трохимчук В.В., Убогов С.Г., Загорий В.А. Методологические подходы к управлению рисками для качества в аптечных учреждениях. Рецепт. 2018; 6:872–82.

References

1. Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Kholin A.V., Mazepa A.V., Kulikalova E.S., Trankvilevsky D.V., Khramov M.V., Dyatlov I.A. [Epidemiological and epizootiological situation on tularemia in Russia and neighboring countries in 2019, the forecast for 2020]. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; (1):21–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-21-32.

2. Burnett M.W. Tularemia. J. Spec. Oper. Med. 2016; 16(4):71–3.

3. Startseva O.L., Kurcheva S.A. [Prediction of shelf life of diagnostic dry fluorescent tularemia immunoglobulins]. Zdorovie Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment] 2019; (2):56–60.

2019; (2):56–60.

4. Ryan K.J., Ray C.J. Sherris Medical Microbiology: an Introduction to Infectious Diseases. 4th ed. New York, USA: McGraw-Hill; 2004. 992 p.

5. Splettstoesser W.D., Tomaso H., Dahouk S.Al., Neubauer

S. Splettstoesser W.D., Tomaso H., Dahouk S.Al., Neubauer H., Schuff-Werner P. Diagnostic procedures in tularemia with special focus on molecular and immunological techniques. *J. Vet. Med. B. Infect. Dis. Vet. Public Health.* 2005; 52(6):249–61. DOI: 10.1111/j.1439-0450.2005.00863.x.

6. Tyumentseva I.S., Afanas'ev E.N., Kurcheva S.A., Garkusha Yu.Yu., Semircheva A.A., Startseva O.L., Zhdanova E.V. [Optimization of the biotechnology control system for the production of medical immunobiological preparations manufactured by the Federal Healthcare Institution "Stavropol Anti-Plague Institute" of Rospotrebnadzor]. *Sovremennye Problemy Nauki i Obrazovaniya [Modern Problems of Science and Education]*. 2014; 6. (Cited 17 June 2020). [Internet]. Available from: http://science-education.ru/ru/article/view?id=16655.

7. Emanuel A.V., Ivanov G.A., Geyne M.D. [Application of risk management system based on ISO 14971: methodological approaches]. *Vestnik Roszdravnadzora [Bulletin of the Federal Service for Healthcare Surveillance (Roszdravnadzor)]*. 2013; (3):45–59.

8. Hirsh T.A. [Risk analysis in the manufacture of medicines]. *Metody Otsenki Sootvetstviya [Conformity Assessment Methods]*. 2013; (5):22–4.

9. Burova E.D., Khod'ko S.V., Gushchina S.V., Makarova M.N., Makarov V.G. [Risk management for quality assurance of preclinical research]. Vedomosti Nauchnogo Tsentra Ekspertizy Sredstv Meditsinskogo Primeneniya. Regulyatornye Issledovaniya i Ekspertiza Lekarstvennykh Sredstv [Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation]. 2017; 7(1):25-32.

10. Goryunova L. [Risk management]. Remedium [Remedium]. 2011; (7):16–23.
11. Emanuel A.V., Ivanov G.A., Chernichuk O.V., Emanuel V.L., Emanuel Yu.V., Svetalkina E.D. [Risk management as the ba-

V.L., Emanuel Yu.V., Svetalkına E.D. [Risk management as the basis of a medical laboratory quality management system]. Remedium Privolzh'e [Volga River Region Remedium]. 2016; (4):27–31.

12. Priymak E.V., Nikolaeva N.G. [Application of the FMEA method in the analysis of environmental risks of a pharmaceutical company]. Metody Menedzhmenta Kachestva [Quality Management Methods]. 2011; (11):22–30.

13. Beregovykh V.V., Spitsky O.R. [Using a risk-oriented approach to identify critical factors in technology transfer in the manufacture of medicines]. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk. [Bulletin of RAMS]. 2014; (9–10):117–22.

14. Dilai N.V., Kalynyuk T.G. [Quality risk management by the content of bacterial endotoxins in the manufacture of drugs for parenteral use]. Vestnik Farmatsii [Bulletin of Pharmacy]. 2015;

(3):11–6. 15. Trokhimchuk V.V., Ubogov S.G., Zagory V.A. [Methodological approaches to quality risk management in pharmaceutical institutions]. *Retsept [Recipe]*. 2018; (6):872–82.

Authors:

Startseva O.L., Bogdanova Yu.V., Gridina T.M., Kurcheva S.A., Koshkid'ko A.G., Stepanishcheva A.S. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Старцева О.Л., Богданова Ю.В., Гридина Т.М., Курчева С.А., Кошкидько А.Г., Степанищева А.С. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-122-133

УДК 616.9:614.3(7/8)

С.К. Удовиченко 1 , Д.Н. Никитин 1 , Н.В. Бородай 1 , А.В. Иванова 2 , Е.В. Путинцева 1 , Д.В. Викторов 1 , А.В. Топорков 1 , А.А. Костылева 2

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ АМЕРИКАНСКОГО РЕГИОНА, АКТУАЛЬНЫЕ В ПЛАНЕ НАДЗОРА И КОНТРОЛЯ НА ГЛОБАЛЬНОМ УРОВНЕ

¹ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация;
²ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Цель - информационно-аналитическая оценка эпидемиологической обстановки по инфекционным болезням, потенциально или реально опасным в плане возникновения чрезвычайной ситуации санитарноэпидемиологического характера, в Американском регионе. Материалы и методы. В работе использованы официальные отчеты ВОЗ, Панамериканского бюро ВОЗ, Центров по контролю и профилактике заболеваний, министерств здравоохранения стран, данные информационного портала ProMED, Глобальной сети по эпидемиологии инфекционных заболеваний, опубликованные научные труды. Результаты и обсуждение. На модели Американского региона установлены региональные эпидемиологические особенности, включая эндемичность (энзоотичность) территорий по наиболее актуальным нозологиям и интенсивность проявлений эпидемического процесса. Показано, что основные эпидемиологические риски в странах Центральной. Южной Америки и Карибского бассейна связаны с лихорадками денге, Зика, чикунгунья, характеризующимися широким территориальным распространением и способностью вызывать масштабные эпидемические вспышки, а в странах Северной Америки – с лихорадкой Западного Нила. В число других инфекций, требующих настороженности на международном уровне, отнесены: холера, дважды вызывавшая за период седьмой пандемии эпидемии заносного происхождения, изменившие структуру мировой заболеваемости; чума, проявляющаяся ежегодной заболеваемостью, в том числе с осложнением легочной формой, что определяет повышенную потенциальную опасность к антропонозному распространению; малярия, демонстрирующая тенденцию к росту заболеваемости и числа внутриконтинентальных заносов; желтая лихорадка, характеризующаяся активизацией природных очагов и расширением территорий потенциальной передачи возбудителя. Полученные данные могут служить основой для оценки рисков заноса инфекционных болезней из Американского региона на благополучные территории, совершенствования эпидемиологического прогнозирования, обоснованности принятия управленческих решений при проведении санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий.

Ключевые слова: Американский регион, эпидемиологический риск, эпидемиологическая ситуация, арбовирусные лихорадки, чума, холера, малярия, обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия.

Корреспондирующий автор: Удовиченко Светлана Константиновна, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Для цитирования: Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Иванова А.В., Путинцева Е.В., Викторов Д.В., Топорков А.В., Костылева А.А. Инфекционные болезни Американского региона, актуальные в плане надзора и контроля на глобальном уровне. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 2:122–133. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-122-133

Поступила 17.12.2021. Принята к публ. 17.01.2022.

S.K. Udovichenko¹, D.N. Nikitin¹, N.V. Boroday¹, A.V. Ivanova², E.V. Putintseva¹, D.V. Viktorov¹, A.V. Toporkov¹, A.A. Kostyleva²

Infectious Diseases in the Americas Region that Are Relevant to the Global Surveillance and Control

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

Abstract. The aim of the work was information-analytical assessment of the epidemiological situation on infectious diseases that are potentially or truly dangerous in terms of occurrence of emergencies of sanitary-epidemiological nature in the Region of Americas. Materials and methods. The study was based on the official reports of the WHO, the Pan American Health Organization, the Centers for Disease Control and Prevention, the national Ministries of Health, data from the ProMED information portal, the Global Network for the Epidemiology of Infectious Diseases, and published scientific papers. Results and discussion. By the model of the Americas, regional epidemiological features have been established, including the endemicity (enzooticity) of territories according to the most relevant nosological forms and the intensity of the epidemic process manifestations. It is shown that the main epidemiological risks in the countries of Central, South America and the Caribbean are associated with dengue, Zika, Chikungunya fevers characterized by a wide territorial dissemination and the ability to cause large-scale epidemic outbreaks, in the countries of North America – West Nile fever. Other infections of international concern include: cholera, that twice caused epidemics of imported origin during the seventh pandemic, which changed the structure of world morbidity; plague, manifested in an annual incidence, including with a complication by the pneumonic form, which determines an increased potential danger of anthropogenic spread; malaria, demonstrating an upward trend in morbidity and the number of intra-continental imported cases; yellow fever, characterized by the activation of natural foci and the expansion of the territories of potential pathogen transmission. The data obtained can serve as a basis for assessing the risks of infectious disease introduction from the American Region into safe territories, improving epidemiological forecasting and validity in making managerial decisions when conducting sanitary and anti-epidemic (preventive) measures.

²Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Key words: American Region, epidemiological risk, epidemiological situation, arboviral fevers, plague, cholera, malaria, sanitary-epidemiological welfare.

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

Corresponding author: Svetlana K. Udovichenko, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Citation: Udovichenko S.K., Nikitin D.N., Boroday N.V., Ivanova A.V., Putintseva E.V., Viktorov D.V., Toporkov A.V., Kostyleva A.A. Infectious Diseases in the Americas Region that Are Relevant to the Global Surveillance and Control. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 2:122–133. [In Russian]. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-122-133

Received 17.12.2021. Accepted 17.01.2022.

Udovichenko S.K., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8682-1536 Nikitin D.N., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6940-0350 Boroday N.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2076-5276 Ivanova A.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4849-3866 Putintseva E.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9368-6165 Viktorov D.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2722-7948 Toporkov A.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3449-4657 Kostyleva A.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8741-5756

В современный период вопросы осуществления санитарно-эпидемиологической безопасности приобретают особую актуальность в связи с неуклонным ростом спектра эпидемиологических угроз и вызовов, происходящих от актуальных, новых (неизвестных), возвращающихся инфекционных болезней с потенциалом эпидемического и пандемического распространения. Только за последние два десятилетия мировое сообщество стало свидетелем неоднократного выхода эпидемиологической ситуации из-под контроля с развитием чрезвычайной ситуации (ЧС) в области общественного здравоохранения международного значения, дважды достигшей параметров пандемии [1]. В связи с этим необходимым условием для выявления наиболее ранних и опасных предпосылок осложнения эпидемиологической обстановки, прогнозирования рисков заноса болезней и предупреждения их реализации, в том числе на территории Российской Федерации, является проведение перманентного мониторинга инфекционной заболеваемости в мире в разрезе отдельных стран и регионов. Работа по изучению региональной инфекционной патологии, прежде всего определенной территориальной приуроченности и особенностей течения эпидемического процесса инфекционных болезней с потенциалом глобального распространения, успешно выполнена на моделях Восточно-Средиземноморского и Европейского регионов [2].

настоящего исследования Целью информационно-аналитическая оценка эпидемиологической обстановки по инфекционным болезням, потенциально или реально опасным в плане возникновения ЧС санитарно-эпидемиологического характера, в Американском регионе. Напомним, что этот регион включает более 50 стран и зависимых территорий, расположенных в Северной, Центральной и Южной Америке, а также на островах в бассейне Карибского моря. Актуальность анализа эпидемиологической конъюнктуры в данном регионе определяется его вкладом в неблагополучие в мире по таким арбовирусным инфекциям, как желтая лихорадка, лихорадки денге, Западного Нила, Зика, ситуация в отношении последней из которых классифицирована Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) как ЧС, наличием активных природных очагов чумы с ежегодной заболеваемостью, а также имевших место за время седьмой пандемии холеры крупномасштабных эпидемий, кардинально изменивших

мировую структуру заболеваемости и поставивших вопрос о начале нового этапа в ее развитии.

Материалы и методы

Основной метод исследования – эпидемиологический. Сведения об инфекционной заболеваемости в Американском регионе проанализированы за период 1990-2021 гг. При составлении обзора использованы официальные отчеты ВОЗ, Панамериканского бюро ВОЗ, Центров по контролю и профилактике заболеваний (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), данные информационного портала ProMED, Глобальной сети по эпидемиологии инфекционных заболеваний (Global Infectious Disease Epidemiology Network, GIDEON), статистические отчетные данные министерств здравоохранения стран, опубликованные научные труды. Интенсивные показатели заболеваемости (таблица) рассчитаны на основании оценочных данных Департамента по экономическим и социальным вопросам ООН (отдел народонаселения) о численности населения в странах Америки [3].

Результаты и обсуждение

Данные о распространенности и заболеваемости инфекционными болезнями, ассоциированными с риском возникновения ЧС, в отдельных странах региона (с учетом доступности данных) систематизированы в таблице.

Чума. Природные очаги чумы описаны на Северо-Американском континенте (Канада, США, Мексика), в шести странах Южной и Центральной Америки (Аргентина, Венесуэла, Эквадор, Бразилия, Боливия и Перу), а также на Гавайских островах [4-6]. По мнению большинства исследователей, чума занесена крысами в Южную Америку в 1899 г. [6], а в Северную – в 1900 г., поскольку нет убедительных доказательств ее более ранних проявлений в странах Нового Света. Это предположение подтверждают результаты филогенетического анализа, свидетельствующие о принадлежности выделенных в Западном полушарии штаммов к восточному биовару чумного микроба, ответственному за третью пандемию чумы. В портовых городах болезнь активно проявляла себя до начала 1940-х гг., преимущественно в бубонной форме. С 1902 г. стали регистрироваться случаи заболевания чумой как резуль-

Среднемноголетние показатели на 100 тыс. населения по актуальным инфекциям в странах Американского региона (1990–2021 гг.) и эндемичность территории

Average long-term annual incidence rates per 100 thousand population for relevant infectious diseases in the countries of the American Region for the period of 1990–2021 and endemicity of the territory

| Страна Country | Чум Plagi | | Холе Chole | | Маляј Mala | | Лихора дені Dengue | re | Лихора Западн Нил West N feve | юго a Vile | Лихора Зик Zika fe | a | Желт лихора Yellow | ідка | Лихора чикунг Chikung feve | унья gunya |
|---|--------------|----|---------------|----|---------------|----|--------------------------|----|---|------------------|--------------------------|---|--------------------------|------|-------------------------------------|---------------|
| | ИП / ІІ | N | ИП / П | N | ИП / ІІ | N | ИП / ІІ | N | ИП / ІІ | N | ИП / ІІ | N | ИП / ІІ | N | ИП / ІІ | N |
| Аргентина / Argentina | | | 1,9 | 7 | 0,89* | 29 | 16,4"' | 23 | 0,007 | 4 | 0,3 | 4 | 0,02 | 1 | 8,5 | 1 |
| Белиз / Belize | | | 22,7 | 8 | 655,2"' | 30 | 507,3′′′ | 26 | / / | | 115,4 | 4 | | | 184,4′′′ | 5 |
| Боливия / Bolivia | 0,01 | 6 | 70,4 | 8 | 215,3" | 31 | 220,7''' | 32 | 0,009 | 1 | 7,4''' | 7 | 0,17 | 26 | 30,1′′′ | 7 |
| Бразилия / Brazil | 0,004 | 9 | 6,7 | 13 | 197,4′′′ | 31 | 311,2" | 32 | 0,0009 | 4 | 30,3"' | 7 | 0,05''' | 31 | 67,5''' | 8 |
| Венесуэла / Venezuela | | | 3,1 | 8 | 367,3" | 31 | 130,6′′′ | 32 | / / | | 30,4 | 6 | 0,01 | 9 | 8,8′′′ | 8 |
| Гаити / Haiti | | | 766,8 | 10 | 224,1′′′ | 28 | 0,92 | 6 | 0,02 | 1 | 4,1 | 4 | | | 73,7 | 4 |
| Гайана / Guyana | | | 42,7 | 2 | 3467,6"" | 31 | 43,6′′′ | 23 | | | 2,2 | 2 | | | 1202,7 | 3 |
| Гватемала / Guatemala | | | 52,4 | 13 | 159,5" | 31 | 61,2"" | 32 | / / | | 8,7''' | 7 | | | 28,8"" | 8 |
| Гондурас / Honduras | | | 23,5 | 11 | 330,4"" | 31 | 288,1"' | 32 | | | 48,08 | 7 | | | 125,9"' | 7 |
| Доминика / Dominika | | | | | | | 144,7 | 27 | | | 1725,4 | 1 | | | 1892,5 | 3 |
| Доминиканская Республика / Dominican Republic | | | 32,7 | 10 | 15,3"' | 31 | 52,01''' | 30 | // | | 7,5 | 2 | | | 1748,6 | 3 |
| Канада / Canada | | | 0,007 | 3 | | | | | 0,93''' | 20 | | | | | | |
| Колумбия / Colombia | | | 11,2 | 9 | 261,8"" | 31 | 120,5" | 32 | / / | | 32,1"' | 7 | 0,01 | 23 | 67,3"' | 7 |
| Коста-Рика / Costa Rica | | | 0,5 | 6 | 42,7 | 31 | 292,8"' | 29 | / / | | 30,8′′′ | 6 | | | 408,9"' | 8 |
| Куба / Cuba | | | 1,6 | 4 | | | 9,1"' | 14 | 0,01 | 2 | 3,3 | 4 | | | 1 | 2 |
| Мексика / Мехісо | | | 1,9 | 19 | 6,1′′′ | 31 | 63,1"' | 32 | 0,002 | 3 | 1,4 | 7 | | | 1,07 | 8 |
| Никарагуа / Nicaragua | | | 69,2 | 10 | 331,2"' | 31 | 468,5" | 32 | / / | | 3,8 | 6 | | | 154,9"' | 7 |
| Панама / Рапата | | | 47,04 | 3 | 34,2"' | 31 | 108,2"' | 29 | / / | | 29,4 | 5 | | | 18,3 | 5 |
| Парагвай / Paraguay | | | 0,07 | 3 | 20,5* | 28 | 399,9"' | 23 | | | 2,7 | 7 | 0,4 | 1 | 12,7"' | 8 |
| Перу / Реги | 0,18 | 27 | 235,9 | 12 | 276,3" | 31 | 55,6"' | 32 | | | 4,7 | 6 | 0,2 | 32 | 12,1"' | 8 |
| Сальвадор / El Salvador | | | 55,4 | 9 | 22,1* | 30 | 220,9"' | 32 | / / | | 31,3"' | 6 | | | 76,7''' | 8 |
| Суринам / Suriname | | | 2,8 | 1 | 983,8"' | 31 | 73,04"" | 27 | | | 88,1 | 6 | 0,17 | 1 | 131,4 | 4 |
| CIIIA / USA | 0,02 | 32 | 0,0005 | 13 | | | 0,01 | 12 | 7,2"' | 23 | 0,03 | 2 | | | 0,002 | 2 |
| Тринидад и Тобаго / Trinidad and Tobago | | | | | | | 96''' | 29 | / / | | 52,4 | 1 | | | 46,8 | 2 |
| Уругвай / Uruguay | | | | | | | 2,5 | 2 | | | | | | | | |
| Чили / Chile | | | 0,1 | 7 | | | | | | | | | | | | |
| Эквадор / Ecuador | 0,1 | 1 | 55,6 | 13 | 185,4"' | 31 | 70,7''' | 32 | / / | | 5,6 | 4 | 0,02 | 12 | 20,1 | 7 |

Примечание: ИП – интенсивный показатель; N – число лет регистрации.

Note: II – intensive indicator; N – the number of years of case registration.

- наличие в стране энзоотичной территории или природных очагов, данных о заболеваемости нет;

 the presence of enzootic territory or natural foci in the country, there is no data on morbidity;
 регистрация спорадической заболеваемости людей в отдельные годы;
 registration of sporadic human cases of the disease in certain years;
 вспышки в отдельные годы;
 outbreaks in certain years;
 вспышки практически ежегодно;
 outbreaks almost every year;
 только серологические данные или данные о вывозе болезни из страны;
 only serological data or data on the exportation of the disease from the country;
- развитие эпидемических осложнений в результате завозов болезни;
- развитие эпидемических осложнении в результате завозов оолезни,
 the development of epidemic complications as a result of the importation of the disease;
- местная передача прекращена.
 - local transmission stopped.

