

ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Научно-практический журнал

Выходит четыре раза в год

Основан в 1968 году

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

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

Выпуск 2

2014

САРАТОВ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

С.А.Бугоркова, докт. мед. наук
З.Л.Девдариани, докт. мед. наук, профессор
Г.А.Ерошенко, докт. биол. наук
Т.Б.Караваяева (отв. секретарь), канд. мед. наук
Е.В.Куклев, докт. мед. наук, профессор
Н.И.Микшис, докт. мед. наук
М.Н.Ляпин, канд. мед. наук
А.В.Осин, канд. биол. наук
Н.В.Попов, докт. биол. наук, профессор
Ю.А.Попов, докт. биол. наук, профессор
Л.В.Саяпина, докт. мед. наук
Н.И.Смирнова, докт. биол. наук, профессор
А.В.Топорков, докт. мед. наук
В.П.Топорков, докт. мед. наук, профессор
С.А.Щербаклова, докт. биол. наук
Т.Н.Щуковская, докт. мед. наук, профессор

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

В.А.Антонов, докт. мед. наук, профессор (Волгоград)
В.Е.Безсмертный, канд. мед. наук (Москва)
С.В.Балахонов, докт. мед. наук, профессор (Иркутск)
В.П.Бондарев, докт. мед. наук, профессор (Москва)
С.В.Борисевич, докт. биол. наук, профессор (Сергиев Посад)
А.Л.Гинцбург, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)
И.А.Дятлов, докт. мед. наук, член-корр. РАМН (Оболensk)
А.Н.Куличенко, докт. мед. наук, профессор (Ставрополь)
В.В.Кутырев, докт. мед. наук, академик РАН (Саратов)
Д.К.Львов, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)
В.В.Малеев, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)
В.Л.Мотин, профессор (Галвестон, США)
Г.Г.Онищенко, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)
А.В.Ракин, канд. биол. наук (Мюнхен, Германия)
В.П.Сергиев, докт. мед. наук, академик РАН (Москва)
М.Скурник, профессор (Хельсинки, Финляндия)

Журнал включен в Реферативный журнал и Базы данных ВИНТИ, индексируется в Российском Индексе Научного Цитирования (РИНЦ) и размещен в Электронной научной библиотеке. Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory».

© Федеральное казенное учреждение здравоохранения
Российский научно-исследовательский противочумный
институт «Микроб», 2014

ISSN 0370-1069



9 770370 106008 >

2014, Issue 2

Problems of Particularly Dangerous Infections

Scientific and Practical 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., Member of the RAS,
Doctor of Medical Science, Professor

Editorial Board

Bugorkova S.A., Doctor of Medical Science
Devdariani Z.L., Doctor of Medical Science, Professor
Eroshenko G.A., Doctor of Biological Science
Karavaeva T.B. (executive secretary), Candidate of Medical Science
Kouklev E.V., Doctor of Medical Science, Professor
Mikshis N.I., Doctor of Medical Science
Lyapin M.N., Candidate of Medical Science
Osin A.V., Candidate of Biological Science
Popov N.V., Doctor of Biological Science, Professor
Popov Yu. A., Doctor of Biological Science, Professor
Sayapina L.V., Doctor of Medical Science
Smirnova N.I., Doctor of Biological Science, Professor
Toporkov A.V., Doctor of Medical Science
Toporkov V.P., Doctor of Medical Science, Professor
Shcherbakova S.A., Doctor of Biological Science
Shchukovskaya T.N., Doctor of Medical Science, Professor

Editorial Council

Antonov V.A., Doctor of Medical Science, Professor (Volgograd)
Bezsmertny V.E., Candidate of Medical Science (Moscow)
Balakhonov S.V., Doctor of Medical Science, Professor (Irkutsk)
Bondarev V.P., Doctor of Medical Science, Professor (Moscow)
Borisevich S.V., Doctor of Biological Science, Professor (Sergiev Possad)
Gintsburg A.L., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)
Dyatlov I.A., Doctor of Medical Science, Corresponding Member
of the RAMS (Obolensk)
Kulichenko A.N., Doctor of Medical Science, Professor (Stavropol)
Kutyrev V.V., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Saratov)
Lvov D.K., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)
Maleev V.V., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)
Motin V.L., Ph. D., Professor (Galveston, USA)
Onishchenko G.G., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)
Rakin A.V., Ph. D. (Munich, Germany)
Sergiev V.P., Doctor of Medical Science, Member of the RAS (Moscow)
Skurnik M., Professor (Helsinki, Finland)

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

Подписной индекс в каталогах «Почта России» – 24687, «Пресса России» – 29448

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи и массовых коммуникаций. Свидетельство ПИ № ФС77-35894

Адрес редакции: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: jour@microbe.ru. Сайт: http://journal.microbe.ru