тат эпизоотий среди местных диких грызунов. При этом наблюдались спорадические случаи бубонной чумы в пределах энзоотичных районов с переходом в локальные вспышки при возникновении вторичных легочных форм. Особенностью клинических проявлений чумы в Бразилии и Эквадоре стало преобладание бубонной чумы с легким течением (pestis minor, амбулаторная форма) и низкой летальностью [4].

Северо-Американском континенте стоянная эпизоотическая и эпидемическая активность установлена в отношении очагов чумы, расположенных на территории США и охватывающих 15 штатов страны. В 1990-2021 гг. в США зарегистрировано от 1 до 17 случаев ежегодно, в среднем – 7 случаев (общее число заражений составило 201, из них летальных – 24 [11,9 %]). Случаи заболевания приурочены к сельским районам западной и югозападной части страны, наибольшее их количество отмечено на севере штатов Нью-Мексико и Аризона, юге Колорадо и Орегона, а также в Калифорнии, Неваде и Юте. Более 80 % случаев в США приходятся на бубонную форму, около 8 % - легочную, часто обусловленную контактом с домашними кошками и собаками. Вспышки легочной чумы не регистрировались с 1925 до 2014 г., когда сообщалось о четырех случаях легочной формы, один из которых, вероятно, произошел при передаче возбудителя от человека к человеку. В Канаде энзоотичны по чуме провинции Саскачеван и Альберта, а также юг Британской Колумбии. Отсутствие здесь заболеваний чумой у людей в прошлом и настоящем позволяет предположить, что эпизоотии среди диких грызунов здесь возникают редко и они непродолжительны. Последние опубликованные данные, подтверждающие циркуляцию возбудителя среди грызунов (Cynomys ludovicianus), относятся к 2010 г. [7]. В Мексике природно-очаговая территория охватывает северные пустынные районы (штат Коауила), приграничные с США. Вспышки заболеваний людей в Мексике происходили в период с 1902 по 1924 год (всего 950 случаев), после чего случаи заражения чумой не регистрировались [4]. Единичные находки возбудителя чумы у грызунов в Мексике, вероятно, объясняются практически полной неизученностью природных очагов этой инфекции. На Гавайских островах эпизоотические проявления болезни в популяциях местных полевых крыс регистрировались до 1957 г., а случаи заболевания людей – до 1950 г.

В Южной Америке высокая эпидемическая активность отмечена в природных очагах чумы Перу, расположенных в северной и центральной частях. Заболевания наблюдаются в северо-западных регионах: Пьюра, Кахамарка, Ламбаеке и Ла-Либертад. Самые крупные вспышки чумы за анализируемый период произошли в 1993 г. (611 случаев, 31 смерть) и в 1994 г. (420 случаев, 19 смертей), а в последнее десятилетие — в 2013 г. (24 случая, из них 6 — легочной формы, 2 — летальных). С 2019 г. официальные сообщения о случаях заболевания чумой в Перу не поступали. Всего на территории этой страны в 1990—

2021 гг., по данным ВОЗ, выявлено 1610 случаев, 71 - с летальным исходом (4,4 %). Энзоотичная по чуме территория в Боливии простирается на юговостоке страны (департаменты Чукисака, Санта-Крус и Тариха). За период 1990-2021 гг. вспышки чумы зарегистрированы в 1990 г. (10 случаев, 2 смерти) и 1996 г. (26 случаев, 4 смерти), после чего сообщалось о спорадических случаях в 1997, 2010, 2018 гг. (по 1 случаю с летальным исходом), 2014 г. (2 случая, из них 1 летальный) преимущественно в приграничном с Перу департаменте Ла-Пас. В Эквадоре природные очаги чумы обнаружены в центральной, южной и западной части страны (провинции Манаби, Чимборасо, Тунгурауа, Лоха и Эль-Оро). По данным ВОЗ, за анализируемый период здесь отмечена одна вспышка легочной чумы (все 14 больных умерли) в феврале - марте 1998 г. в провинции Чимборазо, возникшая на фоне полного эпидемиологического благополучия в течение 12 лет. В 2004 г., согласно ProMED-mail, выявлено три летальных случая чумы, не представленных в официальной статистике. В Бразилии природная очаговость установлена в северо-восточных районах и, возможно, на западной окраине, прилегающей к неблагополучным территориям Боливии. Заболеваемость в Бразилии регистрировалась практически ежегодно до начала XXI столетия, преимущественно в штатах Сеара и Параиба. Последние два случая отмечены в 2000 г. в штате Баия. В ряде эндемичных стран Южной Америки природные очаги чумы остаются малоизученными, как и причины их низкой эпизоотической и эпидемической активности. Случаи заболевания чумой в Аргентине не регистрируются с 1959 г., Венесуэле – с 1964 г. В качестве причины этого явления в Аргентине ряд авторов указывает на антропогенное преобразование природно-очаговых территорий, что привело к сокращению их площади в пределах слабо освоенных горных ландшафтов [4].

В целом в пяти странах Америки с 1990 по 2021 год зарегистрировано 1945 случаев чумы, что составило 3,4 % от заболеваемости в мире, и 118 смертельных исходов (6,1%). Наибольший вклад в неблагополучие по чуме вносит Перу, где диагностировано 82,8 % от всех случаев. В регионе наблюдается тенденция снижения заболеваемости: совокупное число больных в 2010–2019 гг. снизилось в 12,2 раза по сравнению с 1990–1999 гг. и 1,9 раза – 2000–2009 гг. Несмотря на спорадическую заболеваемость в странах Америки, регистрируются случаи осложнения бубонной чумы легочной формой, что определяет повышенную потенциальную опасность к антропонозному распространению. Этому способствуют в первую очередь недоработки в осуществлении эпидемиологического надзора, ориентированного на выявление больных чумой людей без мониторирования эпизоотической обстановки.

Холера. Появление холеры в Американском регионе в 1991 г. после практически ста лет эпидемиологического благополучия обозначило новый период седьмой пандемии. Вспышка холеры, начав-

шаяся в январе 1991 г. на тихоокеанском побережье Перу, вероятно, вследствие заноса возбудителя с Африканского континента, приобрела характер крупномасштабной эпидемии, затронувшей к концу года 15 стран Латинской Америки [8]. За период 1991—1996 гг. эпидемические проявления болезни отмечены в 21 стране с регистрацией около 1,2 млн случаев заболеваний и 12 тыс. смертей. Свободными от холеры оставались только острова Карибского бассейна и Уругвай. Пик эпидемии пришелся на 1991 г., когда выявлено 391220 случаев, из них в Перу — 82,4 %.

В структуре заболеваемости холерой в мире удельный вес государств Центральной и Южной Америки резко возрос и составил 54 % от всех случаев в 1991 г., в 1992 г. – 71,6 %, 1993 г. – 55,8 %. С 1993 г. установлено снижение интенсивности и экстенсивности проявлений эпидемического процесса (кроме 1998 г.), а после 2000 г. холера практически исчезла с континента. Вплоть до 2010 г. болезнь проявляла себя лишь отдельными вспышками в Эквадоре, Бразилии и Парагвае.

Эпидемиологическая ситуация по холере в Американском регионе изменилась в октябре 2010 г., когда на Гаити возникла одна из самых масштабных эпидемий заносного происхождения. Предшествующее эпидемии землетрясение в западной части острова привело к практически полному разрушению инфраструктуры, в том числе санитарно-коммунальной, концентрации населения в лагерях беженцев, неспособности системы эпидемиологического надзора осуществлять мониторинг и контроль санитарноэпидемиологической обстановки. Это катастрофическое стихийное бедствие послужило предиктором, повлиявшим на начальную реализацию эпидемиологического риска (занос холеры прибывшими на место землетрясения миротворцами из Непала) и способствовавшим развитию эпидемического процесса во времени и пространстве. В течение месяца после подтверждения первого случая холера поразила все десять департаментов и столицу Порт-о-Пренс, а количество заболевших превысило 23 тыс. человек. Принципиально иным оказался и вызвавший эпидемию возбудитель - новый, более вирулентный вариант холерных вибрионов О1 биовара Эль Тор, продуцирующий токсин холерного вибриона классического биовара, что подтверждали высокие показатели летальности (в целом по стране в $2010 \, \text{г.} - 2.7 \, \%$, в отдельных департаментах -9.5-18.2 %). Все вышеизложенные особенности течения эпидемии поставили перед мировым сообществом вопрос о возможном начале восьмой пандемии холеры [9].

За весь период эпидемии (2010–2019 гг.) в Гаити зарегистрировано около 820 тыс. случаев холеры, в том числе 9,7 тыс. летальных (1,2%). Последний случай заболевания, по данным ВОЗ, подтвержден в департаменте Артибонит в конце января 2019 г. [10]. Вместе с тем Министерство здравоохранения и народонаселения страны сообщило о 48 случаях с подозрением на холеру в 2020 г. Из Гаити установлены заносы холеры в страны Америки и Европы с возник-

новением эпидемических вспышек (Доминиканская Республика, Куба, Мексика) и без последующего распространения (США, Канада, Чили, Багамские острова, Мартиника, Англия, Германия). В Доминиканской Республике холера поразила все 32 провинции, где в 2010–2019 гг., по данным ВОЗ, выявлено 33285 больных и 504 смерти (1,51%) с выносом инфекции в США, Венесуэлу, Мексику, Испанию и на о. Сент-Мартен [11]. На Кубу холера занесена в июне 2012 г. группой добровольцев и медперсонала, выезжавших для оказания помощи Гаити по борьбе с холерой (в 2012–2015 гг. всего 739 случаев, 3 смерти). Завозные случаи холеры после пребывания на Кубе зарегистрированы в Италии, Испании, Нидерландах, Германии, Чили, Венесуэле и Канаде.

Мексика сообщила о случаях заболевания холерой в 2010–2011 гг. (по 1 случаю), 2012 г. (2), 2013 г. (187, включая 1 летальный), 2014 г. (14), 2015 и 2018 гг. (по 1). Штаммы, выделенные от больных в Мексике в 2013 г., оказались идентичны штаммам, вызвавшим вспышки на Гаити, в Доминиканской Республике и на Кубе, что не исключает вероятности неоднократных заносов возбудителя с разных территорий [12].

Из других стран Америки в 2018 г. в Чили зарегистрирована вспышка холеры (31 больной), обусловленная нетоксигенным штаммом Vibrio cholerae O1 [11]. В США периодически регистрируются местные случаи заражения, связанные с употреблением в пищу морепродуктов, выловленных у побережья Мексиканского залива.

Крупномасштабная эпидемия холеры в странах Карибского бассейна кардинально изменила структуру мировой заболеваемости и способствовала многочисленным эпизодам заноса инфекции, инициировавшим в ряде стран местные вспышки. Спустя 20 лет Американский регион вновь стал мировым лидером по абсолютному числу заболевших холерой, а вклад в мировую заболеваемость в 2010 г. составил 56,6 %, 2011 г. – 61,2 %. На фоне снижения интенсивности эпидемии холеры на Гаити удельный вес региона в 2019 г. снизился до 0,08 %, а в 2020 и 2021 гг. официально сообщалось только о завозных случаях. В настоящее время холера на Гаити находится под контролем, однако более трети населения страны не обеспечено доброкачественной питьевой водой, а две трети проживает в неудовлетворительных санитарно-гигиенических условиях, что определяет сохраняющиеся риски активизации эпидемического процесса [10].

Малярия представляла собой одну из наиболее серьезных проблем здравоохранения в странах Америки вплоть до середины ХХ в. Реализация национальных, региональных и глобальных программ по борьбе с малярией способствовала успешному ее контролю с конца 1940-х до начала 1970-х гг. в большинстве стран региона, а в ряде из них болезнь была ликвидирована: Гренада и Сент-Люсия (1962 г.), Доминика (1966 г.), Тринидад и Тобаго (1965 г.), Ямайка (1966 г.), США (1970 г.), Куба (1973 г.).

Пересмотр на международном уровне стратегии контроля малярии (приоритетное направление – выявление больных и их лечение, а не борьба с переносчиками), ослабление политической и финансовой поддержки кампаний, распространение устойчивых к хлорохину штаммов возбудителя способствовали росту заболеваемости в конце 1970—1980-х гг. и возвращению болезни на ранее благополучные территории. Тенденция к снижению заболеваемости малярией в регионе наметилась в 1990—1999 гг. как результат активизации международных усилий и принятия Глобальной стратегии борьбы с малярией в 1992 г.

Эндемичными территориями в настоящее время являются 18 стран Западного полушария, где, по оценкам ВОЗ, риску заражения малярией подвергаются около 141 млн человек [13]. Заболеваемость малярией преимущественно регистрируется среди жителей сельских и лесных районов вдоль реки Амазонки и ее многочисленных притоков. К зонам высокого риска заражения отнесены штаты Боливар. Дельта-Амакуро и Сукре в Венесуэле, Акко, Амапа и Амазонас в Бразилии, департаменты Амазонас, Антиокия, Чоко и Вичада в Колумбии и регион Лорето в Перу [14]. Наибольшая вероятность заражения малярией в странах Карибского бассейна приходится на май – декабрь, Центральной и Южной Америки – практически круглогодично с некоторым снижением в начале весны.

Анализ динамики заболеваемости в многолетнем аспекте показал, что за период с 2000 по 2020 год количество подтвержденных случаев малярии снизилось на 48,9 % (с 1,18 млн до 602,4 тыс.), а смертей – на 73,6 % (с 410 до 108). Вместе с тем в 2015-2019 гг. прослеживается рост числа заболеваний (на 78,9 %) и летальных исходов (на 101 %) преимущественно за счет трех наиболее неблагополучных стран: Венесуэла (53,9 % от всех случаев), Бразилия (19,4 %) и Колумбия (9,2 %). Значительный подъем заболеваемости наблюдается в Венесуэле, где число случаев выросло с 137,9 тыс. в 2015 г. до 492,7 тыс. в 2019 г. На эту страну приходится более 60 % летальных исходов в Америке [13]. Осложнение эпидемиологической обстановки на вышеуказанных территориях связано с прекращением или недостаточно эффективным функционированием национальных программ по борьбе малярией. В Колумбии и Венесуэле распространению малярии способствует перемещение больших групп населения из высокоэндемичных сельских районов в города, в том числе вследствие интенсивно развивающейся добычи золота и полезных ископаемых [14]. Затянувшийся политический кризис в Венесуэле привел к масштабной миграции граждан (около 6 млн человек), сопровождавшейся ростом заболеваемости малярией в сопредельных странах. Еще одной остро обозначившейся проблемой в этой стране является дефицит средств лечения и назначение пациентам субоптимальных доз противомалярийных препаратов, что может способствовать появлению резистентных штаммов. В 2020 г. в регионе установлено снижение заболеваемости (на

26,1 %), связанное с уменьшением объемов диагностических исследований на малярию и приоритетным выявлением COVID-19 [13].

В этиологической структуре заболеваемости преобладают случаи инфицирования *Plasmodium vivax* (75 %), на *P. falciparum* и сочетанные формы малярии (*P. vivax* + *P. falciparum*) приходится около 25 %, на другие виды – менее 1 %. Однако распространенность форм малярии существенно отличается между странами. Так, в Доминиканской Республике и Гаити малярия вызвана исключительно *P. falciparum*, высокий удельный вес тропической формы наблюдается в Колумбии (46,8 %) и Гайане (33,5 %). В Венесуэле доля тропической малярии составляет 17,2 %, однако на эту страну приходится более 40 % от случаев, вызванных *P. falciparum*, в регионе [13].

Серьезным успехом в борьбе с малярией стапрекращение передачи болезни в Парагвае (2018 г.), Аргентине (2019 г.), Сальвадоре (2021 г.). В перечень стран, способных ликвидировать болезнь к 2025 г. в рамках запущенной ВОЗ инициативы (Е-2025), включены Белиз (последние местные случаи в 2018 г.), Коста-Рика, Доминиканская Республика, Эквадор, Мексика, Суринам, Панама, Гондурас, Гватемала. О снижении числа выявленных больных в 2015–2020 гг. сообщили Гондурас (на 74 %), Гватемала (81 %), Перу (76 %), Французская Гвиана (65 %) [13]. Следует отметить, что ряд стран Западного полушария отнесены ВОЗ к территориям, где малярия не являлась эндемичной болезнью либо ее передача была прекращена без проведения особых мер контроля. Из них Антигуа и Барбуда, Сент-Китс и Невис, Багамские острова и Уругвай признаны таковыми в 2012 г. В неэндемичных странах, по официальным данным, ежегодно регистрируется около 2 тыс. завозных случаев (около 75 % – в США, что связано с эффективным их выявлением).

На территории Западного полушария в передаче малярии участвуют девять видов комаров рода Anopheles. Основными переносчиками в Северной Америке (за исключением Мексики) являются только два вида: на северо-западе США – An. freeborni, в южных и юго-восточных регионах – комплекс (к.) An. quadrimaculatus. Остальные семь видов (An. pseudopunctipennis, An. darlingi, An. albimanus, K. An. albitarsis, An. aquasalis, An. marajoara, K. An. nineztovari) обитают на юге Северо-Американского континента, в Центральной и Южной Америке, включая северные районы Аргентины. В Латинской Америке, несмотря на наличие большого количества симпатрических видов, An. darlingi считается наиболее важным переносчиком. В Центральной Америке более значимыми переносчиками являются An. albimanus и An. pseudopunctipennis [15].

Наиболее актуальными инфекционными болезнями для региона являются *арбовирусные лихорадки* в связи с их территориальной экспансией, способностью вызывать масштабные эпидемические вспышки с тяжелым течением и высокой летально-

стью, отсутствием в отношении большинства из них эффективных средств контроля.

Лихорадка денге. Первые вспышки, сходные с лихорадкой денге, описаны в Мартинике и Гваделупе в 1635 г. и Панаме в 1699 г. Вероятно, вирус денге, как и желтой лихорадки, занесен в Новый Свет инфицированными переносчиками (Aedes aegypti) на парусных судах из Западной Африки [16]. Вплоть до середины XX в. болезнь была широко распространена во всем Западном полушарии, вызывая масштабные эпидемии. Начавшаяся в 1946 г. кампания по искоренению основного переносчика вируса денге – комара Ae. aegypti – позволила резко сократить его численность (в 16 странах к 1961 г. переносчик ликвидирован) и достигнуть серьезного прогресса в контроле над заболеваемостью. Однако уже с середины 1970-х гг. прекращение кампании, а также развитие устойчивости переносчиков к используемым инсектицидам привели к росту числа случаев лихорадки денге. С этого же времени происходит распространение в Америке нескольких серотипов вируса, что сопряжено с возникновением геморрагических форм заболевания (при повторном заражении другим серотипом) с летальностью до 50 % при отсутствии надлежащего лечения. Самой крупной вспышкой второй половины XX в. стала эпидемия болезни на Кубе в 1981 г. (344203 случая, из них 10312 – геморрагической формы, и 158 смертей), рассматриваемая отдельными исследователями как акт биотерроризма, совершенный с помощью искусственно зараженных переносчиков [17].

К 1990-м гг. Ае. aegypti полностью восстановил свой прежний ареал, вероятнее всего, путем распространения из стран, которые не добились полной его ликвидации, включая США, Венесуэлу и территории Карибского бассейна [16]. В современный период этот переносчик присутствует во всех странах, за исключением Канады. В дополнение отчетливо обозначилась проблема распространения другого эффективного переносчика арбовирусов -Ae. albopictus. В результате экспорта автомобильных покрышек из Японии и Кореи в Северную Америку в 1978–1985 гг. произошел занос комаров этого вида в США. Достаточно быстро он распространился и в Южную Америку: впервые обнаружен в Бразилии в 1986 г., в Мексике – на два года позже. К 2021 г. присутствие Ae. albopictus установлено в 21 стране Американского региона [18].

В современный период местная передача возбудителя происходит во всех странах Западного полушария, за исключением Канады и континентальной части Чили (в США – вторичная от завозных случаев). Случаи лихорадки денге регистрируются в течение всего года, максимальный риск заражения приходится на осенне-зимний период. Многолетняя динамика заболеваемости характеризуется тенденцией к росту с 1990 г. и по настоящее время (более чем в 14 раз), при этом наблюдаются циклические подъемы с интервалом от трех до пяти лет. Значительный рост заболеваемости зарегистрирован в 1991, 1995, 1998,

2002, 2007, 2010, 2013, 2015 и 2019 гг. Всего за период 1990—2021 гг. диагностировано более 30,4 млн случаев на 52 территориях (в среднем ежегодно — на 46). Средняя летальность в 2016—2021 гг. составила 0,06 %. Наиболее пораженными территориями являются Бразилия (63 % от общего числа случаев), Мексика (7 %), Колумбия (6 %) и Венесуэла (4 %), доля остальных государств в структуре заболеваемости не превышает 3 %.

Крупнейшая вспышка лихорадки денге отмечена в 2019 г., когда в 47 странах выявлено 3,1 млн случаев (1773 - с летальным исходом), что превысило в 5,6 раза показатель предшествующего года и 1,4 раза максимальные значения заболеваемости за весь период наблюдения (2015 г.). На долю Бразилии пришлось 2,26 млн случаев (71,3 % от заболеваемости в регионе) и 840 смертей. Напряженная эпидемиологическая ситуация наблюдалась в Мексике (268,4 тыс.), Никарагуа (186,1 тыс.), Колумбии (127,5 тыс.). В Гондурасе зарегистрирована самая сложная вспышка за последние 50 лет – 112,7 тыс. случаев, из них 19,4 тыс. тяжелой формы, что составило 68,4 % от всех тяжелых форм в регионе. В связи со значительным ростом числа случаев лихорадки денге министерствами здравоохранения Гватемалы, Гондураса и Никарагуа объявлена угроза возникновения ЧС на национальном уровне. События 2019 г. послужили весомым основанием для включения ВОЗ лихорадки денге в перечень десяти глобальных угроз здравоохранения. В 2020 г., несмотря на снижение заболеваемости в регионе на 27,3 % (2,3 млн), рост числа случаев установлен в 17 странах и территориях, наиболее выраженный – в Аргентине (в 18,4 раза), Боливии (в 5,3 раза), Парагвае (в 18,9 раза). В Парагвае диагностирована самая крупная вспышка лихорадки денге за весь период наблюдения с 223,7 тыс. случаями заболевания и 75 смертельными исходами. В 2021 г. (на 46-ю неделю) зарегистрировано 1,1 млн случаев заболевания лихорадкой денге, из них 472 тыс. лабораторно подтверждены, 348 с летальным исходом.

В целом лихорадка денге в Центральной и Южной Америке является одной из ведущих причин госпитализации и смерти, а совокупная заболеваемость, по официальным данным, составляет более 60 % от общемировой. Существенный рост заболеваемости в Американском регионе потенцирует риски заноса болезни на неэндемичные территории, в ряде из которых (Средиземноморский регион Европы) отмечено возобновление местной передачи инфекции после длительного благополучия.

Желтая лихорадка вызывала эпидемические вспышки с высокой летальностью как в Северной, так и Южной Америке. В 1940–1960 гг. после внедрения широкомасштабных кампаний массовой вакцинации и программы борьбы с переносчиком Ae. aegypti отмечалось снижение заболеваемости с регистрацией в Южной Америке менее 100 случаев ежегодно. Напротив, завершение кампаний иммунизации в

1970-е гг. в последующем привело к росту заболеваемости.

В современный период желтая лихорадка является эндемичной болезнью для 13 стран (Аргентина, Боливия, Бразилия, Венесуэла, Колумбия, Перу, Французская Гвиана, Гайана, Суринам, Тринидад и Тобаго, Парагвай, Эквадор и Панама), отнесенных к территориям высокого риска. В каждой из них вакцинация против желтой лихорадки включена в национальные программы иммунизации детей (в возрасте девяти и более месяцев) с проведением дополнительных кампаний на территориях с ежегодной заболеваемостью. Однако охват населения вакцинацией по региону находится на недостаточно высоком уровне (около 70%), что является следствием социальнополитической нестабильности, сложностей организации кампаний в отдаленных районах и ограниченных запасов вакцины в мире. Рекомендуемый ВОЗ уровень иммунизации в 2019 г. установлен в Тринидад и Тобаго (98 %), Панаме (99 %) и Гайане (94 %). На этих же территориях желтая лихорадка не регистрируется много лет: Гайана (с 1969 г.), Панама (с 1975 г.), Тринидад и Табаго (с 1980 г., эпизоотии отмечены в 1988, 1995, 1999, 2009 и 2021 гг.).

В период с 1990 по 2021 год официально зарегистрировано более 5,5 тыс. случаев желтой лихорадки и 2,4 тыс. смертей (43,9 %). Динамика заболеваемости характеризуется циклическим течением с возникновением эпидемических вспышек в 1995 г. (в западной части Перу), 1998 г. (Перу, Боливия и Бразилия), 2003 г. (Бразилия, Перу, Колумбия и Венесуэла), 2008 г. (Бразилия, Парагвай и Аргентина) и 2017—2018 гг. (Бразилия).

Начало XXI столетия ознаменовалось активизацией природных очагов болезни и риском возобновления передачи вируса в городских условиях. В 2008 г. вспышка желтой лихорадки (28 случаев, 11 смертей) после 34 лет благополучия произошла в районе Асунсьон, Парагвай. Это была первая городская вспышка болезни, подтвержденная за более чем 50-летний период на Южно-Американском континенте (Бразилия, 1942 г.) и Американском регионе в целом (Тринидад и Тобаго, 1954 г.). О случаях заболевания (9 больных, 2 смерти) сообщила Аргентина, где заболеваемость не регистрировалась с 1966 г. Локализовать вспышки удалось проведением массовых кампаний иммунизации, что вызвало дефицит запасов вакцины на глобальном уровне [19]. Заболевания желтой лихорадкой стали вновь регистрироваться в странах, где их не выявляли на протяжении 10-50 лет: Венесуэла (1 случай в 2019 г. и 11 - в 2021 г., заболеваемость не регистрировалась с 2005 г.), Суринам (1 – у путешественника из Нидерландов в 2017 г., впервые с 1972 г.), Эквадор (1 случай в 2012 г., впервые с 2001 г., 3 – в 2017 г.), Французская Гвиана (после 1998 г. по 1 случаю – в 2017, 2018 гг. и 2 летальных – в 2020 г.).

Самым значимым событием в регионе, позволившим вновь обратить внимание мировой общественности на желтую лихорадку как актуальную

здравоохранения, стали эпидемические вспышки в Бразилии, на юго-востоке штатов Минас-Жерайс, Эспириту-Санту, Рио-де-Жанейро и Сан-Паулу, возникшие на фоне разлитых эпизоотий среди приматов с декабря 2016 г. по май 2018 г. Во время первой вспышки (с декабря 2016 г. по июнь 2017 г.) подтверждено 779 случаев и 262 смертельных исхода, в том числе с передачей инфекции в городских районах, второй (июль 2017 г. – июнь 2018 г.) – 1376 подтвержденных, 483 смерти (общее число подозрительных случаев в этот период – около 10 тыс.). В ходе беспрецедентных по масштабам вспышек установлено расширение ареала желтой лихорадки в Бразилии с передачей возбудителя в районах, ранее считавшихся безопасными территориями. По окончании вспышки пересмотрены рекомендации по вакцинации против желтой лихорадки в Бразилии с включением всей территории страны в зону риска. Случаи желтой лихорадки у невакцинированных путешественников, посетивших районы вспышки, отмечены во Франции, Чехии, Нидерландах, Румынии, Швейцарии, Германии, Аргентине и Чили (летальность – 38,4 %). Общее число завозных случаев в 2016-2018 гг. превысило таковое за предшествующий 40-летний период.

Интенсивность эпидемического процесса существенно отличается в странах региона. За анализируемый период 99 % от всех случаев пришлось на четыре страны: Перу (32,5 %), Боливию (9,6 %), Бразилию (52,5%) и Колумбию (4,6%). В Боливии вспышечная заболеваемость желтой лихорадкой отмечалась до 2006 г. (наиболее крупная в 1991 г. – 91 случай, 57 летальных), в дальнейшем – от 1 до 7 больных ежегодно, преимущественно в департаментах Ла-Пас и Кочабамба. Последние официальные данные относятся к 2020 г. (2 случая). В Колумбии заболеваемость регистрировалась ежегодно до 2010 г., после чего выявлены спорадические случаи в 2013 и 2018 гг. (по 1 с летальным исходом), 2016 г. (7 случаев, 6 смертей). В Перу последняя крупная вспышка произошла в 2016 г. (62 случая, 25 смертей), затронувшая десять департаментов, из них 70 % случаев - в Хунине. В 2019 г. сообщалось о 4 случаях, в 2020 г. – о 7 случаях, 3 смертях, в 2021 г. – 18 подтвержденных случаев, 7 смертей в департаментах Пуно, Сан-Мартин и Лорето. В Бразилии после вспышки 2016-2018 гг. отмечено существенное снижение заболеваемости: в 2018–2019 гг. – 82 случая, 14 смертей, 2019–2020 гг. – 19 случаев, 4 смерти, 2020-2021 гг. - 9 подтвержденных случаев, включая 3 смерти, с июля 2021 г. – 1 случай. Однако в этот же период в Бразилии установлено распространение эпизоотии в южном направлении с риском достижения приграничных стран, таких как Аргентина и Парагвай.

Переносчиками желтой лихорадки в джунглевом цикле передачи являются *Haemogogus sperazzini*, *H. janthinomys*, *Sabethes chloropterus*, городском – *Ae. aegypti*. Высокий риск передачи возбудителя, как и при других инфекциях, передающихся комарами, отмечается с ноября по май.

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН). Эпидемическое распространение ЛЗН в Американском регионе берет свое начало в 1999 г., когда в США выявлены первые случаи заболевания (всего 62 случая, из них 59 - с поражением центральной нервной системы, 7 – летальных), а также зарегистрированы эпизоотии среди птиц и лошадей, сопровождавшиеся высокой летальностью. Филогенетический анализ штаммов вируса Западного Нила (ВЗН), выделенных во время этой вспышки, продемонстрировал их принадлежность к генетической линии 1а и высокое сходство (99,8 %) с изолятами, циркулировавшими в Израиле в 1998 г. Предположительно интродукция ВЗН в Западное полушарие произошла с содержащимися в неволе дикими птицами (ввиду отсутствия постоянных путей миграции между Европой и Америкой) или инфицированными переносчиками, завезенными на транспортных средствах [20].

Экспансия возбудителя на новой территории осуществлялась быстрыми темпами, во время которой ВЗН адаптировался к большому числу резервуарных хозяев и переносчиков. В 1999 г. циркуляция ВЗН подтверждена в 4 штатах США, в 2000 г. – в 12, а в 2003 г. – в 45. В настоящее время в этой стране ЛЗН относится к числу приоритетных для общественного здравоохранения арбовирусных инфекций. Всего с 1999 по 2021 год в США зарегистрировано более 53,7 тыс. случаев заболевания (в среднем ежегодно – 2445) со значительными эпидемическими подъемами в 2003 г. (9862 случая) и 2012 г. (5674 случая). Наиболее интенсивные проявления эпидемического процесса приурочены к горным штатам страны (Внутренний Запад) [21]. Отличительной особенностью клинических проявлений ЛЗН на данной территории является высокая доля нейроинвазивных форм, на которые приходится 49,7 % от общего числа случаев.

Распространение ВЗН на другие территории Американского региона связывают с перелетными птицами. В Канаде ВЗН впервые обнаружен на юге Онтарио в 2001 г. (выделен от *Culex pipiens*), а в 2002 г. подтверждены первые случаи заболевания. Всего за 2002–2021 гг. в этой стране диагностировано 6,5 тыс. случаев ЛЗН и зафиксирована 41 смерть, наиболее крупные вспышки наблюдались в 2003 и 2007 гг. (1488 и 2401 случай соответственно).

Появление возбудителя к югу от США впервые доказано в 2001 г. на Каймановых островах, где подтвержден случай менингоэнцефалита, вызванного ВЗН, а в 2002 г. циркуляция вируса установлена в Мексике, Гваделупе, Доминиканской Республике и на Ямайке. Свидетельствами дальнейшего расширения ареала ЛЗН в южном направлении являются выявление маркеров возбудителя в объектах внешней среды и наличие иммунной прослойки у населения в Панаме, Колумбии, Венесуэле, Бразилии, Боливии [22]. Не получено убедительных доказательств присутствия вируса в Гондурасе, Уругвае, Парагвае, Гайане, Суринаме, Французской Гвиане, Перу, Чили и Доминике. Несмотря на практически

повсеместное распространение ЛЗН в Западном полушарии, в странах региона, за исключением США и Канады, описаны лишь отдельные заболевания на Гаити (2004 г.), Кубе (2003–2004 гг.), в Мексике (2002–2004 гг.), Аргентине (2006, 2014–2015 и 2020 гг.), Боливии (2012 г.) и Бразилии (2014, 2017, 2019 и 2020 гг.). Низкий уровень официально регистрируемой заболеваемости, по всей видимости, связан с недостаточно эффективно организованным эпидемиологическим надзором за ЛЗН и приоритетным вниманием служб здравоохранения к другим, актуальным для региона арбовирусным лихорадкам.

В США ВЗН обнаружен в комарах 65 видов, но только несколько видов комаров рода *Culex* вызывают его эпизоотическую и эпидемическую передачу. Наиболее важными переносчиками на севере страны являются комары *Cx. pipiens* L., в южных штатах – Cx. quinquefasciatus Say (вид, относящийся к комплексу Cx. pipiens и адаптированный к более теплому климату), в западных — Cx. tarsalis, где его ареал пересекается с *Cx. pipiens* и *Cx. quinquefasciatus* [23]. В западной Канаде передачу ВЗН осуществляeт *Cx. tarsalis*, в восточной – *Cx. pipiens/restuans*. Переносчиками ВЗН в Бразилии, вероятно, могут являться комары вида Сх. quinquefasciatus. В Аргентине Сх. quinquefasciatus обнаружен к северу от провинций Буэнос-Айрес и Мендоса, тогда как Cx. pipiens встречается от Буэнос-Айреса к югу до Санта-Крус. В качестве потенциальных переносчиков рассматриваются комары группы Сх. coronator, поскольку в естественных условиях установлена инфицированность их самок несколькими арбовирусами, в том числе ВЗН. В эту группу входят семь видов (Cx. coronator Dyar & Knab, Cx. camposi Dyar, Cx. covagarciai Forattini, Cx. ousqua Dyar, Cx. usquatissimus Dyar, Cx. usquatus Dyar и Cx. yojoae Strickman), встречающиеся в Центральной и Южной Америке, Мексике и США.

Лихорадка Зика. Впервые присутствие вируса Зика на территории Америки подтверждено в апреле 2015 г. в связи с этиологической расшифровкой вспышки острого лихорадочного заболевания, сопровождавшегося экзантемой, на северо-востоке Бразилии (штат Баия) [24]. Дальнейшие исследования продемонстрировали, что вирус Зика ответственен за сходные по клиническим проявлениям заболевания, регистрируемые на северо-востоке страны с октября 2014 г. На основании ретроспективных данных убедительно показано, что вирус Зика проник на территорию Бразилии значительно раньше — в период с октября 2012 г. по май 2013 г.

Распространение возбудителя на новой для него территории (ранее ареал болезни ограничивался странами Африки и Юго-Восточной Азии, а с недавнего времени – островами Тихого океана) происходило стремительными темпами. К августу 2015 г. сообщения о случаях лихорадки Зика поступили из 13 штатов Бразилии, а к декабрю – из 18. За пределами Бразилии местная передача вируса впервые установлена в октябре 2015 г. в Колумбии (штат

Боливар) [25]. К концу 2015 г. о случаях лихорадки Зика сообщили еще 12 стран Центральной и Южной Америки, Карибского бассейна, в январе 2016 г. – свыше 20, а в марте – 44. Об интенсивности течения эпидемического процесса свидетельствовали следующие данные. В 2015 г., согласно официальной статистике, диагностировано 78,8 тыс. случаев (более 70 % – в Бразилии), 19,8 тыс. случаев лабораторно подтверждено. Однако, учитывая высокий процент бессимптомных и легких форм заболевания, едва ли эти показатели можно назвать объективными. По оценкам, в 2015 г. только в Бразилии число предполагаемых случаев заражения вирусом Зика составило от 440 тыс. до 1,3 млн [25]. Серьезность течения вспышки придавали появлявшиеся сообщения о росте числа случаев микроцефалий и других аномалий развития нервной системы среди детей, родившихся от инфицированных матерей, а также неврологических проявлений и синдрома Гийена -Барре, ассоциированных с перенесенной болезнью. Все вышеизложенное послужило аргументами для признания ВОЗ лихорадки Зика в феврале 2016 г. угрозой здоровью населения международного уровня. В ноябре этого же года ВОЗ приняла решение, что ситуация, связанная с распространением вируса Зика, не представляет собой ЧС, однако требует особых мер по недопущению дальнейшего распространения болезни на глобальном уровне.

В целом в 2015-2021 гг. зарегистрировано 895,1 тыс. случаев лихорадки Зика, из них 255,5 тыс. лабораторно подтверждено. Средний показатель летальности составил 0,02 %. Динамика заболеваемости характеризовалась нарастанием (2015 г.), пиковым уровнем (2016 г. – 652,2 тыс. случаев) и последующим снижением (2017-2021 гг.). Снижение заболеваемости, наблюдаемое во всех странах с 2017 г., по всей видимости, явилось следствием формирования высокой иммунной прослойки среди населения. Проявления эпидемического процесса отмечены на 50 территориях, а наибольшая их интенсивность наблюдается в Бразилии - за анализируемый период выявлено 443,5 тыс. больных (49,6 % от общего количества). Из других стран неблагополучная обстановка отмечена в Колумбии (111,5 тыс. случаев) и Венесуэле (62 тыс.). Случаи врожденных патологий нервной системы у новорожденных зарегистрированы в 29 странах (общее количество случаев микроцефалии – более 2,5 тыс., из них 2,2 тыс. в Бразилии), других неврологических расстройств, включая синдром Гийена – Барре, – в 20. С 2015 г. по настоящее время сообщается о более 9,2 тыс. случаев завоза лихорадки Зика на территорию 52 стран мира. Наиболее часто завозы происходили в пределах Американского региона, где выявлено около 6,1 тыс. случаев.

Лихорадка чикунгунья. В декабре 2013 г. описаны первые в современной истории местные случаи передачи вируса чикунгунья в Западном полушарии на о. Сен-Мартен в Карибском море. Интенсивная миграция населения между островными террито-

риями способствовала множественным заносам инфекции в другие страны региона и возникновению беспрецедентной эпидемии, вызвавшей общественный резонанс [26]. К середине 2014 г. о вспышках лихорадки чикунгунья сообщили страны Карибского бассейна и Центральной Америки, в ряде из которых введено чрезвычайное положение. Штамм вируса, вызвавший вспышку, оказался принадлежащим к азиатской генетической линии, однако уже через короткое время в регионе стал циркулировать новый его вариант, содержащий мутацию, существенно увеличивающую темп репликации вируса в организме переносчика. К концу 2014 г., по официальным данным, отмечено свыше 1 млн случаев инфицирования вирусом чикунгунья на более чем 40 территориях. Эпидемические проявления лихорадки чикунгунья в Америке привели к резкому росту числа завозных случаев в благополучные страны Европы (в 2014 г. – 1,4 тыс. по сравнению с 72 случаями в 2013 г.) и обозначили возросшие риски местной передачи инфекции в этом регионе.

С 2015 г. наблюдается снижение количества стран Америки с активной передачей вируса чикунгунья, что привело к сокращению числа регистрируемых случаев заболевания. Наименьшее количество больных в регионе выявлено в 2018 г., когда страны уведомили ВОЗ о 97,1 тыс. случаях заболевания (39 летальных случаев). Однако в 2021 г. (на 46-ю неделю) установлен рост числа заражений на 25,1 % по сравнению с предыдущим годом (128,8 тыс. и 103 тыс. соответственно). В целом в течение 2013-2021 гг. циркуляция возбудителя подтверждена на территории 51 страны Панамериканского региона, общее количество заболевших составило 3,18 млн случаев. В число наиболее пострадавших стран вошли Бразилия (1,26 млн случаев), Доминиканская Республика (539,3 тыс. случаев) и Колумбия (296,2 тыс. случаев). Напряженная обстановка по лихорадке чикунгунья в Американском регионе определила неблагополучие этой инфекционной болезни в мире в современный период (более 75 % от всех случаев в 2014–2021 гг.).