Зав. редакцией Л.С.Пронина. Тел. (845-2) 51-82-22. Факс (845-2) 51-52-12

Пробл. особо опасных инф. 2014. Вып. 2. 1–116

Редакторы Е.С.Герасимова, Т.А.Поришкова. Технический редактор Т.К.Меркулова. Перевод на английский Т.Б.Караваяевой, А.П.Рыжовой

Подписано в печать 20.05.14. Формат 60×88 1/8. Бумага мелованная. Печать офсетная. Усл. печ. л. 14,2. Гарнитура Таймс. Заказ 642
Журнал отпечатан в типографии ООО «ИППОЛит-XXI век». 410012, Саратов, Б. Казачья, 79/85

Онищенко Г.Г., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Пакскина Н.Д., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухова И.Г., Топорков В.П., Казакова Е.С., Щербак С.А. Специализированные противоэпидемические бригады Роспотребнадзора: прошлое, настоящее и будущее 5

Обзоры и прогнозы

Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Топорков В.П., Матросов А.Н., Князева Т.В., Кузнецов А.А., Попов В.П., Вержуцкий Д.Б., Корзун В.М., Чипанин Е.В., Дубянский В.М., Малецкая О.В., Григорьев М.П., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2013 г. и прогноз на 2014 г. 13

Москвитина Э.А., Адаменко О.Л., Дворцова И.В., Кругликов В.Д., Иванова С.М., Козина Д.А. Эпидемиологическая обстановка по холере в мире в 2013 г., прогноз на 2014 г. 19

Рязанова А.Г., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Аксенова Л.Ю., Цыганкова О.И., Котенева Е.А., Головинская Т.М., Воропаев В.В., Плужникова О.В., Куличенко А.Н. Обзор ситуации по сибирской язве в 2013 г., прогноз на 2014 г. 27

Лямкин Г.И., Головнева С.И., Худолеев А.А., Чеботарева Е.Н., Шакирова Л.И., Куличенко А.Н. Обзор эпизоотической и эпидемической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации в 2013 г. и прогноз на 2014 г. 29

Путинцева Е.В., Антонов В.А., Смелянский В.П., Пакскина Н.Д., Скударева О.Н., Виктор Д.В., Ткаченко Г.А., Пак В.А., Жуков К.В., Монастырский М.В., Бородай Н.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Шпак И.М., Савченко С.С., Лемасова Л.В., Бондарева О.С., Замарина Т.В., Баркова И.А. Особенности эпидемической ситуации по лихорадке Западного Нила в 2013 г. в мире и на территории Российской Федерации и прогноз ее развития в 2014 г. 33

Волынкина А.С., Пакскина Н.Д., Яценко Е.В., Котенев Е.С., Леванцова Я.В., Малецкая О.В., Шапошникова Л.И., Тохов Ю.М., Куличенко А.Н. Анализ эпидемиологической ситуации по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2013 г. и прогноз на 2014 г. 40

Эпидемиология

Бачинский А.Г., Низоленто Л.Ф. Универсальная модель локальных эпидемий, вызываемых возбудителями особо опасных инфекций 44

Ильин В.П., Андаев Е.И., Балахонов С.В., Пакскина Н.Д. Прогнозирование заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в Российской Федерации в 2014 г., основанное на многофакторных регрессионных моделях 48

Косилко С.А., Балахонов С.В., Бренёва Н.В., Чеснокова М.В., Андаев Е.И., Носков А.К., Мазепа А.В., Дугаржапова З.Ф., Михайлов Л.М., Шаракшанов М.Б. Эпидемиологическая ситуация по зоонозным, природно-очаговым инфекционным болезням в Сибири и на Дальнем Востоке в 2013 г. и прогноз на 2014 г. 53

Козлова Т.В., Дорофеев Э.М., Смольянинова О.Л., Попов В.П. Распространение, численность и эпидемиологическое значение клеща *Ixodes ricinus* на территории Тульской области 58

Павленко А.Л., Коваленко И.С., Хайтович А.Б. Методологический подход использования ГИС-технологии в эпиднадзоре на примере лептоспироза 62

Onishchenko G.G., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Pakschina N.D., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Kazakova E.S., Shcherbakova S.A. Specialized Anti-Epidemic Teams: Past, Present, and Future

Reviews and Prognoses

Popov N.V., Bezsmertny V.E., Toporkov V.P., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Kuznetsov A.A., Popov V.P., Verzhutsky D.B., Korzun V.M., Chipanin E.V., Dubyansky V.M., Maletskaya O.V., Grigoryev M.P., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. Epizootic Activity of Natural Plague Foci in the Russian Federation in 2013 and Prognosis for the Year of 2014

Moskvitina E.A., Adamenko O.L., Dvortsova I.V., Kruglikov V.D., Ivanova S.M., Kozina D.A. Epidemiological Situation on Cholera throughout the World in 2013, Forecasting for 2014