Полиомиелит. Эффективная борьба с полиомиелитом в Америке берет свое начало с внедрения в практику здравоохранения в 1960-х гг. вакцин, широкое применение которых, в том числе в рамках утвержденной ВОЗ в 1974 г. Расширенной программы иммунизации, позволило резко снизить заболеваемость во всех странах. На отдельных территориях передача полиовируса была полностью прекращена, вместе с тем в странах, не обладающих достаточными ресурсами и развитыми службами здравоохранения, сохранялась неблагополучная обстановка. В 1985 г. Панамериканской организацией здравоохранения инициирована региональная программа, целью которой являлась ликвидация полиомиелита в Западном полушарии к 1990 г. За первые три года функционирования программы отмечено неуклонное снижение количества зарегистрированных случаев заболевания (с 1430 до 599 случаев).

Серьезный прогресс, достигнутый в борьбе с диким полиовирусом в Американском регионе, и победа над другой вакциноуправляемой инфекцией – натуральной оспой – послужили фундаментом для разработки и реализации Глобальной инициативы по ликвидации полиомиелита, утвержденной Всемирной ассамблеей здравоохранения в 1988 г. Наращивание усилий в борьбе с полиомиелитом позволило прекратить передачу дикого полиовируса в Западном полушарии в 1991 г. (последние случаи отмечены в Колумбии и Перу). В 1994 г. Американский регион стал первым регионом в мире, сертифицированным ВОЗ как свободный от полиомиелита.

В современный период основные риски осложнения эпидемиологической обстановки связаны с завозом возбудителя из эндемичных стран и возникновением случаев полиомиелита, обусловленного вакцинными штаммами полиовируса или измененными вакцинородственными полиовирусами. Первая из описанных в мире вспышек, вызванная вакцинородственными полиовирусами, произошла в 2000–2001 гг. на острове Гаити (в Доминиканской Республике – 13 случаев, Республике Гаити – 8 случаев). Результаты филогенетического анализа показали, что вакцинородственные полиовирусы 1-го типа, ставшие причиной вспышки, приобрели нейровирулентность и способность к распространению вследствие длительной (около двух лет) циркуляции на острове Гаити среди населения с низким уровнем охвата вакцинацией [27]. О циркуляции в объектах внешней среды вакцинных штаммов полиовирусов, имеющих нуклеотидные замены на участке VP1 вирусного генома, при отсутствии регистрации случаев заболевания сообщалось в Аргентине (2005–2006 гг.) и Бразилии (2011–2012 гг.) [28].

Возникновению эпидемических осложнений способствует низкий и неоднородный уровень охвата населения вакцинацией в регионе. В 2020 г. средний по региону уровень иммунизации составил 81 % (минимальный после Африки показатель), а рекомендованный ВОЗ уровень иммунизации детей первого года жизни (>95 %) обеспечен только на шести территориях (Антигуа и Барбуда, Доминика, Ямайка, Куба, Сент-Винсент и Гренадины, Сент-Китс и Невис). Эти показатели отчетливо демонстрируют, что большие группы населения остаются уязвимыми перед вспышками полиомиелита.

Таким образом, на модели Американского региона нами установлены региональные эпидемиологические особенности, включая эндемичность (энзоотичность) территорий и интенсивность проявлений эпидемического процесса инфекционных болезней, имеющих в указанный временной период либо реальное эпидемическое распространение, либо потенциальную способность к таковому в силу определенных биологических свойств возбудителей. Полученные данные могут служить основой для оценки рисков интродукции (заноса) инфекционных болезней из Американского региона на другие (благополучные) территории, совершенствования

эпидемиологического прогнозирования с целью достижения большей информативности, обоснованности принятия управленческих решений в отношении проведения санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий.

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

Список литературы

1. Вступительное слово Генерального директора на прессбрифинге по COVID-19 11 марта 2020 г. [Электронный ресурс]. URL: https://www.who.int/ru/dg/speeches/detail/who-directorgeneral-sopening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020 (дата обращения 15.11.2021).
2. Распространение в мире инфекционных болезней, значи-

мых для обеспечения эпидемиологического благополучия меж-

мых для обеспечения эпидемиологического благополучия международных сообщений. Справочное эпидемиологическое издание в пяти томах. Том II. Европейский регион. [Электронный ресурс]. URL: http://microbe.ru/files/Reference_book_Vol2.pdf (дата обращения 01.12.2021).

3. United Nations. Department of Economic and Social Affairs. World Population Prospects 2019. [Электронный ресурс]. URL: https://population.un.org/wpp/Download/Standard/Population/ (дата обращения 05.12.2021).

4. Козлов М.П., Султанов Г.В. Эпидемические проявления чумы в прошлом и настоящем. Махачкала: Лагкнигоизлат: 1993.

чумы в прошлом и настоящем. Махачкала: Дагкнигоиздат; 1993.

5. Попов Н.В., Куклев Е.В., Слудский А.А., Тарасов М.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., Караваева Т.Б., Кутырев В.В. Ландшафтная приуроченность и биоценотическая структура природных очагов чумы дальнего зарубежья. Северная и Южная Америка, Африка, Азия. Проблемы особо опасных инфекций.

Америка, Африка, Азия. Проблемы особо опасных инфекций. 2005; 1:9–15.
6. Bonvicino C.R., Oliveira J.A., Cordeiro-Estrela P., D'andrea P.S., Almeida A.M. A taxonomic update of small mammal plague reservoirs in South America. Vector Borne Zoonotic Dis. 2015; 15(10):571–9. DOI: 10.1089/vbz.2015.1788.
7. Antonation K.S., Shury T.K., Bollinger T.K., Olson A., Mabon P., Van Domselaar G., Corbett C.R. Sylvatic plague in a Canadian black-tailed prairie dog (Cynomys ludovicianus). J. Wildl. Dis. 2014; 50(3):699–702. DOI: 10.7589/2013-08-215.
8. Deen J., Mengel M.A., Clemens J.D. Epidemiology of cholera. Vaccine. 2020; 38(Suppl 1):A31–A40. DOI: 10.1016/j. vaccine. 2019.07.078.
9. Онишенко Г.Г., Кутырев В.В., Шуковская Т.Н.,

vaccine.2019.07.078.

9. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Шуковская Т.Н., Смирнова Н.И., Никифоров А.К., Еремин С.А., Топорков В.П. Специфическая профилактика холеры в современных условиях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011; 1:5–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-5-12.

10. Haiti reaches one-year free of Cholera. Pan American Health Organization. [Электронный ресурс]. URL: https://www.paho.org/en/news/23-1-2020-haiti-reaches-one-year-free-cholera (дата обращения 11.11.2021).

11. Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Куриленко М.Л.

(дата обращения 11.11.2021).

11. Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Куриленко М.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Мишанькин Б.М., Кривенко А.С., Анисимова Г.Б., Носков А.К. Холера: мониторинг эпидемиологической обстановки в мире и России (2010–2019 гг.). Прогноз на 2020 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2020; 2:38–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-38-47. 12. Moore S.M., Shannon K.L., Zelaya C.E., Azman A.S., Lessler J. Epidemic risk from cholera introductions into Mexico. PLoS Curr. 2014; 6:ecurrents.outbreaks.c04478c7fbd9854ef6ba923cc81eb799. DOI: 10.1371/currents.outbreaks.c04478c7fbd9854ef6ba923cc81eb799.

13. World Health Organization. World Malaria Report 2021. [Электронный ресурс]. URL: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/malaria/world-malaria-reports/978924004049-eng.pdf?sfvrsn=8f4af712_5&download=true (дата обращения 03.12.2021).

03.12.2021).

14. Conn J.E., Grillet M.E., Correa M.M., Sallum M.A. Malaria transmission in South America – present status and prospects for elimination. Towards malaria elimination – a leap forward. [Электронный ресурс]. URL: https://www.intechopen.com/chapters/62219 (дата обращения 18.11.2021).

15. Sinka M.E., Bangs M.J., Manguin S., Rubio-Palis Y., Chareonviriyaphap T., Coetzee M., Mbogo C.M., Hemingway J., Patil A.P., Temperley W.H., Gething P.W., Kabaria C.W., Burkot T.R., Harbach R.E., Hay S.I. A global map of dominant malaria vectors. *Parasit Vectors*. 2012; 5:69. DOI: 10.1186/1756-3305-5-69.

16. Brathwaite Dick O., San Martín J.L., Montoya R.H., del Diego J., Zambrano B., Dayan G.H. The history of dengue outbreaks

in the Americas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2012; 87(4):584–93. DOI: 10.4269/ajtmh.2012.11-0770.

17. Андрюков Б.Г., Беседнова Н.Н., Калинин А.В., Котельников В.Н., Крыжановский С.П. Биологическое оружие и глобальная система биологической безопасности. Владивосток: Дальнаука; 2017. 430 с.
18. Garcia-Rejon J.E., Navarro J.C., Cigarroa-Toledo N., Baak-

Baak C.M. An updated review of the invasive Aedes albopictus in the Americas; geographical distribution, host feeding patterns, arbovirus

Americas; geographical distribution, host feeding patterns, arbovirus infection, and the potential for vertical transmission of dengue virus. *Insects*. 2021; 12(11):967. DOI: 10.3390/insects12110967.

19. Yellow fever in Africa and Central and South America, 2008–2009. *Wkly Epidemiol. Rec*. 2011; 86(4):25–36.

20. Kramer L.D., Ciota A.T., Kilpatrick A.M. Introduction, spread, and establishment of West Nile virus in the Americas. *J. Med. Entomol.* 2019; 56(6):1448–55. DOI: 10.1093/jme/tjz151.

21. Sejvar J.J. West Nile virus infection. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4(3). DOI: 10.1128/microbiolspec.EI10-0021-2016.

22. Komar N., Clark G.G. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Rev. Panam. Salud. Publica*. 2006; 19(2):112–7. DOI: 10.1590/s1020-49892006000200006.

23. Andreadis T.G. The contributions of *Culex pipiens* com-

Anierica and the Caribbean. Rev. Patham. Satuat. Publica. 2006, 19(2):112–7. DOI: 10.1590/s1020-49892006000200006.
23. Andreadis T.G. The contributions of Culex pipiens complex mosquitoes to transmission and persistence of West Nile virus in North America. J. Am. Mosq. Control Assoc. 2012; 28(4 Suppl):137–51. DOI: 10.2987/8756-971X-28.4s.137.
24. Campos G.S., Bandeira A.C., Sardi S.I. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. Emerg. Infect. Dis. 2015; 21(10):1885–6. DOI: 10.3201/eid2110.150847.
25. Musso D., Gubler D.J. Zika virus. Clin. Microbiol. Rev. 2016; 29:487–524. DOI: 10.1128/CMR.00072-15.
26. Zeller H., Van Bortel W., Sudre B. Chikungunya: its history in Africa and Asia and its spread to new regions in 2013–2014. J. Infect. Dis. 2016; 214(Suppl 5):S436–S440. DOI: 10.1093/infdis/jiw391.
27. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: Outbreak of poliomyelitis – Dominican Republic and Haiti, 2000–2001. MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep. 2001; 50(39):855–6.
28. Falleiros-Arlant L.H., Ayala S.E.G., Domingues C., Brea J., Colsa-Ranero A. Current status of poliomyelitis in Latin America. Rev. Chilena Infectol. 2020; 37(6):701–9. DOI: 10.4067/S0716-10182020000600701.

References

1. [WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 – 11 March 2020]. (Cited 15 Nov 2021). [Internet]. Available from: https://www.who.int/ru/dg/speeches/detail/who-director-general-sopening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020.

on-covid-19---11-march-2020.

2. [Global Distribution of Infectious Diseases Significant for Ensuring the Epidemiological Well-Being of International Communications. Epidemiological reference book in five volumes. Volume II. European region]. (Cited 01 Dec 2021). [Internet]. Available from: http://microbe.ru/files/Reference_book_Vol2.pdf.

3. United Nations. Department of Economic and Social Affairs. World Population Prospects 2019. (Cited 05 Dec 2021). [Internet]. Available from: https://population.un.org/wpp/Download/Standard/Population/

Population/

Population/.

4. Kozlov M.P., Sultanov G.V. [Epidemic Manifestations of Plague in the Past and in the Present]. Makhachkala: Dagestan Book Publishing; 1993. 336 p.

5. Popov N.V., Kouklev E.V., Sloodsky A.A., Tarasov M.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Karavayeva T.B., Kutyrev V.V. [Landscape confinement and biocenotic structure of natural plague foci of remote foreign countries in North and South Americas, Africa, Asia]. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2005; (1):9–15.

6. Bonvicino C.R., Oliveira J.A., Cordeiro-Estrela P., D'andrea P.S., Almeida A.M. A taxonomic update of small mammal plague reservoirs in South America. Vector Borne Zoonotic Dis. 2015;

P.S., Almelda A.M. A taxonomic update of small mammal plague reservoirs in South America. Vector Borne Zoonotic Dis. 2015; 15(10):571–9. DOI: 10.1089/vbz.2015.1788.

7. Antonation K.S., Shury T.K., Bollinger T.K., Olson A., Mabon P., Van Domselaar G., Corbett C.R. Sylvatic plague in a Canadian black-tailed prairie dog (Cynomys ludovicianus). J. Wildl. Dis. 2014; 50(3):699–702. DOI: 10.7589/2013-08-215.

8. Deen J., Mengel M.A., Clemens J.D. Epidemiology of cholera. Vaccine. 2020; 38(Suppl 1):A31–A40. DOI: 10.1016/j. vaccine. 2019.07.078.

vaccine.2019.07.078.

9. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., Shchukovskaya T.N., Smirnova N.I., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Toporkov V.P. [Cholera specific prophylaxis in modern conditions]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2011; 1:5–12. DOI: org/10.21055/0370-1069-2011-1(107)-5-12.

10. Haiti reaches one-year free of Cholera. Pan American Health Organization. (Cited 11 Nov 2021). [Internet]. Available from: https://www.paho.org/en/news/23-1-2020-haiti-reaches-one-year-free-cholera

year-free-cholera.

11. Moskvitina E.A., Yanovich E.G., Kurilenko M.I., Kruglikov V.D., Titova S.V., Levchenko D.A., Vodop'yanov A.S.,

Lopatin A.A., Ivanova S.M., Mishan'kin B.M., Krivenko A.S., Anisimova G.B., Noskov A.K. [Cholera: monitoring of epidemiological situation around the world and in Russia (2010–2019). Forecast for 2020]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):38–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-38-47.

12. Moore S.M., Shannon K.L., Zelaya C.E., Azman A.S., Lessler J. Epidemic risk from cholera introductions into Mexico. *PLoS Curr*. 2014; 6:ecurrents.outbreaks.c04478c7fbd9854ef6ba923cc81eb799. DOI: 10.1371/currents.outbreaks.c04478c7fbd9854ef6ba923cc81eb799.

13. World Health Organization World Malaria Report

13. World Health Organization. World Malaria Report 2021. (Cited 03 Dec 2021). [Internet]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/malaria/world-malaria-

reports/978924004049-eng.pdf?sfvrsn=8f4af712 5&download=true.
14. Conn J.E., Grillet M.E., Correa M.M., Sallum M.A. Malaria
Transmission in South America – Present Status and Prospects for
Elimination. Towards Malaria Elimination – A Leap Forward. (Cited
18 Nov 2021). [Internet]. Available from: https://www.intechopen.com/chapters/62219.

com/chapters/62219.

15. Sinka M.E., Bangs M.J., Manguin S., Rubio-Palis Y., Chareonviriyaphap T., Coetzee M., Mbogo C.M., Hemingway J., Patil A.P., Temperley W.H., Gething P.W., Kabaria C.W., Burkot T.R., Harbach R.E., Hay S.I. A global map of dominant malaria vectors. *Parasit Vectors*. 2012; 5:69. DOI: 10.1186/1756-3305-5-69.

16. Brathwaite Dick O., San Martín J.L., Montoya R.H., del Diego J., Zambrano B., Dayan G.H. The history of dengue outbreaks in the Americas. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2012; 87(4):584–93. DOI: 10.4269/ajtmh.2012.11-0770.

17. Andryukov B.G., Besednova N.N., Kalinin A.V., Kotel'nikov V.N., Kryzhanovsky S.P. [Biological Weapons and the Global Biological Security System]. Vladivostok: "Dalnauka" Book Publishing; 2017. 430 p.

18. Garcia-Rejon J.E., Navarro J.C., Cigarroa-Toledo N., Baak-Baak C.M. An updated review of the invasive *Aedes albopictus* in the Americas; geographical distribution, host feeding patterns, arbovirus

Americas; geographical distribution, host feeding patterns, arbovirus

Americas; geographical distribution, host feeding patterns, arbovirus infection, and the potential for vertical transmission of dengue virus. *Insects*. 2021; 12(11):967. DOI: 10.3390/insects12110967.

19. Yellow fever in Africa and Central and South America, 2008–2009. *Wkly Epidemiol. Rec*. 2011; 86(4):25–36.

20. Kramer L.D., Ciota A.T., Kilpatrick A.M. Introduction, spread, and establishment of West Nile virus in the Americas. *J. Med. Entomol.* 2019; 56(6):1448–55. DOI: 10.1093/jme/tjz151.

21. Sejvar J.J. West Nile virus infection. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4(3). DOI: 10.1128/microbiolspec.E110-0021-2016.

22. Komar N., Clark G.G. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Rev. Panam. Salud. Publica*. 2006; 19(2):112–7. DOI: 10.1590/s1020-49892006000200006.

23. Andreadis T.G. The contributions of *Culex pipiens* complex mosquitoes to transmission and persistence of West Nile virus in

25. Andreadis 1.G. The contributions of *Cutex piptens* complex mosquitoes to transmission and persistence of West Nile virus in North America. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 2012; 28(4 Suppl):137–51. DOI: 10.2987/8756-971X-28.4s.137.

24. Campos G.S., Bandeira A.C., Sardi S.I. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21(10):1885–6. DOI: 10.3201/eid2110.150847.

10.3201/eid2110.150847.

25. Musso D., Gubler D.J. Zika virus. *Clin. Microbiol. Rev.*2016; 29:487–524. DOI: 10.1128/CMR.00072-15.
26. Zeller H., Van Bortel W., Sudre B. Chikungunya: its history in Africa and Asia and its spread to new regions in 2013–2014. *J. Infect. Dis.* 2016; 214(Suppl 5):S436–S440. DOI: 10.1093/infdis/jiw391.
27. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: Outbreak of poliomyelitis – Dominican Republic and Haiti, 2000–2001. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2001; 50(39):855–6.
28. Falleiros-Arlant L.H., Ayala S.E.G., Domingues C., Brea J., Colsa-Ranero A. Current status of poliomyelitis in Latin America. *Rev. Chilena Infectol.* 2020; 37(6):701–9. DOI: 10.4067/S0716-10182020000600701. 10182020000600701.

Authors:

Udovichenko S.K., Nikitin D.N., Boroday N.V., Putintseva 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.

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

Об авторах:

Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Путинцева Е.В., Викторов Д.В., Топорков А.В. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград,

противочумный институт. Российская Федерация, 400151, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru. *Иванова А.В., Костылева А.А.* Российский научно-исследова-тельский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-134-141

УДК 579.834.114:579.25

Н.И. Хаммадов¹, А.И. Хамидуллина²

ПОДБОР ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДНК ПАТОГЕННЫХ БОРРЕЛИЙ

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

Цель исследования – анализ генетических маркеров возбудителей болезни Лайма, которые можно использовать для специфичной индикации их максимально большего числа штаммов и изолятов. Материалы и методы. Нуклеотидные последовательности различных генов Borrelia garinii, B. afzelii, B. burgdorferi загружены из базы данных NCBI (Национального центра биологической информатизации). Определение встречаемости анализируемых нуклеотидных последовательностей в генетическом коде различных организмов определяли в программной утилите nBLAST. Для дизайна праймеров и зондов использовали программу Vector NTI 9.1.0 (Invitrogen Corporation, Карлсбад, США), ДНК выделяли, используя набор реагентов «МАГНО-сорб» вариант 100-200 («АмплиСенс», Москва, Россия), согласно инструкции производителя. Праймеры и зонды синтезировали в ЗАО «Евроген» (Москва, Россия). Для проведения ПЦР использовались реактивы производства ЗАО «Синтол» (Москва, Россия). Результаты и обсуждение. Для достоверной индикации патогенных боррелий методами молекулярно-генетического анализа определены специфичные локусы (гены) различных видов возбудителей: В. garinii, В. afzelii, В. burgdorferi, - которые отличались от генетических кодов других представителей рода Borrelia и от ДНК иных организмов. В результате предварительного определения аналитической значимости исследуемых локусов для дальнейшей работы выбраны следующие гены и локусы: pepX, clpA, ospA, p83/100, ospC и flaB, - из которых для практической индикации ДНК патогенных боррелий выбраны гены flaB и ospA. Индикация генетических маркеров B. burgdorferi и B. afzelii происходит при амплификации гена flaB, а B. garinii и B. afzelii – при использовании в качестве генетического маркера гена *ospA*.