Ryazanova A.G., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Aksenova L.U., Tsygankova O.I., Koteneva E.A., Golovinskaya T.M., Voropaev V.V., Pluzhnikova O.V., Kulichenko A.N. The Review of Anthrax Situation 2013, the Forecast for 2014

Lyamkin G.I., Golovneva S.I., Khudoleev A.A., Chebotareva E.N., Shakirova L.I., Kulichenko A.N. Survey of Epizootologic and Epidemiologic Situation on Brucellosis in the Russian Federation in 2013; Prognosis for 2014

Putintseva E.V., Antonov V.A., Smelyanskiy V.P., Pakschina N.D., Skudareva O.N., Viktorov D.V., Tkachenko G.A., Pak V.A., Zhukov K.V., Monastirskiy M.V., Boroday N.V., Manankov V.V., Pogasiy N.I., Shpak I.M., Savchenko S.S., Lemasova L.V., Bondareva O.S., Zamarina T.V., Barkova I.A. The Features of West Nile Fever Epidemiological Situation in the World and Russia in 2013 and Prognosis of Its Development in 2014

Volynkina A.S., Pakschina N.D., Yatsmenko E.V., Kotenev E.S., Levantsova Ya.V., Maletskaya O.V., Shaposhnikova L.I., Tokhov Yu.M., Kulichenko A.N. Analysis of Epidemiological Situation on Crimean Hemorrhagic Fever in the Russian Federation in 2013 and Prognosis for 2014

Epidemiology

Bachinsky A.G., Nizolento L.F. Universal Model of Local Epidemics Development, Caused by Particularly Dangerous Infection Agents

Il'in V.P., Andaev E.I., Balakhonov S.V., Pakschina N.D. Morbidity Rate Forecasting for 2014 as Regards Tick-Borne Viral Encephalitis in the Territory of the Russian Federation Based on Multi-Factor Regression Models

Kosilko S.A., Balakhonov S.V., Breneva N.V., Chesnokova M.V., Andaev E.I., Noskov A.K., Mazepa A.V., Dugarzhapova Z.F., Mikhailov L.M., Sharakshyanov M.B. Epidemiological Situation on Zoonotic and Natural-Focal Infectious Diseases in Siberia and Far East in 2013; Prognosis for 2014

Kozlova T.V., Dorofeev E.M., Smol'yaninova O.L., Popov V.P. Distribution, Abundance, and Epidemiological Significance of *Ixodes ricinus* Ticks in the Territory of the Tula Region

Pavlenko A.L., Kovalenko I.S., Khaitovich A.B. Methodological Approach to Application of GIS-Technologies for Epidemiological Surveillance by the Example of Leptospirosis

Поршаков А.М., Яковлев С.А., Захаров К.С., Матросов А.Н., Князева Т.В., Кузнецов А.А., Чекашов В.Н., Шилов М.М., Толоконникова С.И., Казорина Е.В., Красовская Т.Ю., Найденова Е.В., Шарова И.Н., Щербаклова С.А., Попов Н.В. Роль комаров комплекса *Culex pipiens* в сохранении вируса лихорадки Западного Нила в урбанизированных биоценозах Саратова.....

66

Микробиология

Заднова С.П., Крепостнова И.М., Лозовский Ю.В. Сравнительный анализ способности к ферментации углеводов у типичных штаммов и геновариантов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор

69

Краснов Я.М., Гусева Н.П., Шарапова Н.А., Черкасов А.В. Современные методы секвенирования ДНК (обзор)

73

Петров А.А., Лебедев В.Н., Ручко В.М., Карулина Н.В., Борисевич С.В. Особенности циркуляции вируса везикулярного энцефаломиелита лошадей (обзор)

80

Диагностика

Агафонов Д.А., Заднова С.П., Лозовский Ю.В., Смирнова Н.И. Конструирование ПЦР-тест-системы для дифференциации генетически измененных токсигенных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор с разным эпидемическим потенциалом

85

Казакова Е.С., Портенко С.А., Шарова И.Н., Карнаухов И.Г., Красовская Т.Ю., Куклев В.Е., Найденова Е.В., Билько Е.А., Касьян И.А., Щербаклова С.А., Топорков А.В. Организация диагностических исследований в мобильном комплексе специализированной противозидемической бригады в период проведения массовых мероприятий

89

Корсакова И.И., Храпова Н.П., Напалкова Г.М., Ломова Л.В., Булатова Т.В. Использование ускоренного линейного иммуноэлектрофореза для дифференцирования буркхольдерий

94

Шишкова Н.А., Мокриевич А.Н., Павлов В.М., Маринин Л.И., Вахрамеева Г.М., Кудрявцева Т.Ю., Дятлов И.А. Использование *chi*-последовательности для дифференциации штаммов возбудителя сибирской язвы от близкородственных бацилл

97

Биотехнология

Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М., Савицкая Л.В., Лобовикова О.А. Оптимизация условий масштабированного культивирования фиксированного вируса бешенства штамма «Москва 3253» в культуре клеток Vero

101

Головинская Т.М., Цыганкова О.И., Куличенко А.Н. Разработка биотехнологии репродукции сибиреязвенных бактериофагов и сравнительная оценка стабильности их свойств и диагностической ценности

104

Краткие сообщения

Водяницкая С.Ю., Прометной В.И., Телесманич Н.Р., Рыжков Ю.В., Лях О.В., Трут И.В., Иванова Н.Г., Кругликов В.Д., Чемисова О.С. Результаты трехлетнего мониторинга судовых балластных вод в портах Ростовской области

108

Казина И.С., Яшина Е.В., Богачева А.И. Заболеваемость геморрагической лихорадкой с почечным синдромом на территории Республики Мордовия за 2009–2012 гг.

111

Найденова Е.В., Портенко С.А., Казакова Е.С., Карнаухов И.Г., Черкасов А.В., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Опыт использования геномного анализа в условиях мобильного комплекса СПЭБ

113

Юбилей

115

Правила для авторов

116

Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Zakharov K.S., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Kuznetsov A.A., Chekashov V.N., Shilov M.M., Tolokonnikova S.I., Kazorina E.V., Krasovskaya T.Yu., Naidenova E.V., Sharova I.N., Shcherbakova S.A., Popov N.V. Role of Mosquitoes, *Culex pipiens* Complex, in West Nile Fever Virus Persistence in Urbanized Biocoenoses of Saratov

Microbiology

Zadnova S.P., Krepostnova I.M., Lozovsky Yu.V. Comparative Analysis of the Ability to Ferment Carbohydrates in Typical Strains and Genovariants of *Vibrio cholerae* Biovar El Tor

Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Sharapova N.A., Cherkasov A.V. Modern Methods of DNA Sequencing (Scientific Review)

Petrov A.A., Lebedev V.N., Ruchko V.M., Karulina N.V., Borisovich S.V. Peculiarities of Circulation of Venezuelan Equine Encephalomyelitis Virus (Scientific Review)

Diagnostics

Agafonov D.A., Zadnova S.P., Lozovsky Yu.V., Smirnova N.I. Construction of PCR Test-System for Differentiation between Genetically Altered Toxigenic *Vibrio cholerae* Strains, Biovar El Tor, with Varied Epidemic Potential

Kazakova E.S., Portenko S.A., Sharova I.N., Karnaukhov I.G., Krasovskaya T.Yu., Kuklev V.E., Naidenova E.V., Bil'ko E.A., Kas'yan I.A., Shcherbakova S.A., Toporkov A.V. Management of Diagnostic Investigations at the Premises of Specialized Anti-Epidemic Team Mobile Complex at the Time of Running Mass Events

Korsakova I.I., Khrapova N.P., Napalkova G.M., Lomova L.V., Bulatova T.V. Application of the Rapid Linear Immune-Electrophoresis for Differentiation between Burkholderia

Shishkova N.A., Mokrievich A.N., Pavlov V.M., Marinin L.I., Vakhrameeva G.M., Kudryavtseva T.Yu., Dyatlov I.A. Usage of *chi*-Sequence for Differentiation between the Strains of Anthrax Etiological Agent and Closely Related Bacilli

Biotechnology

Generalov S.V., Abramova E.G., Matveeva Zh.V., Zhulidov I.M., Savitskaya L.V., Lobovikova O.A. Optimization of Specifications for Scaled-Up Fixed Rabies Virus Cultivation ("Moscow 3253" Strain) in Vero Cell Culture

Golovinskaya T.M., Tsygankova O.I., Kulichenko A.N. Development of Biotechnology for Anthrax Bacteriophages Reproduction, and Comparative Analysis of Their Properties Stability and Diagnostic Value

Brief Communication

Vodyanitskaya S.Yu., Prometnoy V.I., Telesmanich N.R., Ryzhkov Yu.V., Lyakh O.V., Trut I.V., Ivanova N.G., Kruglikov V.D., Chemisova O.S. Results of the Triennial Monitoring over the Ship's Ballast Water at the Ports of the Rostov-Region

Kazina I.S., Yashina E.V., Bogacheva A.I. HFRS Morbidity Rates in the Territory of the Republic of Mordovia in 2009–2012

Naidenova E.V., Portenko S.A., Kazakova E.S., Karnaukhov I.G., Cherkasov A.V., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Experience in Genome Analysis Use in SAET Mobile Complex Facilities

Anniversaries

Instruction to Authors

Г.Г.Онищенко¹, В.Ю.Смоленский², Е.Б.Ежлова², Н.Д.Пакскина², В.В.Кутырев³, А.В.Топорков³,
И.Г.Карнаухов³, В.П.Топорков³, Е.С.Казакова³, С.А.Щербак³

СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЕ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЕ БРИГАДЫ РОСПОТРЕБНАДЗОРА: ПРОШЛОЕ, НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ

¹Российская академия наук, Москва, Российская Федерация; ²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