Ключевые слова: боррелии, специфичность, полиморфизм генов, ПЦР.

Корреспондирующий автор: Хаммадов Наиль Ильдарович, e-mail: nikhammadov@mail.ru.

Для цитирования: Хаммадов Н.И., Хамидуллина А.И. Подбор генетических маркеров для выявления ДНК патогенных боррелий. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:134—141. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-134-141

N.I. Khammadov¹, A.I. Khamidullina²

Genetic Markers for Detecting the DNA of Pathogenic Borrelia

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

Abstract. The aim of the study was to analyze the genetic markers of Lyme disease pathogens, which can be used to specifically indicate maximum number of their strains and isolates. Materials and methods. The nucleotide sequences of various genes of Borrelia garinii, B. afzelii, B. burgdorferi were downloaded from the NCBI database (National Center for Biological Informatization). The occurrence of the analyzed nucleotide sequences in the genetic code of various organisms was determined in the nBLAST software utility. For the design of primers and probes, the Vector NTI 9.1.0 program ("Invitrogen Corporation", Carlsbad, USA) was used. DNA was isolated using the MAGNO-sorb kit, version 100-200 ("AmpliSens", Moscow, Russia), according to the manufacturer's instructions. Primers and probes were synthesized at "Evrogen" company (Moscow, Russia). For PCR, reagents manufactured by "Synthol" company (Moscow, Russia) were applied. Results and discussion. In order to perform the reliable indication of pathogenic Borrelia, specific loci (genes) of B. garinii, B. afzelii, B. burgdorferi, which were significantly different from the genetic code of other representatives of the genus Borrelia and from the DNA of other organisms, have been determined by molecular-genetic methods. As a result of a preliminary determination of the analytical significance of the studied loci, the following genes and loci were selected for further work: pepX, clpA, ospA, p83/100, ospC and flaB, of which the flaB and ospA genes were selected for practical indication of pathogenic Borrelia DNA. The genetic markers of B. burgdorferi and B. afzelii are displayed during amplification of the flaB gene, while B. garinii and B. afzelii occur when the ospA gene is used as a genetic marker.

Key words: Borrelia, specificity, gene polymorphism, PCR.

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

Corresponding author: Nail I. Khammadov, e-mail: nikhammadov@mail.ru.

Citation: Khammadov N.I., Khamidullina A.I. Genetic Markers for Detecting the DNA of Pathogenic Borrelia. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:134–141. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-134-141

Received 06.02.2020. Revised 13.11.2020. Accepted 19.05.2022.

Khammadov N.I., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5669-1486 Khamidullina A.I., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5593-2399

Возбудитель боррелиоза — бактерия класса Spirochaetia, отряда Spirochaetales, семейства Borreliaceae, рода Borrelia, данный род насчитывает более

30 видов, из которых патогенными видами считаются *Borrelia garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi* [1], маркерные локусы которых будут описаны в данной работе.

В России обращения людей с жалобами на укусы клещей не редки. В 2020 г. было зарегистрировано 989 случаев заболевания клещевым энцефалитом (0,67 случая на 100 тыс. населения) [2]. Показатель заболеваемости клещевыми боррелиозами в тот же период составил 2,85 случая на 100 тыс. населения [3]. Оба заболевания зарегистрированы почти во всех федеральных округах страны и за ее пределами.

Схожая симптоматика протекания клещевого энцефалита и боррелиоза, а также кардинальные различия в их лечении и профилактике подчеркивают необходимость своевременной дифференциации анализируемых биопатогенов друг от друга. Для точной и быстрой индикации указанных выше патогенов хорошо подходят молекулярно-генетические методы (например, ПЦР). Маркерные локусы, наиболее подходящие для индикации вируса клещевого энцефалита, были описаны ранее [4]. Аналогичная работа относительно генетических маркеров патогенных боррелий представлена в данной публикации.

Цель исследования – анализ генетических маркеров возбудителей болезни Лайма, которые можно использовать для специфичной индикации их максимально большого числа штаммов и изолятов.

Материалы и методы

Нуклеотидные последовательности различных генов *В. garinii*, *В. afzelii*, *В. burgdorferi* загружены из базы данных NCBI (Национального центра биологической информации) [5]. Определение встречаемости анализируемых нуклеотидных последовательностей в генетическом коде различных организмов определяли в программной утилите nBLAST [6]. Для дизайна праймеров и зондов использовали программу Vector NTI 9.1.0 (Invitrogen Corporation, Карлсбад, США).

В качестве исследуемого материала использовали плазмидную ДНК со вставкой маркерных локусов clpA, ospA и flaB (синтезирована в ЗАО «Евроген», Москва, Россия) и образцы нуклеиновых кислот, полученные от клещей родов Ixodes (24 особи) и Dermacentor (11 особей). Клещи собраны в черте города Казани и пригородной лесополосе (Волжско-Камский заповедник), каждый экземпляр исследован индивидуально. Плазмидная ДНК являлась маркером, определяющим специфичность как нуклеотидную последовательность для амплификации, а нуклеиновые кислоты клещей обоих видов - как внутренний контроль (подтверждение результативности выделения ДНК). Для амплификации ДНК применяли термоциклер С1000 с оптическим блоком CFX96 (BioRad, Интернациональный бизнеспарк, Сингапур). Выделение ДНК производили, используя набор «МАГНО-сорб» вариант 100-200 («АмплиСенс», Москва, Россия), согласно инструкции производителя. При работе с образцами клещей их предварительно измельчали на гомогенизаторе FastPrep-24 (MP Biomedicals, Гленвиллоу, США) с применением Lysing Matrix A (MP Biomedicals, Гленвиллоу, США).

Для реакции амплификации использовали следующий состав реакционной смеси из расчета на одну пробу: 1,5 мкл 25 mM раствора MgCl₂; 1,5 мкл 2,5 mM раствора dNTP; 1,5 мкл 10х буфера для ПЦР; 0,5 мкл 10 рМ раствора зонда для ПЦР; 10 рМ раствора прямого и обратного праймеров по 0,5 мкл; 0,5 мкл Таq-полимеразы; 5 мкл нуклеиновых кислот и 3,5 мкл – деионизированной воды. При совместной амплификации плазмидной ДНК и ДНК клещей применяли следующую пропорцию: 5 мкл плазмидной ДНК и 3,5 мкл ДНК клещей (в данном случае в составе реакционной смеси деионизированная вода не применяется). Праймеры и зонды синтезировали в ЗАО «Евроген» (Москва, Россия). Для ПЦР использовались реактивы производства ЗАО «Синтол» (Москва, Россия). Конечный объем реакционной смеси составил 15 мкл. Амплификация нуклеиновых кислот осуществлялась по следующей программе: (I) денатурация ДНК при температуре 95 °C в течение 2 минут; (II) 5 циклов, состоящих из 10 секунд, – при 95 °C, 30 секунд – при 59 °C; (III) 40 циклов, состоящих из: 10 секунд - при 95 °C, 30 секунд – при 57,5 °C. Детекция результата ПЦР происходит на каждом из 40 циклов третьей стадии Π ЦР, при 57,5 °C по каналам Hex (R6G) и Cy5.

Результаты и обсуждение

Для достоверной индикации патогенных боррелий методами молекулярно-генетического анализа необходимо определить специфичные локусы (гены) B. garinii, B. afzelii, B. burgdorferi, которые будут достоверно отличаться от генетического кода других представителей рода Borrelia и ДНК иных организмов. В среднем геном боррелий составляет 1219280 пар нуклеотидных оснований. Для анализа выбраны нуклеотидные последовательности B. garinii, B. afzelii, B. burgdorferi, которые широко представлены в базе данных NCBI, что позволило провести их детальный анализ для подбора наиболее специфичного (амплификация нуклеиновых кислот патогенных боррелий) локуса. Наиболее интересующими нас в данном исследовании (имеющиеся у всех указанных выше видов боррелий) были следующие гены и локусы (GenBank ID): *omp66* (MN007126); плазмида ср32 (NZ CP018293); clpX (МН747562.1); clpA (MH747556); recG (MH747536); ospA (MF279825); p83/100 (MG010848); rplB (MF398161); groEL (КҮ828977); штамм В023 плазмида (СР018279); плазмида ср26 (CP018266); Р66 (AY090473); ospC (HQ660512); bmpC и bmpA (AF222439); bmpD и bmpC (AF222435); cspA (GQ344485); rpoB (AF525483); ospE (AF029910); *L7/L12* (AY737707); *bmpA* (KM267258); uvrA (JX971419); nifS (JX971299); rpoD (U68016); vlsE (AY100632); 5S-23S ribosomal RNA (JX649207); плазмида lp54 (AJ786368); 16S ribosomal RNA (EU152127); *dbpA* (AB253535); *bbk32* (AB253531);

p17 (AJ131976); recA (AF465241); flaB (KT347453); flagellin (JF732876); pyrG (MG013953) [7–21].

Всего потенциальных генетических маркеров для специфичной амплификации нуклеиновых кислот патогенных боррелий — 34, относительно всех нуклеотидных последовательностей выполнен анализ с использованием алгоритма BLAST [6], результаты анализа отражены в табл. 1.

У указанных микроорганизмов гомология к анализируемым генам не ниже 89 %.

Все анализируемые гены (табл. 1) – специфичные для рода *Borrelia*.

В результате определения аналитической значимости исследуемых локусов (BLAST-анализ) для дальнейшей работы выбраны следующие гены: *pepX*, *clpA*, *ospA*, *p83/100*, *ospC*, *flaB* и *flagellin*. В табл. 2

указаны виды боррелий, обладающие идентичными анализируемым генам нуклеотидными последовательностями.

Цифровые обозначения в табл. 2 указывают на количество выявляемых изолятов соответствующего организма при поисковом запросе по каждому из анализируемых маркерных локусов.

При анализе представленных маркерных локусов установлено, что гены ospA и flaB характеризуются большим количеством выявляемых изолятов В. afzelii, В. garinii и В. burgdorferi и минимальным содержанием гетерогенных организмов со схожим нуклеотидным составом генома (гомология ниже 95%). Комбинация вышеуказанных маркерных локусов позволяет исключить выявление гетерогенных организмов и повысить эффективность

Таблица 1 / Table 1

Встречаемость анализируемых генов у микроорганизмов рода *Borrelia*The occurrence of analyzed genes in microorganisms of the genus *Borrelia*

| | | | | | | | | | | | | | I | Мар | керн | ый | лок | yc/ | Mar | ker | locu | s | | | | | | | | _ | | _ | _ | |
|----------------------------|-------|-----------------|------|------|------|------|---------|------|-------|-------|------|-----|------|--------|--------|------|------|------|--------|------|------|------|------|------|--------|------|-----|------|-------|-----|------|-----|-----------|------|
| Организм Organism | 99dwo | $Xd 	extit{ad}$ | clpX | clpA | recG | ospA | p83/100 | rplB | groEL | pB023 | cp26 | 99A | ospC | bmpC/A | bmpD/C | cspA | rpoB | ospE | L7/L12 | bmpA | uvrA | nifS | Qodr | vlsE | 5S-23S | lp54 | S91 | 4ppA | bbk32 | p17 | recA | ЯаВ | flagellin | pyrG |
| B. afzelii | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| B. garinii | + | + | + | + | + | | | + | + | + | + | + | + | + | + | | + | | + | + | + | + | + | | + | | + | + | | + | + | + | + | + |
| B. burgdorferi | + | | | + | + | + | + | + | + | | + | + | + | | | | + | | + | + | + | + | | | + | | + | | | | + | + | + | + |
| B. spielmanii | | | + | + | + | | | + | + | | | | | | | | | | | | + | + | | | | + | + | | + | | + | | + | + |
| Borreliella bavariensis | + | + | + | + | + | | | + | + | + | + | + | | + | + | | + | | + | + | + | + | + | | | | + | | | | + | | + | + |
| B. japonica | | | + | + | + | | | + | + | | | | | | | | + | | | | + | + | + | | | | + | | | | | | + | |
| B. lanei | | | + | + | + | | | + | + | | | | | | | | | | | | + | | | | | | + | | | | + | + | | + |
| B. mayonii | + | + | + | + | + | | + | + | + | | + | | | + | | | + | | + | + | + | + | + | | | | + | | | | + | + | + | + |
| B. yangtzensis | | | + | + | + | | | + | + | | | | | | | | | | | | + | + | | | | | + | | | | + | + | + | + |
| B. valaisiana | + | | + | + | + | | | + | + | + | + | | | | | | + | | + | + | + | + | + | | + | | + | | | | + | + | + | |
| B. tanukii | | | | | | | | | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | + | | | | | + | + | |
| B. carolinensis | | | + | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | + | | | | | + | + | |
| B. maritima | + | | + | | + | | | + | + | | + | | | + | | | + | | + | + | + | + | + | | | | + | | | | | + | + | |
| B. chilensis | + | | + | | + | | | + | + | | | | | | | | + | | + | + | + | + | + | | | | + | | | | + | + | | + |
| B. finlandensis | | + | | | | | | | | | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | + | + | |
| B. bissettii | | + | + | + | + | | | + | + | | + | | | + | | | + | | + | + | + | + | + | | | | + | | | | + | + | + | + |
| B. lusitaniae | | | + | + | + | | | + | + | | | | | | | | + | | | | + | + | | | | | + | | | | + | + | + | + |
| B. sinica | | | + | + | | | | + | | | | | | | | | | | | | + | + | | | | | + | | | | | | | + |
| B. kurtenbachii | | | + | + | + | | | + | | | | | | | | | | | | | + | + | | | | | | | | | | | | + |
| B. andersonii | | | | + | + | | | + | + | | | | | + | | | + | | | + | + | | | | | | + | | | | + | | + | + |
| B. americana | | | | + | + | | | + | | | | | | | | | | | | | + | + | | | | | + | | | | | + | | + |
| B. californiensis | | | | | + | | | + | + | | | | | | | | | | | | + | + | | | | | + | | | | + | | + | |
| B. turdi | | | | | | | | | + | | | | | | | | | | | | | | | | | | + | | | | | + | | |
| Borrelia sp. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | + | | | | | | | |

Таблица 2 / Table 2

Встречаемость анализируемых генов у боррелий разных видов Frequency of the analyzed genes in different species of *Borrelia*

| Omposystant / Organism | | | Маркер | ный локус / Marl | ker locus | | |
|------------------------|------|------|--------|------------------|-----------|------|-----------|
| Организм / Organism | pepX | clpA | ospA | p83/100 | ospC | flaB | flagellin |
| B. afzelii | 14 | 26 | >100 | 39 | 66 | >100 | >100 |
| B. garinii | 64 | >100 | >100 | _ | 65 | - | - |
| B. burgdorferi | 4 | - | 10 | 4 | 37 | >100 | >100 |
| B. spielmanii | 1 | _ | _ | _ | _ | - | - |
| B. bavariensis | 12 | 32 | _ | _ | 8 | - | - |
| B. japonica | _ | 1 | _ | _ | _ | - | - |
| B. lanei | - | 1 | _ | _ | _ | - | - |
| B. mayonii | - | _ | _ | 2 | _ | - | - |
| B. yangtzensis | - | _ | _ | _ | 1 | - | - |
| B. valaisiana | _ | _ | _ | _ | 1 | _ | _ |
| B. tanukii | _ | _ | _ | _ | 2 | _ | _ |
| B. carolinensis | _ | _ | _ | _ | 1 | _ | _ |

индикации патогенных боррелий. Специфичное выявление генетических маркеров *B. burgdorferi* и *B. afzelii* у максимально большего количества их изолятов достигается благодаря анализу гена *flaB*. Амплификация гена *ospA* позволяет выявить ДНК *B. garinii* и *B. afzelii*. Мультилокусный подход для индикации и типирования патогенных боррелий описывается многими исследователями, при этом в качестве основного инструмента интерпретации полученных данных чаще всего используется анализ нуклеотидных последовательностей с использованием алгоритма BLAST [6] при секвенировании

искомых генов (чаще всего применяются гены flaB, glpQ, OspA, 16S pPHK и межгенный участок 5S-23S pPHK) [22–24].

Степень комплементарности различных изолятов выявляемых боррелий к общей нуклеотидной последовательности каждого гена отличается. С целью выявления наиболее консервативных участков внутри анализируемого локуса произведено взаимное сравнение ДНК изолятов с различной степенью гомологии по каждому из анализируемых маркерных локусов. Результат такого сравнения представлен на рис. 1.

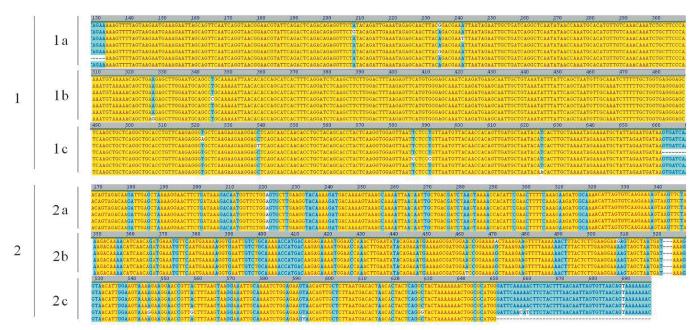


Рис. 1. Вариабельность нуклеотидных последовательностей генов flaB и ospA:

I — выравнивания по гену flab; Ia — нуклеотиды с 130-го по 310-й нуклеотид; Ib — с 310-го по 490-й нуклеотид; Ic — с 490-го по 670-й нуклеотид; 2 — выравнивания по гену ospA; 2a — с 169-го по 349-й нуклеотид; 2b — с 350-го по 530-й нуклеотид; 2c — с 529-го по 699-й нуклеотид

Fig. 1. The variability of the nucleotide sequences of the *flaB* and *ospA* genes:

I – alignment by the flaB gene; Ia – nucleotides, from 130th to 310th ones; Ib – from 310th to 490th nucleotides; Ic – from 490th to 670th nucleotides; 2 – alignment by the ospA gene; 2a – from the 169th to 349th nucleotides; 2b – from the 350th to 530th nucleotides; 2c – from 529th to 699th nucleotides

Нуклеотидные основания, выделенные желтым цветом, характеризуются идентичностью во всех анализируемых последовательностях. Выделение белым цветом указывает на точечную замену анализируемого основания (совпадение менее 50 % по отношению к общему числу анализируемых случаев), синий цвет — совпадение более 50 % по отношению к общему числу анализируемых нуклеотидов.

В результате сравнения ДНК микроорганизмов, характеризующихся наличием анализируемых генов, удалось установить, что ген flaB обладает наименьшей вариабельностью последовательности нуклеотидов. В совокупности с наличием гена flaB лишь у бактерий вида B. afzelii и B. burgdorferi применение данного маркера целесообразно для выявления генетического материала патогенных боррелий. Анализ гена ospA (для выявления ДНК B. garinii и B. afzelii) также подразумевает наличие маловариабельных участков для дизайна комплементарных им олигонуклеотидных затравок.

Исходя из вариабельности генов flaB и ospA, выполнен дизайн праймеров и зондов для амплификации каждого из маркерных локусов, которые представлены в табл. 3.

Дизайн праймеров и зондов для ПЦР осуществлялся комплементарно локусам маркерных последовательностей ДНК, характеризующихся минимальной вариабельностью нуклеотидов искомых изолятов патогенных боррелий. Так, удалось достичь отсутствия полиморфизма в составе олигонуклеотидов во всех случаях, кроме праймеров для амплификации гена ospA. Все димеры и вторичные структуры не оказывают негативного влияния на процесс амплификации, так как характеризуются минимальной длиной.

Для контроля качества выделения нуклеиновых кислот применялись праймеры и зонды, описанные ранее [4], с обозначением *Ixodes* и *Dermacentor*. Данные затравки применяются в мультиплексном

формате (все олигонуклеотиды для контроля качества выделения нуклеиновых кислот применяются в одной пробирке).

Праймеры для индикации клещевого боррелиоза (Forward primer flaB, Reverse primer flaB, Forward primer ospA, Reverse primer ospA) имеют среднюю температуру плавления (57,67±0,26) °C, а олигонуклеотиды для контроля амплификации — (56,35±0,29) °C, что минимизирует влияние контрольной амплификации на прохождение специфичной ПЦР при температуре отжига 57,8 °C.