В статье рассматривается эволюция концепции СПЭБ с момента их создания в 1963 г. до наших дней. Показано, что образование СПЭБ как производных противочумных учреждений было закономерным шагом, основанным на российском и советском историческом опыте работы здравоохранения как в периоды прошедших войн, так и по ликвидации чрезвычайных ситуаций в мирное время. На ряде конкретных примеров участия этих формирований в ликвидации ЧС санитарно-эпидемиологического характера раскрыта эволюция концепции СПЭБ, основных принципов их функционирования. Показано, что движущей силой эволюции концепции СПЭБ, определявшей изменения в структурно-функциональной организации СПЭБ, их материально-техническом оснащении на всех этапах были вновь возникающие биологические угрозы. Эволюция концепции СПЭБ основывалась на научном анализе практического опыта их применения, а также на использовании достижений научно-технического прогресса на каждом временном этапе. Охарактеризована модернизация материально-технической и технологической базы СПЭБ в 2007–2010 гг. Раскрыты основные направления деятельности СПЭБ, их функции, тактика применения этих формирований на современном этапе. Показаны изменения в концепции СПЭБ, тактике их применения, обусловленные новым направлением в работе СПЭБ – обеспечением санитарно-эпидемиологического благополучия при проведении массовых мероприятий с международным участием.

Ключевые слова: СПЭБ, биологические угрозы, эволюция концепции СПЭБ, санитарно-эпидемиологическое благополучие, мобильные противоэпидемические формирования.

G.G.Onishchenko¹, V.Yu.Smolensky², E.B.Ezhlova², N.D.Pakskina², V.V.Kutyrev³, A.V.Toporkov³,
I.G.Karnaukhov³, V.P.Toporkov³, E.S.Kazakova³, S.A.Shcherbak³

Specialized Anti-Epidemic Teams: Past, Present, and Future

¹Russian Academy of Science, Moscow, Russian Federation; ²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ³Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Described is SAET concept development, beginning from the point of the establishment in 1963 till present moment. Outlined is the fact that SAETs formation, as derivatives of anti-plague institutions, naturally followed from the historical experience in the sphere of public health provision obtained both in the times of war conflicts and peace-time emergency situations (ES) relief. By the specific examples of SAETs participation in liquidation of ES of sanitary-epidemiological character explored is the process of SAET concept development, and governing principles of its functioning. It is demonstrated that the driving force of SAET framework evolution, providing for changes in functional-structural organization and technical facilities through all the stages in time, has been emerging biological threats. Therewith, SAET concept has been developed based on the analysis of the best practices of deployment and integration of advanced technologies and science achievements. An account has been given of modernization of SAET physical facilities and technological base during 2007–2010. Discussed are the SAETs main areas of activities, functions, and tactics of deployment in the modern period. Put forward are the recent changes in SAET concept evolution and tactics of deployment that are occasioned by the incurrence of new operation line – provision of sanitary-epidemiological welfare of the population at mass gatherings with international participation.

Key words: SAET concept development, SAET, biological threats, sanitary-epidemiological welfare, mobile anti-epidemic units.

30 сентября 2013 г. исполнилось 50 лет с момента создания специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) противочумных учреждений, которые были образованы в 1963 г. по приказу МЗ СССР от 30.09.1963 г. № 466. В этой связи научный интерес представляет рассмотрение вопроса о том, как возникли данные формирования, закономерно ли было их образование, каким образом происходила эволюция научной концепции функционирования СПЭБ и их практического применения. Необходимо отметить, что, хотя СПЭБ были созданы в 1963 г., идея создания мобильных противоэпидемических

формирований возникла гораздо раньше.

Исторически мобильные противоэпидемические формирования появились в войсках действующих армий [1]. Так, во время русско-турецких войн (1768–1774 и 1828–1829 гг.) существовали «подвижные карантинны» – особые команды для изоляции заразных больных. В период русско-турецкой войны (1877–1878 гг.) функционировали нештатные санитарно-гигиенические отряды на фронтах и нештатные врачебно-наблюдательные посты на железных дорогах. Во время русско-японской войны (1904–1905 гг.) были созданы дезинфекционные, санитарные отря-

ды на фронтах, санитарные наблюдательные посты и летучие отряды на железных дорогах. Аналогичные формирования известны в период первой мировой войны (1914–1918 гг.) и во время Гражданской войны (1918–1927 гг.). Наиболее широкий перечень мобильных противозидемических формирований известен в период Великой Отечественной войны (1941–1945 гг.). К ним относятся армейские мобильные противозидемические формирования: санитарно-эидемиологический отряд, обмывочно-дезинфекционная рота, санитарно-контрольный пункт, банно-прачечные отряды, полевые прачечные отряды. Из числа фронтовых учреждений к мобильным противозидемическим формированиям можно отнести санитарно-эидемиологическую лабораторию, военно-санитарный противозидемический отряд, дезинфекционно-инструкторский отряд, полевые механические прачечные, банно-дезинфекционные и банно-прачечные дезинфекционные поезда, санитарно-карантинные пункты на железных дорогах [1, 10].

Необходимость мобильности всех перечисленных выше противозидемических формирований определялась их главным предназначением – использованием в период военных действий. Количество и функциональное назначение формирований определялись общим уровнем развития науки, в частности эидемиологии, на каждом временном этапе.

Историческими предпосылками возникновения СПЭБ, не связанными с военными действиями, являются, в первую очередь, эидемии чумы и холеры. Именно в ходе борьбы российского государства с чумными эидемиями в конце 19 – начале 20-го века положено начало создания системы противочумных учреждений. СПЭБ же являются производными противочумных учреждений. В связи с этим СПЭБ – прямой, не имеющий аналога, продукт эволюции борьбы с инфекционными болезнями на государственном уровне, занимающий приоритетные позиции в сфере обеспечения санитарно-эидемиологического благополучия населения.

Рассмотрим, каким образом происходила эволюция концепции СПЭБ, основных принципов функционирования, тактики применения на ряде конкретных примеров участия этих формирований в ликвидации ЧС санитарно-эидемиологического характера.

Концепция СПЭБ при образовании в 1963 г. определялась угрозой применения вероятным противником биологического оружия и предусматривала использование данных формирований противочумных учреждений для специфической индикации бактериальных средств поражения и лабораторного контроля объектов окружающей среды на зараженность возбудителями особо опасных инфекционных болезней в рамках функционирования медицинской службы Гражданской обороны (приказ МЗ СССР от 30.09.1963 № 466). Штат бригады составлял всего восемь специалистов.

На этом этапе предусматривалась реализация

трех принципов функционирования СПЭБ – мобильность, биологическая безопасность, высокая технологичность. СПЭБ рассматривались как мобильные бригады, так как не имели территориальной привязки, являлись экстратерриториальными формированиями. В то же время у них отсутствовал собственный автотранспорт, что позволяет говорить о частичной реализации принципа мобильности. Принципы биологической безопасности и высокой технологичности всегда были на вооружении противочумных учреждений и, соответственно, СПЭБ как их производных. Однако форма их реализации на каждом временном этапе определялась уровнем развития науки и техники.

Вскоре после создания СПЭБ возникла новая серьезная биологическая угроза – распространение седьмой пандемии холеры на территории СССР [16]. Соответственно, потребовалось внесение корректив в концепцию СПЭБ. Одной из важнейших задач СПЭБ стало участие в локализации и ликвидации эидемических проявлений холеры, оказание помощи территориальным структурам здравоохранения, заключавшейся в проведении массовых бактериологических обследований населения, объектов окружающей среды, пищевых продуктов, смывов, участия в проведении эидемиологического расследования причин вспышек холеры и проведении противозидемических и профилактических мероприятий. Развертывание лабораторной базы СПЭБ осуществлялось на базе территориальной лабораторной инфраструктуры или в приспособленных помещениях, при наличии телефонной связи, электроэнергии, воды, вспомогательного персонала и организованного питания.

Для выполнения новой задачи потребовалось внесение изменений в штатно-организационную структуру СПЭБ, материально-техническое оснащение бригады. Штат бригады был увеличен с 8 до 25 чел., в ее составе выделены управление бригады, эидемиологическое и бактериологическое отделения. Был расширен табель оснащения СПЭБ, в который включены такие разделы, как оборудование, перевязочные материалы, лабораторные материалы и посуда, питательные среды, реактивы и краски, диагностические и профилактические препараты, лечебные средства, дезсредства и предметы для дезинфекции, дератизации, дезинсекции, спецодежда и СИЗ, хозяйственное имущество, канцелярские принадлежности, лабораторные животные.

Концепция СПЭБ на этом этапе по-прежнему предусматривала реализацию трех принципов функционирования СПЭБ – мобильность, биологическая безопасность, высокая технологичность. Указанные изменения в концепции СПЭБ были нормативно закреплены в приказе по МЗ СССР от 23.07.1968 г. № 562.

В период 1965–1989 гг. [3, 7, 12, 15] участие в ликвидации эидемических очагов холеры на территории СССР стало основным направлением исполь-

зования СПЭБ. За это время СПЭБ противочумных институтов привлекались как в полном составе, так и в виде групп специалистов к проведению противочумных мероприятий более 80 раз. Кроме этого, специалисты СПЭБ участвовали в ликвидации очагов других опасных инфекционных болезней, таких как чума, сибирская язва.