Для контроля ПЦР (специфичная часть положительного контрольного образца для этапа ПЦР) была создана следующая нуклеотидная последовательность (5'CAGGCTCAATATAACCAAATGCACATTG GTCCTTCTGGAGCGGGATCAAACAAATCTGCTT CCCAAAATGTAAAAACAAATTGACGGATATTTT ATCAGAAGAGCTTGGATTAACACACCAGCATCA CTTTCAGGACCTGTTTTAAGTAATGAAGGGTAT TATGAATCATGAAAGTTCTTGTAAGTAAAGAAA AAGACAAAGACGGTAAATACAGCCAAACTTGA GCTAAAAGGAACTTCTGATAAAAGCAATGGTTC TGGAGTGCTTGAAGGTACAAAAGCTGACAAAA GTAAAGCAAAGTTAACCATTTC3'). Вставку маркерной последовательности в плазмиду pAL2-T заказали в ЗАО «Евроген». Результат ПЦР с плазмидной ДНК и ДНК клещей представлен на рис. 2.

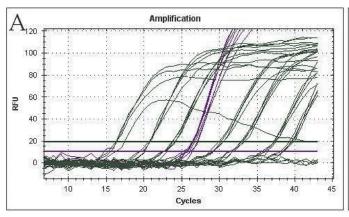
Для определения предела обнаружения синтетической ДНК подготовили 10 десятикратных разведений плазмиды с начальной концентрацией 375 нг/мкл, что соответствует (для применяемой плазмиды) 99417428000 геном-эквивалентов на миллилитр (Γ Э/мл). Каждое из разведений амплифицировали в четырех повторах. Предельное работоспособное (все реакции ПЦР успешны) разбавление составило 10^{-9} , что соответствует одной молекуле ДНК в реакционной смеси (200 Γ Э/мл).

Интерпретация результатов амплификации осуществляется следующим образом. Визуализация

Таблица 3 / Table 3

Применяемые в работе для амплификации олигонуклеотиды Oligonucleotides used in the work for amplification

| Название праймера, зонда Name of primer, probe | Нуклеотидная последовательность Nucleotide sequence |
|---|--|
| Forward primer <i>flaB</i> | CAGGCTCAATATAACCAAATGCACAT |
| Reverse primer flaB | CCTGAAAGTGATGCTGGTGTTAAT |
| Probe flaB | (R6G)TCAAACAAATCTGCTTCCCAAAATGTAAAAACA(BHQ1) |
| Forward primer ospA | TGTTAATTTTGCTTTACTTTTGTCAGCTTT |
| Reverse primer ospA | AAGTTCTTGTAAGTAAAGAAAAGACAAAGACG |
| Probe ospA | (R6G)AGAACCATTGTTTTTATCAGAAGTTCCTTTTAGCTCAA(BHQ1) |
| Forward primer Ixodes | CATATTGAATTTGAGGAGGATTTTCAGT |
| Reverse primer Ixodes | TGTGAAGTAAGGGTGGAAAGGGAT |
| Probe Ixodes | (Cy5)ACACTCACTCGATTTTTTTCTTTACATTTTATTTTACCTTT(RTQ2) |
| Forward primer Dermacentor | GCTAAGAGAATGGAATTTCAGGGAA |
| Reverse primer Dermacentor | AGATGCCCCAACTAAGAATTCCTAAT |
| Probe Dermacentor | (Cy5)AAGAAACAATTATAAAATTAAGGACAAGAAGACCCTAAGAA(RTQ2) |



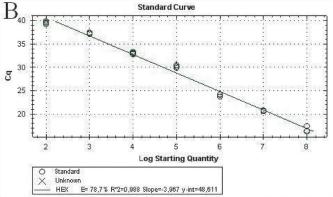


Рис. 2. Амплификация маркерных локусов для индикации патогенных боррелий (ген flaB): A – амплификация контрольной и клещевой ДНК; B – количественная калибровка плазмидного контроля

Fig. 2. Amplification of marker loci to indicate pathogenic Borrelia (flaB gene): A – amplification of control and tick DNA; B – quantitative calibration of plasmid control

ПЦР с олигонуклеотидными затравками для выявления клещевого боррелиоза происходит по каналу Нех (он же R6G), а внутреннего контроля — по каналу Су5. Так, индикация *B. burgdorferi* и *B. afzelii* осуществляется с использованием гена *flaB*, амплификация генетического маркера *ospA* позволяет идентифицировать боррелии видов *B. garinii* и *B. afzelii*. Мультиплексный подход исследования ДНК боррелий позволяет выявлять максимальное количество изолятов и штаммов боррелий видов *B. garinii*, *B. burgdorferi* и *B. afzelii* (табл. 2).

При получении положительного результата ПЦР по каналу Нех результат амплификации по каналу Су5 можно не учитывать. В случае отсутствия амплификации по каналу Нех и наличия сигнала флуоресценции (положительной ПЦР) по каналу Су5 можно утверждать об отсутствии в анализируемом материале патогенных боррелий. Отрицательный результат амплификации по обоим каналам (подтверждение работоспособности общих компонентов реакционной смеси и применяемых специфичных олигонуклеотидов происходит при амплификации положительного контрольного образца) может свидетельствовать о потере ДНК в процессе выделения (или ингибировании реакции) либо о принадлежности исследуемого клеща к биологическому виду, который не амплифицируется с олигонуклеотидами внутреннего контроля амплификации, применимыми в данном исследовании. Подтвердить отсутствие потери генетического материала при выделении ДНК и качественную очистку от ингибиторов ПЦР можно, повторив анализ начиная с этапа выделения ДНК, дополнительно добавив плазмидную ДНК, содержащую нуклеотидную последовательность (5'САТ ATTGAATTTGAGGAGGATTTTCAGTGCTAAGAA CACTCACTCGATTTTTTTTTTTTACATTTTATTTTA CCTTTTCAGGGAATCCCTTTCCACCCTTACTTC АСАЗ'), аналогичную генетическому маркеру для амплификации генетического материала клещей рода Ixodes (вставка осуществляется аналогично случаю с положительным контролем амплификации).

В этом случае при качественном выделении ДНК будет положительный результат ПЦР по каналу Су5, если по-прежнему амплификация пробы не произошла (а проба с положительным контролем амплифицируется), нужно заменить набор для выделения ДНК и повторить анализ.

Осуществив подбор генетических маркеров для выявления ДНК патогенных боррелий, установили, что наиболее эффективной для этого является амплификация генов *flaB* и *ospA*, интерпретировать результат амплификации следует по обоим генам. Определить качество выделения ДНК можно при амплификации генетического материала клещей родов *Ixodes* и *Dermacentor*.

В дальнейшем нами планируется работа по подтверждению практической эффективности разработанных олигонуклеотидов для индикации маркерных генов патогенных боррелий (flaB и ospA) в сравнении с коммерческими тестами.

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

Благодарность. Благодарим Дениса Владимировича Тишина за предоставление образцов клещей для исследования.

Список литературы

1. Бессолицына Е.А., Копосова О.Н. Подбор праймеров для идентификации Borrelia garinii, Borrelia afzelii, Borrelia burgdorferi. В кн.: Общество. Наука. Инновации (НПК-2019): Сборник статей XIX Всероссийской научно-практической конференции: в 4 т. Киров: Вятский государственный университет; 2019. Т. 1. Биологические и химические науки. С. 13–9. [Электронный ресурс]. URL: https://yadi.sk/i/JsFAWdHJQ2ilHg. 2. Андаев Е.И., Никитин А.Я., Яцменко Е.В., Веригина Е.В., Толмачёва М.И., Аюгин Н.И., Матвеева В.А., Балахонов С.В. Тенленции развития эпилемического процесса клешевого ви-

2. Андаев Е.И., Никитин А.Я., Яцменко Е.В., Веригина Е.В., Толмачёва М.И., Аюгин Н.И., Матвеева В.А., Балахонов С.В. Тенденции развития эпидемического 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.

3. Рудакова С.А., Пеньевская 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.

4. Хаммадов Н.И. Поиск генетических маркеров вируса клещевого энцефалита для его специфичной индикации. *Проблемы* особо опасных инфекций. 2020; 2:122–8. DOI: 10.21055/0370-

1069-2020-2-122-128.

5. National Center for Biotechnology Information. [Электронный ресурс]. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/ (дата обращения 03.03.2022).

6. Basic Local Alignment Search Tool. [Электронный ресурс] https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn& E_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome (дата обращения 03.03.2022).

7. Bunikis J., Noppa L., Bergström S. Molecular analysis of a 66-kDa protein associated with the outer membrane of Lyme disease Borrelia. *FEMS Microbiol. Lett.* 1995; 131(2):139–45. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1995.tb07768.x.

8. Ornstein K., Ostberg Y., Bunikis J., Noppa L., Berglund J., Norrby R., Bergström S. Differential immune response to the variable surface loop antigen of P66 of *Borrelia burgdorferi sensu*

variable surface loop antigen of P66 of Borrelia burgdorferi sensu lato species in geographically diverse populations of lyme borreliosis patients. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2002; 9(6):1382–4. DOI: 10.1128/cdli.9.6.1382-1384.2002.

9. Gorbacheva V.Y., Godfrey H.P., Cabello F.C. Analysis of the bmp gene family in Borrelia burgdorferi sensu lato. J. Bacteriol. 2000; 182(7):2037–42. DOI: 10.1128/jb.182.7.2037-2042.2000.

10. Kišová-Vargová L., Mucha R., Cerňanská D., Bhide M. Host-dependent differential expression of factor H binding proteins, their affinity to factor H and complement evasion by Lyme and relapsing fever borreliae. Vet. Microbiol. 2011; 148(2–4):341–7. DOI: 10.1016/j.vetmic.2010.09.026.

11. Sung S.Y., Lavoie C.P., Carlyon J.A., Marconi R.T. Genetic divergence and evolutionary instability in ospE-related members of the upstream homology box gene family in Borrelia burgdorferi sensu lato complex isolates. Infect. Immun. 1998; 66(10):4656–68. DOI: 10.1128/IAI.66.10.4656-4668.1998.

12. Mukhacheva T.A., Kovalev S.Y. Multilocus sequence

10.1128/IAI.66.10.4656-4668.1998.

12. Mukhacheva T.A., Kovalev S.Y. Multilocus sequence analysis of Borrelia burgdorferi s.l. in Russia. Ticks Tick Borne Dis. 2013; 4(4):275–9. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2013.02.004.

13. Pan M.J., Tsai C.P., Yeh J.C. Sequence diversity of a gene encoding a putative primary sigma factor among Borrelia burgdorferi sensu lato strains. FEMS Microbiol. Lett. 1997; 148(2):153–8. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1997,tb10281.x.

14. Wang D., Botkin D.J., Norris S.J. Characterization of the vls antigenic variation loci of the Lyme disease spirochaetes Borrelia garinii Ip90 and Borrelia afzelii ACAI. Mol. Microbiol. 2003; 47(5):1407–17. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2003.03386.x.

15. Chao L.L., Lu C.F., Shih C.M. Molecular detection and genetic identification of Borrelia garinii and Borrelia afzelii from patients presenting with a rare skin manifestation of prurigo pigmentosa in Taiwan. Int. J. Infect. Dis. 2013; 17(12):e1141-7. DOI: 10.1016/j.jijid.2013.08.004.

16. Wallich R., Pattathu J., Kitiratschky V., Brenner C., Zipfel P.F., Brade V., Simon M.M., Kraiczy P. Identification and functional characterization of complement regulator-acquiring surface protein 1 of the Lyme disease spirochetes Borrelia afzelii and Borrelia garinii. of the Lyme disease spirochetes *Borrelia afzelii* and *Borrelia garinii*. *Infect. Immun.* 2005; 73(4):2351–9. DOI: 10.1128/IAI.73.4.2351-Infect. Imn 2359.2005.

17. Zygner W., Jaros S., Wedrychowicz H. Prevalence of *Babesia canis*, *Borrelia afzelii*, and *Anaplasma phagocytophilum* infection in hard ticks removed from dogs in Warsaw (central Poland). *Vet. Parasitol*. 2008; 153(1–2):139–42. DOI: 10.1016/j. vetpar.2008.01.036.

18. Koci J., Derdákova M., Peterková K., Kazimirová M., Selyemová D., Labuda M. *Borrelia afzelii* gene expression in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2006; 6(3):296–304. DOI: 10.1089/vbz.2006.6.296.

Wonner G. Habermann

19. Jauris-Heipke S., Rössle B., Wanner G., Habermann C., Rössler D., Fingerle V., Lehnert G., Lobentanzer R., Pradel I., Hillenbrand B., Schulte-Spechtel U., Wilske B. Osp17, a novel immunodominant outer surface protein of *Borrelia afzelii*: recombinant expression in *Escherichia coli* and its use as a diagnostic antigen for serodiagnosis of Lyme borreliosis. *Med. Microbiol. Immunol.* 1999; 187(4):213–9. DOI: 10.1007/s004300050095.

20. Espí A., Del Cerro A., Somoano A., García V., Prieto J.M., Barandika J.F., García-Pérez A.L. *Borrelia burgdorferi sensu lato* prevalence and diversity in ticks and small mammals in a Lyme borreliosis endemic Nature Reserve in North-Western Spain. Incidence in surrounding human populations. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2017; 35(9):563–8. DOI: 10.1016/j.eimc.2016.06.011.

21. Nunes M., Parreira R., Maia C., Lopes N., Fingerle V., Vieira M.L. Molecular identification of *Borrelia* genus in questing hard ticks from Portugal: Phylogenetic characterization of two poyels.

hard ticks from Portugal: Phylogenetic characterization of two novel

nard ticks from Portugat: Phytogenetic characterization of two novel Relapsing Fever-like *Borrelia* sp. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 40:266–74. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.03.008.

22. Jungnick S., Margos G., Rieger M., Dzaferovic E., Bent S.J., Overzier E., Silaghi C., Walder G., Wex F., Koloczek J., Sing A., Fingerle V. *Borrelia burgdorferi sensu stricto* and *Borrelia afzelii*: Population structure and differential pathogenicity. *Int. J. Med. Microbiol.* 2015; 305(7):673–81. DOI: 10.1016/j.ijmm.2015.08.017.

23. Zhai B., Niu Q., Liu Z., Yang J., Pan Y., Li Y., Zhao H., Luo J., Yin H. First detection and molecular identification of Borrelia species in Bactrian camel (Camelus bactrianus) from Northwest China. Infect. Genet. Evol. 2018; 64:149–55. DOI: 10.1016/j. meegid.2018.06.028.

24. Ružić-Sabljić E., Cerar T. Borrelia genotyping in Lyme disease. *Open Dermatology J.* 2016; 10(1):6–14. DOI: 10.2174/1874372201610010006.

References

1. Bessolitsyna E.A., Koposova O.N. [Selection of primers for identification of *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdor*feri]. In: [Society. Science. Innovations (SPC-2019) Collection of papers of the XIX All-Russian Scientific and Practical Conference: in 4 volumes. Vyatka State University]. 2019. Vol. 1. [Biological and Chemical Sciences]. P. 13–9. Available from: https://yadi.sk/i/JsFAWdHJQ2ilHg.

2. 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

tis 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.

3. 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.

4. Khammadov N.I. [Search for genetic markers of tick-borne

4. Knammadov N.I. [Search for genetic markers of tick-borbe encephalitis virus for its specific indication]. *Problemy Osobic Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):122–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-122-122. 5. National Center for Biotechnology Information. (Cited 3 Mar 022). [Internet]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/. 6. Basic Local Alignment Search Tool. (Cited 3 Mar 2022). [Internet]. Available from: https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_IOC=blasthome

cg1?PROGRAM=blastn&PAGE_1 | FE-DiastSeatch&Elink_LOC=blasthome.
7. Bunikis J., Noppa L., Bergström S. Molecular analysis of a 66-kDa protein associated with the outer membrane of Lyme disease Borrelia. FEMS Microbiol. Lett. 1995; 131(2):139-45. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1995.tb07768.x.
8. Ornstein K., Ostberg Y., Bunikis J., Noppa L., Berglund J., Norrby R., Bergström S. Differential immune response to the variable surface loop antion of P66 of Rorrelia hurgdorfer; sensu lato able surface loop antigen of P66 of Borrelia burgdorferi sensu lato able surface loop antigen of P66 of Borrelia burgdorferi sensu lato species in geographically diverse populations of lyme borreliosis patients. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 2002; 9(6):1382–4. DOI: 10.1128/cdli.9.6.1382-1384.2002.

9. Gorbacheva V.Y., Godfrey H.P., Cabello F.C. Analysis of the bmp gene family in Borrelia burgdorferi sensu lato. J. Bacteriol. 2000; 182(7):2037–42. DOI: 10.1128/jb.182.7.2037-2042.2000.

10. Kišová-Vargová L., Mucha R., Cerňanská D., Bhide M. Host-dependent differential expression of factor H binding proteins. Their affinity to factor H and complement evasion by Lyme and re-

their affinity to factor H and complement evasion by Lyme and relapsing fever borreliae. *Vet. Microbiol.* 2011; 148(2–4):341–7. DOI:

10.1016/j.vetmic.2010.09.026.
11. Sung S.Y., Lavoie C.P., Carlyon J.A., Marconi R.T. Genetic divergence and evolutionary instability in ospE-related members of the upstream homology box gene family in *Borrelia burgdorferi sentendiction* 10.1016/j. 2011. su lato complex isolates. *Infect. Immun.* 1998; 66(10):4656–68. DOI: 10.1128/IAI.66.10.4656-4668.1998.

10.1128/IAI.66.10.4656-4668.1998.

12. Mukhacheva T.A., Kovalev S.Y. Multilocus sequence analysis of *Borrelia burgdorferi s.l.* in Russia. *Ticks Tick Borne Dis*. 2013; 4(4):275–9. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2013.02.004.

13. Pan M.J., Tsai C.P., Yeh J.C. Sequence diversity of a gene encoding a putative primary sigma factor among *Borrelia burgdorferi sensu lato* strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 1997; 148(2):153–8. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1997.tb10281.x.

14. Wang D., Botkin D.J., Norris S.J. Characterization of the vls antigenic variation loci of the Lyme disease spirochaetes *Borrelia garinii* Ip90 and *Borrelia afzelii* ACAI. *Mol. Microbiol.* 2003; 47(5):1407–17. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2003.03386.x.

15. Chao L.L., Lu C.F., Shih C.M. Molecular detection and genetic identification of *Borrelia garinii* and *Borrelia afzelii* from patients presenting with a rare skin manifestation of prurigo pig-

patients presenting with a rare skin manifestation of prurigo pigmentosa in Taiwan. *Int. J. Infect. Dis.* 2013; 17(12):e1141-7. DOI: 10.1016/j.ijid.2013.08.004.

16. Wallich R., Pattathu J., Kitiratschky V., Brenner C., Zipfel P.F., Brade V., Simon M.M., Kraiczy P. Identification and functional

characterization of complement regulator-acquiring surface protein 1 of the Lyme disease spirochetes *Borrelia afzelii* and *Borrelia garinii*. *Infect. Immun.* 2005; 73(4):2351–9. DOI: 10.1128/IAI.73.4.2351-2359.2005.

140

17. Zygner W., Jaros S., Wedrychowicz H. Prevalence of *Babesia canis, Borrelia afzelii*, and *Anaplasma phagocytophilum* infection in hard ticks removed from dogs in Warsaw (central Poland). *Vet. Parasitol.* 2008; 153(1–2):139–42. DOI: 10.1016/j. vetpar.2008.01.036.

18. Koci J., Derdákova M., Peterková K., Kazimirová M., Selyemová D., Labuda M. *Borrelia afzelii* gene expression in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) ticks. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2006; 6(3):296–304. DOI: 10.1089/vbz.2006.6.296.

19. Jauris-Heipke S., Rössle B., Wanner G., Habermann C., Rössler D., Fingerle V., Lehnert G., Lobentanzer R., Pradel I., Hillenbrand B., Schulte-Spechtel U., Wilske B. Osp17, a novel immunodominant outer surface protein of *Borrelia afzelii*: recombinant expression in *Escherichia coli* and its use as a diagnostic antigen for serodiagnosis of Lyme borreliosis. *Med. Microbiol. Immunol.* 1999; 187(4):213–9. DOI: 10.1007/s00430050095.