Новым вызовом в области санитарно-эпидемиологического благополучия, оказавшим серьезное влияние на эволюцию концепции СПЭБ, стало разрушительное землетрясение в Республике Армения в 1988 г. В противоэпидемическом обеспечении спасательно-восстановительных работ в зоне землетрясения приняли участие СПЭБ (в полном составе) четырех противочумных институтов (РосНИПЧИ «Микроб», Волгоградский, Ростовский-на-Дону и Ставропольский НИПЧИ). В зоне землетрясения погибло 25 тыс. чел., свыше 530 тыс. лишились жилья. Промышленные и жилые здания, коммуникации, водопровод и канализация в населенных пунктах были разрушены. Население, а также контингент спасателей и строителей испытывали трудности с обеспечением питьевой водой, пищей, топливом, жильем, размещаясь в условиях скученности в палатках или вагончиках, что повышало риск осложнения эпидемиологической обстановки возникновением инфекционных болезней с фекально-оральным и аэрогенным механизмом передачи возбудителя.

Перед СПЭБ впервые встала задача временно-го кадрового замещения и выполнения функций пострадавших при землетрясении Центров госсанэпиднадзора [6]. СПЭБ осуществляли проведение эпидемиологической разведки, эпидемиологического анализа, профилактических мероприятий в отношении ОКИ и ОРВИ; лабораторного контроля заболеваемости ОКИ, воды и пищевых продуктов, а также эпизоотологическое обследование территории природных очагов чумы и туляремии. Впервые перед СПЭБ была поставлена задача санитарно-микробиологического мониторинга объектов окружающей среды. Лабораторная инфраструктура СПЭБ, личный состав размещались в палатках и приспособленных помещениях. Палатками, источниками электроэнергии, автотранспортом СПЭБ была укомплектована за счет местных ресурсов и безвозмездной помощи от подразделений прикомандированных ведомств, что свидетельствовало о явно недостаточной оснащенности СПЭБ для работы в полностью автономном режиме.

Описанные события способствовали дальнейшему развитию концепции СПЭБ. Перед СПЭБ была поставлена новая задача: обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения в зоне стихийного бедствия в условиях высокого риска возникновения эпидемических осложнений по целому ряду инфекционных болезней и массовых неинфекционных заболеваний (отравлений) и временное кадровое замещение в условиях кризиса систем здравоохранения. Концепция СПЭБ в данной ситуации предусматривала реализацию принципа многопро-

фильности в работе бригады. СПЭБ рассматриваются уже не как формирования медицинской службы Гражданской обороны, а как подвижные формирования противочумных учреждений МЗ СССР.

Возникновение новой задачи обусловило необходимость анализа структурно-функциональных особенностей СПЭБ на данном этапе и внесения научно обоснованных изменений в штатную структуру и табель оснащения бригады. Увеличение числа направлений работы СПЭБ обусловило рост штатной численности бригады, которая составила 40 человек. В бактериологическом отделении была выделена вирусологическая группа, увеличено общее число врачей-бактериологов, что позволило сформировать функциональную группу, проводящую санитарно-микробиологические исследования. В целях развития принципа мобильности впервые в табель оснащения СПЭБ был включен автотранспорт – две автомашины УАЗ.

Продолжалась реализация принципа высокой технологичности. В таблице оснащения бригады впервые появились оборудование и тест-системы для проведения ИФА, аналитическая система для автоматизированной идентификации бактерий, персональный компьютер, автоматические дозаторы, одноразовые чашки Петри, что свидетельствовало о применении самых современных на тот период лабораторных технологий. Также впервые в табель оснащения введены специальные укладки для отбора проб (из внешней среды, от больных, зоолого-паразитологическая), что можно рассматривать как предтечу модульного принципа укомплектования СПЭБ.

Впервые концепцией СПЭБ предусматривалась реализация принципа автономности. Бригады были укомплектованы палатками (УСБ и УСТ), которые могли использоваться как для жилья сотрудников, так и для развертывания лабораторной базы СПЭБ. В табель оснащения были включены хозяйственные инструменты, хозяйственное имущество, оборудование для обеспечения хозяйственно-бытовой инфраструктуры бригады. Также впервые в СПЭБ появилось оборудование для автономного жизнеобеспечения: печи универсальные, радиаторы масляные электрические, электростанция дизельная войсковая на 50 КВт, коротковолновая радиостанция, емкость для запаса воды резиновая на 1000 л. В то же время отсутствовали лабораторная мебель (столы и стулья), хозяйственное имущество для организации спальных мест сотрудников.

Указанные изменения концепции СПЭБ были нормативно закреплены в приказе МЗ СССР от 31.01.1991 г. № 35 «О совершенствовании работы СПЭБ противочумных учреждений Минздрава СССР». Общее число бригад в СССР на тот период составляло 29.

Следующий этап в эволюции концепции СПЭБ был обусловлен появлением новой угрозы санитарно-эпидемиологическому благополучию в Чеченской Республике в результате длительного социального

конфликта с гуманитарными последствиями. СПЭБ Ставропольского и Ростовского-на-Дону НИПЧИ в полном составе приняли участие в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в Чеченской Республике в 1994–1995 гг. Ситуацию в Чеченской Республике, согласно опубликованным материалам, характеризовали следующие моменты:

- дезорганизация республиканской системы государственного санитарно-эпидемиологического надзора, разрушение санитарно-коммунальной инфраструктуры, эпидемическое неблагополучие по холере;

- прекращение эпидемиологического надзора в природных очагах чумы и туляремии на территории республики;

- прекращение функционирования системы плановой вакцинопрофилактики, эпидемическое неблагополучие по полиомиелиту;

- полная дезорганизация государственной ветеринарной службы при наличии в республике неблагополучных по сибирской язве пунктов и высокой пораженности скота бруцеллезом и туберкулезом.