20. Espí A., Del Cerro A., Somoano A., García V., Prieto J.M., Barandika J.F., García-Pérez A.L. *Borrelia burgdorferi sensu lato* prevalence and diversity in ticks and small mammals in a Lyme bor-

Barandika J.F., García-Pérez A.L. *Borrelia burgdorferi sensu lato* prevalence and diversity in ticks and small mammals in a Lyme borreliosis endemic Nature Reserve in North-Western Spain. Incidence in surrounding human populations. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2017; 35(9):563–8. DOI: 10.1016/j.eimc.2016.06.011.

21. Nunes M., Parreira R., Maia C., Lopes N., Fingerle V., Vieira M.L. Molecular identification of *Borrelia* genus in questing hard ticks from Portugal: Phylogenetic characterization of two novel Relapsing Fever-like *Borrelia* sp. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 40:266–74. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.03.008.

22. Jungnick S., Margos G., Rieger M., Dzaferovic E., Bent S.J., Overzier E., Silaghi C., Walder G., Wex F., Koloczek J., Sing A.,

Fingerle V. Borrelia burgdorferi sensu stricto and Borrelia afzelii: Population structure and differential pathogenicity. *Int. J. Med. Microbiol.* 2015; 305(7):673–81. DOI: 10.1016/j.ijmm.2015.08.017. 23. Zhai B., Niu Q., Liu Z., Yang J., Pan Y., Li Y., Zhao H.,

Luo J., Yin H. First detection and molecular identification of *Borrelia* species in Bactrian camel (*Camelus bactrianus*) from Northwest China. *Infect. Genet. Evol.* 2018; 64:149–55. DOI: 10.1016/j. meegid.2018.06.028.

24. Ružić-Sabljić E., Cerar T. Borrelia genotyping in Lyme disease. *Open Dermatology J.* 2016; 10(1):6–14. DOI: 10.2174/1874372201610010006.

Authors:

Khammadov N.I. Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety. Science city-2, Kazan, Republic of Tatarstan, 420075, Russian Federation. E-mail: vnivi@mail.ru.

Khamidullina A.I. Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. 35, Siberian Highway, Kazan, Republic of Tatarstan, 420029, Russian Federation. E-mail: kgavm_baumana@mail.ru.

Об авторах: *Хаммадов Н.И.* Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности. Российская Федерация, 420075, Республика Татарстан, Казань, Научный городок-2. E-mail: vnivi@mail.ru.

сопуолива гатарстан, казань, газчный городок-2. E-mail: vnivi@mail.ru. Хамидуллина А.И. Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана. Российская Федерация, 420029, Республика Татарстан, Казань, Сибирский Тракт, 35. E-mail: kgavm_baumana@mail.ru.

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ Brief communications

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-142-144

УДК 57.084.1+615.478.74

В.Г. Германчук, Е.В. Кислицина, О.А. Лобовикова, Н.П. Миронова, Н.Ю. Шавина, М.В. Гордеева

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНЕРАТОРА ПАРОВ ПЕРЕКИСИ ВОДОРОДА FHILEAS 75 ДЛЯ ДЕЗИНФЕКЦИИ СИСТЕМЫ ВОЗДУХОВОДОВ ИНДИВИДУАЛЬНО ВЕНТИЛИРУЕМОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ СОДЕРЖАНИЯ ИНФИЦИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ

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

Цель работы — оценка эффективности использования генератора паров перекиси водорода Fhileas 75 для обеззараживания системы воздуховодов индивидуально вентилируемой системы Bio A.S. для содержания инфицированных животных. **Материалы и методы.** В работе использовали генератор паров перекиси водорода Fhileas 75 (Франция), дезинфицирующее средство завода-изготовителя FHILEASAFE (7 % раствор перекиси водорода и 0,15 % раствор надуксусной кислоты), индивидуально вентилируемую систему Bio A.S. (Германия) для содержания инфицированных животных. В качестве тест-штаммов микроорганизмов применяли *Serratia marcescens* 9. **Результаты и обсуждение.** Показана эффективность использования генератора паров перекиси водорода Fhileas 75 для обеззараживания системы воздуховодов и внутренних поверхностей стеллажа индивидуально вентилируемой системы Вio A.S. на тестовой культуре *S. marcescens* 9 с концентрацией 1·10⁶ м.к./мл (при следующих рабочих параметрах функционирования блока индивидуально вентилируемой системы: скорость воздухообмена — 60 обменов в час, объем потока воздуха — 28 м³/ч, количество дезинфекционных циклов — 5, время распыления дезинфицирующего средства — 97 мин, время экспозиции — 24 часа).

Ключевые слова: генератор паров перекиси водорода, дезинфицирующее средство, индивидуально вентилируемая система, патогенные биологические агенты, инфицированные животные.

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

Для цитирования: Германчук В.Г., Кислицина Е.В., Лобовикова О.А., Миронова Н.П., Шавина Н.Ю., Гордеева М.В. Эффективность использования генератора паров перекиси водорода Fhileas 75 для дезинфекции системы воздуховодов индивидуально вентилируемой системы для содержания инфицированных животных. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:142–144. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-142-144

Поступила 28.12.2021. Отправлена на доработку 22.01.2022. Принята к публ. 21.04.2022.

V.G. Germanchuk, E.V. Kislitsina, O.A. Lobovikova, N.P. Mironova, N.Yu. Shavina, M.V. Gordeeva Efficiency of Using the Hydrogen Peroxide Vapor Generator "Fhileas 75" for Disinfection of the Air Ducts of Separately Ventilated System for Infected Animal Housing

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

Abstract. The aim of the work was to evaluate the efficiency of using the "Fhileas 75" hydrogen peroxide vapor generator for decontaminating the air ducts of the individually ventilated system, "Bio A.S.", for housing of infected animals. Materials and methods. The hydrogen peroxide vapor generator "Fhileas 75" (France), a disinfectant manufactured by "FHILEASAFE" (7 % hydrogen peroxide solution and 0.15 % peracetic acid solution), separately ventilated system "Bio A.S." (Germany) for the infected animal housing were applied in the work. Serratia marcescens 9 was used as test-culture. Results and discussion. The efficiency of using the hydrogen peroxide vapor generator "Fhileas 75" for decontamination of air ducts and internal surfaces of the rack of the individually ventilated system "Bio A.S." on the test-culture S. marcescens 9 at 1·106 mc/ml concentration has been established (operation parameters of the individually ventilated system unit are as follows: air exchange rate – 60 changes per hour, air flow volume – 28 m³/hour, number of disinfection cycles – 5, disinfectant spraying time – 97 min, exposure time – 24 hours).

Key words: hydrogen peroxide vapor generator, disinfectant, individually ventilated system, pathogenic biological agents, infected animals.

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

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

Citation: Germanchuk V.G., Kislitsina E.V., Lobovikova O.A., Mironova N.P., Shavina N.Yu., Gordeeva M.V. Efficiency of Using the Hydrogen Peroxide Vapor Generator "Fhileas 75" for Disinfection of the Air Ducts of Separately Ventilated System for Infected Animal Housing. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:142–144. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-142-144

Received 28.12.2021. Revised 22.01.2022. Accepted 21.04.2022.

Germanchuk V.G., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8986-3640 Kislitsina E.V., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7565-2383 Lobovikova O.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8085-2331

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

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

Наличие опасных биологических факторов, формирующих недопустимый риск и способных привести к возникновению эпидемий, эпизоотий, эпифитотий, ухудшению ситуации в области биологической безопасности и (или) перерастанию ее в

чрезвычайную ситуацию биологического характера, представляет собой биологическую угрозу.

К одному из видов основных биологических угроз относятся аварии на объектах, на которых находятся источники биологической опасности

и (или) проводятся работы с патогенными биологическими агентами (ПБА). Биориск присутствует при выполнении любых манипуляций с ПБА [1–4]. Экспериментальные, производственные и диагностические работы с использованием зараженных биомоделей связаны с риском неблагоприятных событий. Важнейшей особенностью этих исследований является потенциальная опасность инфицирования персонала и загрязнения окружающей среды.

Для содержания зараженных биомоделей используются системы индивидуально вентилируемых клеток (ИВС) и шкафов для содержания инфицированных животных. ИВС представляет собой установку подготовки воздуха (с созданием разряжения или избыточного давления воздуха, который на входе и выходе очищается предфильтрами и НЕРАфильтрами Н13 или Н14) и стеллаж с клетками для содержания экспериментальных животных различных размеров, в зависимости от их вида. Изолированное содержание инфицированных биомоделей в ИВС исключает перекрестное заражение лабораторных животных различными инфекциями и минимизирует риски заражения персонала вивария [5, 6].

Важной составляющей комплекса мероприятий, направленных на уменьшение потенциальной опасности инфицирования персонала и загрязнения окружающей среды, является дезинфекция, проводимая в помещениях для содержания лабораторных животных. В соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» дезинфекция включает работы по полному или частичному уничтожению (удалению) микроорганизмов - возбудителей инфекционных болезней на (в) объектах. Обеззараживание объектов проводят орошением, протиранием, обработкой аэрозолями, погружением и другими способами. Дезинфекцию поверхностей в помещениях, оборудования, лабораторной мебели, приборов и прочего, а также воздуха заразной зоны проводят после завершения работ с ПБА, а при необходимости – и перед проведением работ с ПБА. Наиболее труднодоступными для проведения обеззараживания являются внутренние поверхности стеллажа и воздуховоды ИВС для содержания лабораторных животных.

Цель работы – оценка эффективности использования генератора паров перекиси водорода Fhileas 75 для обеззараживания системы воздуховодов индивидуально вентилируемой системы Bio A.S. для содержания инфицированных животных.

Материалы и методы

Для проведения дезинфекции использовали генератор паров перекиси водорода Fhileas 75 (Франция), дезинфицирующее средство завода-изготовителя FHILEASAFE (7 % раствор перекиси водорода и 0,15 % раствор надуксусной кислоты). Контроль качества дезинфицирующего средства по содержанию основного вещества подтвердил соответствие заявленным характеристикам. Индивидуально

вентилируемая система Bio A.S. (Германия) для содержания инфицированных животных включает в себя вентиляционный блок и стеллаж для размещения 64 клеток. Клетки для содержания белых мышей изготовлены из поликарбоната и состоят из корпуса, решетчатой крышки и крышки с фильтром с внешней поилкой. В качестве тест-штаммов микроорганизмов использовали суспензии суточных культур Serratia marcescens 9.

Результаты и обсуждение

В последнее время наряду с традиционными широкое распространение получил аэрозольный способ химической дезинфекции [7, 8]. Получаемый при этом различными техническими средствами аэрозоль, со среднемедианным диаметром частиц от 2 до 35 мкм, за короткое время позволяет проводить обработку помещений при небольших концентрациях аэрозоля. К новейшим эффективным технологиям обеззараживания можно отнести проведение аэрозольной дезинфекции при помощи горячего и холодного тумана, создание которых обеспечивают термомеханические генераторы и генераторы ультрамалообъемной обработки [9]. Правильный выбор способа обработки, гарантирующий обеззараживание труднодоступных мест системы вентиляции, позволяет снизить риски возникновения инфекционных заболеваний с аэрозольным механизмом передачи [10].

Согласно данным, заявленным производителем, генератор паров перекиси водорода Fhileas 75 предназначен для проведения дезинфекции поверхностей сухим аэрозольным туманом, или DSAM (Disinfection of Surfaces with Dry Aerosol Mist), pacпространяющимся в ограниченном объеме, и позволяет продезинфицировать области, считающиеся недоступными или даже обычно закрытые. Его применение возможно в лабораториях, вивариях, медицинских учреждениях для дезинфекции производственных установок, резервуаров, изоляторов, боксов, ламинарных шкафов, ПЦР-боксов и т.п. Генератор паров перекиси водорода Fhileas 75 укомплектован контейнером для раствора дезинфицирующего средства, помещающимся в генератор, и планшетом для дистанционного управления работой генератора. Обеззараживание осуществляется в автоматическом режиме без присутствия человека, программное обеспечение постоянное и регулировке не подвергается (максимальное количество циклов – 5, время распыления – 97 мин, объем обработки – до 180 м³).

Для проведения обеззараживания системы воздуховодов и внутренних поверхностей стеллажа для размещения клеток ИВС Віо А.S. изготовили проволочный зонд высотой 400 мм и диаметром: на входе над генератором Fhileas 75 – 530 мм, на входе в ИВС Віо А.S. – 110 мм. Стенки зонда сформировали из строительной прозрачной пленки, для соединения с системой воздуховодов использовали пластиковую трубу длиной 400 мм и диаметром 110 мм, соединения герметизировали. Зонд соединили с гофрированной трубой подводящего воздуховода в стеллаж для

размещения клеток ИВС Віо А.Ѕ., соединения герметизировали. Вращающий диск генератора паров перекиси водорода Fhileas 75 разместили под зондом. Выходящий воздуховод для подачи воздуха после очистки основным фильтром находился вне зонда, при работающем в штатном режиме вентиляционном блоке. Регулируемые параметры обитаемости для содержания лабораторных животных в клетках настраивали вручную с помощью сенсорного экрана вентиляционного блока ИВС Віо А.S. (скорость воздухообмена - от 30 до 60 обменов в час, объем потока воздуха — от 16 до 28 M^3/Ψ).

Дезинфицирующее средство завода-изготовителя FHILEASAFE (7 % раствор перекиси водорода и 0,15 % раствор надуксусной кислоты) распыляли через изготовленный зонд в течение 97 минут (5 циклов).

Взвеси суточных культур S. marcescens 9 с концентрацией $1 \cdot 10^9$ м.к./мл и $1 \cdot 10^6$ м.к./мл в количестве 0,1 мл наносили на чашки Петри с агаром Хоттингера, pH (7,2±0,1) (посевная доза 1 108 м.к. и 1·10⁵ м.к. соответственно). Чашки Петри размещали на трех уровнях в стеллаже внутри клеток для содержания инфицированных животных (удалив из них решетчатые крышки и фильтры пластиковых крышек) ИВС Віо А.Ѕ. Чашки с нанесенными на агар взвесями выдерживали от 2 до 24 ч внутри клеток, затем извлекали и оставляли при комнатной температуре на свету, через 48 ч учитывали результаты.

Отмечалось полное ингибирование роста тесткультуры S. marcescens 9 в посевной дозе 1·10⁵ м.к. (частичное – в посевной дозе $1 \cdot 10^8$ м.к.) после дезинфекции с помощью генератора паров перекиси водорода Fhileas 75, системы воздуховодов и внутренних поверхностей стеллажа для размещения клеток ИВС Bio A.S. для содержания инфицированных животных 7 % раствором перекиси водорода с 0,15 % раствором надуксусной кислоты на всех исследованных уровнях размещения чашек Петри с экспозицией 24 часа.

Таким образом, полученные результаты показывают эффективность использования генератора паров перекиси водорода Fhileas 75 для обеззараживания системы воздуховодов и внутренних поверхностей стеллажа индивидуально вентилируемой системы Bio A.S. для содержания инфицированных животных на тестовой культуре S. marcescens 9 концентрацией 1.106 м.к./мл, при следующих рабочих параметрах ИВС: скорость воздухообмена - 60 обменов в час, объем потока воздуха – 28 м³/ч. Количество дезинфекционных циклов – 5, время распыления дезинфицирующего средства – 97 мин, последующая экспозиция – 24 часа.

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

Список литературы

1. Тюрин Е.А., Храмов М.В., Дятлов И.А. Анализ выполнения требований по обеспечению биологической безопасности на потенциально опасном объекте. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 2:95–100. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-95-100.

2. Ляпин М.Н. К технологиям оценки опасности при работе с патогенными биологическими агентами. Инфекция и имму-

нител. 2017; S:1059.

3. Малюкова Т.А., Бойко А.В., Панин Ю.А. Безсмертный В.Е., Кутырев В.В. Вероятность реализации биорисков при проведении работ с ПБА I–II группы. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016; 21(3):136–45. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-

4. Boles K.S., Kannan K., Gill J., Felderman M., Gouvis H., Hubby B., Kamrud K.I., Venter J.C., Gibson D.G. Digital-to-biological converter for on-demand production of biologics. *Nat. Biotechnol.* 2017; 35(7):672–5. DOI: 10.1038/nbt.3859.

5. Тращенко Д., Ковалева М. Индивидуально вентилируемые клетки – лишние финансовые вложения или оптимальная

мые клетки — лишние финансовые вложения или оптимальная защита персонала и лабораторных животных? Международный вестник ветеринарии. 2014; 1:100—3.

6. Германчук В.Г., Семакова А.П., Шавина Н.Ю. Этические принципы при обращении с лабораторными животными в эксперименте с патогенными биологическими агентами I—II групп. Проблемы особо опасных инфекций. 2018; 4:33—8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-33-38.

7. Буреев И.А., Кушнир А.Т., Сливко И.А., Коротков О.В. Современные аэрозольные технологии санации при производстве биопрепаратов. Ветеринария. 2015; 9:41—4.

8. Сисин Е.И. Аэрозольная дезинфекция. Санэпидем-

8. Сисин Е.И. Аэрозольная дезинфекция. Санэпидем-контроль. 2016; 2:84-7.

контроль. 2010, 2:84—7.

9. Крючков А.В., Смирнов М.Б., Бакулин В.М. Технические средства для проведения аэрозольной дезинфекции помещений. Дезинфекционное дело. 2019; 1:5—11.

10. Алимов А.В., Жуйков Н.Н., Вяткина Л.Г., Рупышева Т.А.

Практика применения аэрозольной дезинфекции систем вентиляции. Дезинфекционное дело. 2019; 4:37–42. DOI: 10.35411/2076-457X-2019-4-37-42.

References

References

1. Tyurin E.A., Khramov M.V., Dyatlov I.A. [Analysis of implementation of the requirements for provision of biological safety at a potentially hazardous facility]. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; (2):95–100. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-95-100.

2. Lyapin M.N. [Concerning hazard assessment technologies when working with pathogenic biological agents]. Infektsiya i Immunitet [Infection and Immunity]. 2017; (S):1059.

3. Malyukova T.A., Boiko A.V., Panin Yu.A., Bezsmertny V.E., Kutyrev V.V. [The likelihood of realization of biorisks when working with PBA of I-II groups]. Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]. 2016; 21(3):136–45. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-3-136-145.

4. Boles K.S., Kannan K., Gill J., Felderman M., Gouvis H., Hubby B., Kamrud K.I., Venter J.C., Gibson D.G. Digital-to-biological converter for on-demand production of biologics. Nat. Biotechnol. 2017; 35(7):672–5. DOI: 10.1038/nbt.3859.

5. Trashchenko D., Kovaleva M. [Individually ventilated cages – extra financial investment of optimal protection of person-

5. Trashchenko D., Kovaleva M. [Individually ventilated cages – extra financial investments or optimal protection of personnel and laboratory animals?] *Mezhdunarodny Vestnik Veterinarii* [International Veterinary Bulletin]. 2014; (1):100–3.

6. Germanchuk V.G., Semakova A.P., Shavina N.Yu. [Ethical principles for handling laboratory animals in an experiment with pathogenic biological agents of the I–II groups]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (4):33–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-33-38.

7. Bureev I.A., Kushnir A.T., Slivko I.A., Korotkov O.V. [The advanced aerosol techniques of sanitation during manufacture of biological preparations]. *Veterinariya [Veterinary Medicine]*. 2015; (9):41–4.

8. Sisin F.I. [Aerosol disinfection] *Sanguidameantral*.

(9):41–4.

8. Sisin E.I. [Aerosol disinfection]. Sanepidemcontrol' [Sanitary and Epidemiological Control]. 2016; (2):84–7.

9. Kryuchkov A.V., Smirnov M.B., Bakulin V.M. [Technical means for carrying out aerosol disinfection of premises]. Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]. 2019; (1):5–11.

10. Alimov A.V., Zhuikov N.N., Vyatkina L.G., Rupysheva T.A. [Experience in using aerosol disinfection of ventilation systems]. Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]. 2019; (4):37–42. DOI: 10.35411/2076-457X-2019-4-37-42.

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

Об авторах:

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-145-148

УДК 614.8:62-28

Е.А. Снатенков, Н.П. Агеева, К.А. Ротов, А.А. Коваленко

АНАЛИЗ АВАРИЙНЫХ СИТУАЦИЙ ПРИ РАБОТЕ С ПАТОГЕННЫМИ БИОЛОГИЧЕСКИМИ АГЕНТАМИ В РАМКАХ РИСК-ОРИЕНТИРОВАННОГО ПОДХОДА

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

Цель – на основе анализа аварий при работе с патогенными биологическими агентами (ПБА) I–II групп патогенности сделать выводы о причинах их возникновения и сформулировать рекомендации по совершенствованию мер биологической безопасности для снижения риска возникновения аварийных ситуаций. Материалы и метолы. Материалом для исследования послужила информация об авариях, допушенных при работе с ПБА, отраженная в документах комиссии по контролю соблюдения требований биологической безопасности Волгоградского научно-исследовательского противочумного института за период 1986-2020 гг. Оценивали вид аварии, количество, основные причины и предпосылки к их возникновению, профессиональную категорию работника, допустившего аварию. Результаты и обсуждение. В результате проведенного анализа установлено, что за указанный период зафиксированы три вида аварий: аварии с разбрызгиванием, аварии с нарушением целостности кожных покровов, аварии без разбрызгивания. Аварий с повреждением изолирующего костюма и пневмокостюма за весь период исследования не было. Из общего количества аварий 42,85 % случаев связаны с нарушением целостности кожных покровов при укусе экспериментального животного вследствие его неправильной фиксации при заражении, кормлении, уходе. Аварии с разбрызгиванием зафиксированы в 42,85 %, аварии без разбрызгивания составили 14,2 %. Определены категории сотрудников, допустивших наибольшее количество аварий: лаборанты – 39,2 % случаев, научные сотрудники – 14,2 %, дезинфекторы – 14,2 %. Выявлены причины возникновения аварий, предпосылки, способствующие их совершению. Определены основные направления и мероприятия по снижению рисков возникновения аварийных ситуаций для персонала при работе с возбудителями особо опасных инфекционных заболеваний.

Ключевые слова: аварии, биологическая безопасность, патогенные биологические агенты.

Корреспондирующий автор: Снатенков Евгений Александрович, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Для цитирования: Снатенков Е.А., Агеева Н.П., Ротов К.А., Коваленко А.А. Анализ аварийных ситуаций при работе с патогенными биологическими агентами в рамках риск-ориентированного подхода. Проблемы особо опасных инфекций. 2022; 2:145–148. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-145-148 Поступила 24.01.2022. Принята к публ. 18.03.2022.

E.A. Snatenkov, N.P. Ageeva, K.A. Rotov, A.A. Kovalenko

Analysis of Emergency Situations When Working with Pathogenic Biological Agents within the Framework of Risk-Oriented Approach

Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation

Abstract. The aim – based on the analysis of accidents when working with pathogenic biological agents (PBA) of pathogenicity groups I-II, draw conclusions about the causes of their occurrence and formulate recommendations for improving biological safety measures to reduce the risk of accidents. Materials and methods. The subject of the study was the data on accidents that happened during the work with PBA, stated in protocols of the commission for monitoring compliance with biological safety requirements of the Volgograd Research Anti-Plague Institute over the period of 1986–2020. Assessed were the type of emergency, their number, main causes and prerequisites for occurrence, professional category of a worker who participated in an accident. **Results and discussion.** During the specified period 3 types of accidents were recorded: accidents with spraying, accidents with skin lesion, accidents without spraying. There were no accidents with damage to the insulating suit and the pneumatic suit during the entire period under investigation. Of the total number of accidents, 42.85 % of cases were associated with skin lesion due to the bite of an experimental animal due to its incorrect fixation during infection, feeding, care, or due to autopsy of animals. Spillage accidents were recorded in 42.85 %; accidents without spraying amounted to 14.2 %. The categories of employees who made the greatest number of accidents have been identified: laboratory assistants – 39.2 % of cases, researcher officers – 14.2 %, disinfectors -14.2 %. The causes of accidents and the prerequisites contributing to their realization have been pinpointed. The main ways and measures to reduce the risks of emergency situations for personnel when working with pathogens of particularly dangerous infectious diseases are put forward.

Key words: accidents, biological safety, pathogenic biological agents.

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

Corresponding author: Evgeniy A. Snatenkov, e-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Citation: Snatenkov E.A., Ageeva N.P., Rotov K.A., Kovalenko A.A. Analysis of Emergency Situations When Working with Pathogenic Biological Agents within the Framework of Risk-Oriented Approach. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; 2:145–148. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-145-148

Received 24.01.2022. Accepted 18.03.2022.

Snatenkov E.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5692-1229 Ageeva N.P., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2734-9184 Rotov K.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3717-7710 Kovalenko A.A., ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1932-7014 Обязательным условием функционирования организаций, осуществляющих деятельность с использованием патогенных биологических агентов (ПБА), является гарантированная безопасность как для сотрудников, непосредственно работающих с ПБА, так и для окружающей среды. Обеспечение безопасности данного вида работ является приоритетным направлением национальной безопасности Российской Федерации и регламентировано федеральными законами и указами Президента РФ.

Основой Федерального закона от 30.12.2020 № 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации», Указа Президента РФ от 11.03.2019 № 97 «Об основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу» и нормативно-методической базы, регламентирующей безопасную работу с возбудителями особо опасных инфекционных заболеваний, является управление возможными биорисками.

Аварии при работе с возбудителями особо опасных инфекционных заболеваний — это нештатные ситуации, классифицирующиеся как авария с разбрызгиванием, авария без разбрызгивания, авария с нарушением целостности кожных покровов, с нарушением целостности средств индивидуальной защиты (СИЗ), изолирующего костюма. Тяжесть последствий в каждом конкретном случае определяется видом микроорганизма и степенью его контагиозности для человека, устойчивостью во внешней среде (СанПиН 3.3686-21 «Санитарноэпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»).

Главной задачей является максимальное снижение биологических рисков и, как следствие, возможности возникновения аварийных ситуаций [1–3]. Это достигается применением комплекса следующих мер биологической безопасности: выполнения требований законодательных и нормативных документов, регламентирующих работу с ПБА, контроля работы инженерно-технических систем в соответствии с требованиями нормативных документов, осуществления контроля знаний и практических навыков сотрудников лабораторий при работе с ПБА, проведения тренировочных теоретических и практических занятий по действиям при различных видах аварий и алгоритмам их ликвидации [4–6].

Цель работы — на основе анализа аварий при работе с ПБА I—II групп патогенности сделать выводы о причинах их возникновения и сформулировать рекомендации по совершенствованию мер биологической безопасности для снижения риска возникновения аварийных ситуаций.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужила информация об авариях, допущенных при работе с

ПБА, отраженная в документах комиссии по контролю соблюдения требований биологической безопасности (КББ) ФКУЗ «Волгоградский научноисследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (Волгоградский НИПЧИ) за период 1986—2020 гг. Оценивали вид аварии, количество, основные причины и предпосылки к их возникновению, профессиональную категорию работника, допустившего аварию.

Результаты и обсуждение

В результате работы по анализу информации о допущенных при работе с ПБА авариях, отраженной в документах КББ Волгоградского НИПЧИ за период 1986–2020 гг., установлено, что зафиксированы три вида аварий: аварии с разбрызгиванием, аварии с нарушением целостности кожных покровов, аварии без разбрызгивания. Аварий, связанных с нарушением работы оборудования или повреждением изолирующего костюма и пневмокостюма, за весь период исследования не было.

Из общего количества аварий 42,85 % случаев связаны с нарушением целостности кожных покровов при укусе экспериментального животного вследствие его неправильной фиксации при заражении, кормлении, уходе. Аварии с разбрызгиванием зафиксированы в 42,85 %: разбрызгивание из-под иглы шприца вследствие ее ненадежной фиксации – в 10,7 % случаев, бой пробирки с культурой ПБА и падение капли материала, содержащего ПБА, на СИЗ сотрудника – в 32,1 % случаев. Совершенные за исследуемый временной интервал аварии без разбрызгивания (14,2 %) связаны с нарушением целостности стеклянных емкостей с питательной средой и посевами ПБА вследствие недостаточной подготовки лабораторной посуды к работе.

Наибольшее количество аварий допущено лаборантами — 39,2 % случаев, научными сотрудниками при совместной работе с лаборантами — 32,1 %, научными сотрудниками — 14,2 %, дезинфекторами — 14,2 %. Материалы КББ свидетельствуют, что во всех случаях мероприятия по ликвидации аварий были проведены в полном объеме. В результате принятия своевременных мер в соответствии с требованиями нормативно-методических документов при всех видах аварий, допущенных сотрудниками, случаев их заражения не отмечено.

За период с 1986 по 1990 год произошло большинство аварий (75 %). В их структуре преобладали аварии с разбрызгиванием (35 %) и нарушением целостности кожных покровов (25 %), аварии без разбрызгивания составили всего 14,8 %. Преобладание аварий с разбрызгиванием и нарушением целостности кожных покровов обусловлено прежде всего особенностью проводимых в данный период работ с ПБА, связанных с выполнением научно-исследовательских тематик, направленных на изучение эффективности лечебного и профилактического

действия антибактериальных, иммуноглобулиновых и антигенных препаратов при особо опасных инфекциях с использованием экспериментальных биомоделей. Общее количество биомоделей для проведения одного цикла исследований составляло от 450 до 1200 единиц, а длительность исследования – от 30 до 60 суток. В соответствии с этим возрастала нагрузка на персонал при проведении манипуляций при культуральной работе с ПБА, моделировании инфекционного процесса, лечении экспериментальных животных и уходе за ними, что влекло за собой повышенную утомляемость, снижение внимания и, как следствие, факт совершения аварии.

В период с 1991 по 2006 год зафиксировано 25 % аварий, которые классифицировались как авария с нарушением целостности кожных покровов и авария с разбрызгиванием. К 2006 г. количество аварий снизилось в три раза, что объясняется, прежде всего, введением в 2003 г. санитарных правил СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)», ужесточающих требования биологической безопасности при проведении манипуляций с ПБА, предусматривающие наращивание автоматизации при их выполнении (использование автоматических дозаторов, станций для содержания и кормления животных), замену стеклянной посуды на одноразовую пластиковую (чашки Петри, пробирки, ампулы, шпатели), усиление контроля за профессиональной подготовкой и повышением квалификации персонала.

Несмотря на серьезную подготовку (курсы первичной специализации, курсы повышения квалификации, аттестацию на знание теоретических вопросов и наличие практических навыков работы, проведение инструктажа по биологической безопасности перед выполнением работ с ПБА, проведение тренировочных занятий по действиям при возникновении аварийных ситуаций), сотрудники допускали ошибки при работе с ПБА. Установлено, что причиной всех произошедших аварий были, прежде всего, невнимание и нарушение методик выполнения тех или иных манипуляций вследствие повышенной утомляемости из-за высокой нагрузки. Это свидетельствует о необходимости увеличения контроля работы персонала при выполнении им своих профессиональных обязанностей в соответствии с требованиями нормативно-методических документов.

Проведенные исследования по анализу аварий при работе с ПБА І-ІІ групп патогенности, отраженные в документах комиссии по контролю соблюдения требований биологической безопасности Волгоградского НИПЧИ за период 1986-2020 гг., согласуются с данными, полученными в результате анализа архивных материалов Противочумного центра Роспотребнадзора с 1992 по 2011 год, по частоте совершения аварий, их видам, а также причинам их совершения в организациях, имеющих лицензию на осуществление деятельности с ПБА І-ІІ групп патогенности [4, 7].

Таким образом, за период работы с 1986 по 2020 год в Волгоградском НИПЧИ зафиксирован ряд аварий при работе с ПБА I-II групп патогенности.

Прослеживается тенденция снижения числа аварий в 1990-е гг. и их отсутствие после 2006 г. до настоящего времени. В результате проведенного анализа установлено, что все случаи аварий были связаны с субъективным фактором. Анализ информации о допущенных при работе с ПБА авариях, отраженной в документах комиссии по контролю соблюдения требований биологической безопасности Волгоградского НИПЧИ за период 1986–2020 гг., свидетельствует, что в настоящее время приоритетным направлением для снижения аварийности при работе с ПБА I-II групп патогенности является не только выполнение требований нормативно-методических документов, регламентирующих безопасность работ, но и повышение уровня профессиональной подготовки персонала, увеличение количества теоретических и практических тренировочных занятий по формированию у персонала устойчивых навыков безопасной работы с ПБА, оснащение оборудованием, минимизирующим контакт сотрудников с ПБА при проведении манипуляций, усиление контроля за выполнением требований биобезопасности, а также разработка и введение в действие критериев, обеспечивающих оценку психофизиологических возможностей сотрудников для выполнения работ с ПБА.

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

Список литературы

1. Курылина А.Ф., Семакова А.П., Брандзишевский Ю.В. Основы безопасности работы с зараженными животными. Биозащита и биобезопасность. 2013; 5(3):23–5.

2. Малюкова Т.А., Бойко А.В., Панин Ю.А., Безсмертный В.Е., Кутырев В.В. Вероятность реализации биорисков при проведении работ с ПБА І–ІІ группы. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016; 21(3):136–45. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-3-136-145.

3. Тюрин Е.А., Чекан Л.В., Маринин Л.И., Дятлов И.А. Профессиональный риск сотрудников микробиологических лабораторий и меры по его снижению. *Анализ риска здоровью*.

2014; 3:44–50.
4. Меринова О.А., Топорков А.В., Меринова Л.К., Антонова Е.В., Викторов Д.В. Биологическая безопасность: анализ современного состояния системы подготовки специалистов в Российской Федерации. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2018; 3:87–96. DOI: 10.36233/0372-9311-

5. Онищенко Г.Г. Оценка и управление рисками для здоровья как эффективный инструмент решения задач обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения

Российской Федерации. Анализ риска здоровью. 2013; 1:4–14. 6. Тюрин Е.А. Факторы биологической безопасности. Биозащита и биобезопасность. 2010; 2(3):34–9. 7. Тюрин Е.А., Храмов М.В., Дятлов И.А. Анализ выполнения требований по обеспечению биологической безопасности на потенциально опасном объекте. *Проблемы особо опасных инфек-ций*. 2018; 2:95–100. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-95-100.

References

1. Kurylina A.F., Semakova A.P., Brandzishevsky Yu.V. [The foundations of safe work with infected animals]. *Biozashchita i Biobezopasnost' [Biosecurity and Biosafety*]. 2013; 5(3):23–5.

2. Malyukova T.A., Boyko A.V., Panin Yu.A., Bezsmertnyy V.E., Kutyrev V.V. [Probability of biorisk occurrence attached to the performance of work with pathogenic biological agents of the

I–II groups of hazard]. Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious diseases]. 2016; 21(3):136–45. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-3-136-145.

3. Tyurin E.A., Chekan L.V., Marinin L.I., Dyatlov I.A. [Occupational risk of employees of microbiological laboratories and measures to reduce it]. Analiz Riska Zdorov'yu [Health Risk Analysis]. 2014; (3):44–50.

4. Merinova O.A., Toporkov A.V., Merinova L.K., Antonova E.V., Viktorov D.V. [Biological safety: analysis of the current state of the system of training specialists in the Russian Federation]. Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2018; (3):87–96.

DOI: 10.36233/0372-9311-2018-3-87-96.

5. Onishchenko G.G. Health risk assessment and management as an effective tool to solve issues to ensure the health and epidemiological well-being of the Russian Federation population. Analiz Riska Zdorov'yu [Health Risk Analysis]. 2013; (1):4–14.

6. Tyurin E.A. Biosafety factors. Biozashchita i Biobezopasnost' [Biosecurity and Biosafety]. 2010; 2(3):34–9.

7. Tyurin E.A., Khramov M.V., Dyatlov I.A. Analysis of implementation of the requirements for provision of biological safety at a potentially hazardous facility. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (2):95–100. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-2-95-100.

Authors:

Snatenkov E.A., Ageeva N.P., Rotov K.A., Kovalenko A.A. Volgograd Research Anti-Plague Institute. 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Об авторах: Снатенков E.A., Агеева $H.\Pi.$, Ротов K.A., Коваленко A.A.Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. Е-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

ЮБИЛЕИ Anniversaries

К ЮБИЛЕЮ АНАТОЛИЯ НИКОЛАЕВИЧА МИКЕРОВА

29 июня 2022 г. исполнилось 50 лет доктору биологических наук, директору Саратовского медицинского научного центра гигиены ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» Роспотребнадзора, члену редакционной коллегии журнала «Проблемы особо опасных инфекций» Анатолию Николаевичу Микерову.

Профессиональные компетенции и научные интересы А.Н. Микерова разнообразны. Он занимается преподавательской деятельностью на двух

кафедрах СГМУ имени В.И. Разумовского, является главным внештатным специалистом по клинической



микробиологии и антимикробной резистентности министерства здравоохранения Саратовской области. Он — соавтор учебного пособия по санитарной микробиологии, руководства по клинической микробиологии, монографии по иммунной защите легких, целого ряда публикаций по гигиене труда, экологии и профпатологии.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Анатолия Николаевича Микерова с юбилеем и желают ему здоровья,

благополучия, талантливых учеников и дальнейших успехов в работе!

ПАМЯТИ КОЛЛЕГ Revering the Memory of the Colleagues

ПАМЯТИ ТАМАРЫ ИВАНОВНЫ АНИСИМОВОЙ

8 июня 2022 г. на 94-м году жизни скончалась Тамара Ивановна Анисимова, доктор медицинских наук, профессор, бывшая заведующая ГИСК им. Л.А. Тарасевича.

Весь славный трудовой путь Тамары Ивановны, связанный с системой противочумных учреждений, начался в 1953 г. в Кызыл-Арватском и Красноводском противочумных отделениях Туркменской ПЧС. После защиты диссертации в 1963 г. Т.И. Анисимова избрана на должность

заведующей лабораторией последующего контроля института «Микроб», выполняющей функции ГИСК им. Л.А. Тарасевича, в 1972 г. лаборатория переведена в штат ГИСК и получила название «лаборатория препаратов против чумы и других особо опасных инфекций». В 1986 г. Т.И. Анисимова защитила докторскую диссертацию, в 1987 г. ей присвоено ученое звание профессора. С 2001 по 2004 год Тамара Ивановна работала консультантом при этой лаборатории.

Т.И. Анисимова – основатель научной школы, объединяющей исследователей теоретических и прикладных аспектов иммунологии особо опасных



инфекций, вопросов стандартизации и повышения качества медицинских биологических препаратов. Под руководством Тамары Ивановны разработана система методов контроля активности и безвредности новых вакцинных штаммов чумного, сибиреязвенного микробов и холерного вибриона, разработано и внедрено около 30 отраслевых стандартных образцов для диагностических, профилактических и лечебных препаратов против чумы, холеры, сибирской язвы, бруцеллеза

и туляремии. За свои трудовые и научные достижения Тамара Ивановна награждена двумя орденами «Знак Почета», медалью «За доблестный труд», бронзовой медалью ВДНХ, значком «Отличник здравоохранения». В 1999 г. ей присуждена премия Правительства Российской Федерации за работу «Высокоэффективная, ресурсосберегающая и экологически чистая технология производства живой сухой сибиреязвенной вакцины».

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций» выражают глубокие соболезнования родным и близким Тамары Ивановны Анисимовой.

ПАМЯТИ ВАЛЕРИЯ ВАСИЛЬЕВИЧА КАБИНА

4 апреля 2022 г. на 76-м году ушел из жизни сотрудник Астраханской противочумной станции Валерий Васильевич Кабин, высококлассный специалист-эпидемиолог, принципиальный, скромный и обаятельный человек.

Вся профессиональная деятельность В.В. Кабина (с 1975 по 2022 год) была связана с Астраханской ПЧС. Он работал врачом в Досангском противочумном отделении Астраханской ПЧС Министерства здравоохранения,

был начальником Яндыковского противочумного отделения, врачом, а затем заместителем начальника (директора) станции по эпидемиологической работе, в период с 2002 по 2016 год занимал пост руководителя ФКУЗ «Астраханская ПЧС». В последние годы Валерий Васильевич работал врачом-эпидемиологом Астраханской ПЧС.



За многолетний самоотверженный труд и общественную деятельность В.В. Кабин удостоен ряда государственных и ведомственных наград: ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени, нагрудного знака «Отличник здравоохранения», почетной грамоты Госсанэпиднадзора РФ, нагрудного знака «Почетный работник Госсанэпидслужбы России», почетного звания «Заслуженный врач Республики Калмыкия», памятной медали «90 лет

Госсанэпидслужбы России», медалей, почетных грамот и благодарностей администрации.

Коллектив Астраханской противочумной станции скорбит и выражает глубокие соболезнования родным и близким Валерия Васильевича Кабина. Светлая и благодарная память о нем будет всегда жить в сердиах коллег и друзей.