В этой ситуации задачи СПЭБ были во многом аналогичны таковым при работе в зоне землетрясения в Армении и заключались во временном выполнении функций учреждений санитарно-эпидемиологического профиля. СПЭБ занимались проведением санитарно-микробиологических (питьевая вода, пищевые продукты и объекты внешней среды) исследований и эпизоотологическим обследованием природных очагов особо опасных инфекций (чума, туляремия), организацией и проведением профилактических (вакцинация, неспецифическая профилактика) и противоэпидемических мероприятий, санитарно-просветительной работой, что свидетельствует о реализации принципа многопрофильности в работе СПЭБ. В функции бригад также входило проведение эпидемиологической разведки в зоне обслуживания и определение санитарно-гигиенического состояния территории и объектов жизнеобеспечения (пищевые предприятия и объекты пищевой промышленности, системы водообеспечения и канализования). Совершенствовалась тактика применения СПЭБ. Дополнительно из специалистов СПЭБ были созданы эпидгруппы в составе, как минимум, одного эпидемиолога и одного бактериолога. Данные группы направлялись для усиления территориальных учреждений госсанэпиднадзора в районы, менее других пострадавшие в результате социального конфликта, в которых размещались беженцы.

Опыт работы СПЭБ в условиях гуманитарной катастрофы в Чеченской Республике показал необходимость и важность тесного межведомственного взаимодействия, прежде всего, со структурами МЧС, а также с другими заинтересованными ведомствами – МВД, ветеринарной службой. СПЭБ базировались на охраняемых территориях МЧС, получали помощь в обеспечении продуктами питания и горюче-смазочными материалами.

На данном этапе в ходе дальнейшего развития концепции СПЭБ были наиболее полно, по сравнению с предшествовавшим периодом, определены задачи СПЭБ, включающие:

- участие в организации и проведении комплекса экстренных противоэпидемических мероприятий по выявлению, локализации и ликвидации очагов карантинных и других инфекционных болезней, в том числе в случаях их завоза из-за рубежа;

- участие в организации и проведении комплекса профилактических и противоэпидемических мероприятий в зонах ЧС, обусловленных стихийными бедствиями, катастрофами и социальными потрясениями и направленных на предупреждение и снижение инфекционной заболеваемости населения, а также оценку и прогнозирование санитарно-эпидемической ситуации;

- участие в организации и проведении комплекса экстренных противоэпидемических мероприятий по локализации и ликвидации очагов, возникших вследствие активизации природных очагов инфекционных заболеваний;

- диагностика заболеваний неясной этиологии и индикация возбудителей инфекционных болезней бактериальной этиологии в объектах окружающей среды;

- оказание консультативно-методической и практической помощи учреждениям санитарно-эпидемиологической службы, ЛПУ.

Реализация принципа многопрофильности в работе СПЭБ, расширение спектра решаемых задач определило актуальность принципа универсальности подготовки специалистов СПЭБ. Получила дальнейшее развитие, с учетом расширения спектра задач, штатно-организационная структура и материально-техническое оснащение СПЭБ. Был увеличен штат СПЭБ до 44 человек, включая 4 водителя. Впервые в штатную структуру бригады был введен санитарный врач. Табель оснащения бригады был дополнен, однако принципиально он включал те же разделы, что и в 1991 г. Для мобильности автотранспортный парк СПЭБ был дополнен двумя автомашинами КАМАЗ, необходимыми для транспортировки имущества и оборудования СПЭБ, однако этого было недостаточно для передислокации бригады в полном составе.

На данном этапе СПЭБ рассматривались как подвижные автономные формирования противочумных учреждений Госсанэпидслужбы России. Общее число бригад в России составляло 15. Вышеуказанные изменения в концепции СПЭБ были нормативно закреплены приказом Госкомсанэпиднадзора России от 29.03.1996 г. № 44.

Полностью вписывается в охарактеризованную выше концепцию СПЭБ участие формирований Ставропольского НИПЧИ в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в период проведения антитеррористической операции в Чеченской Республике в 1999–2001 гг. Направления работы СПЭБ, задачи, которые она решала, были аналогичны

таковым при работе СПЭБ в Чеченской Республике в 1994–1995 гг. и, соответственно, можно говорить о многопрофильности в работе СПЭБ.

Необходимо отметить, что в ходе работы СПЭБ в Чеченской Республике в рамках реализации принципа автономности использовались лаборатории на базе автошасси: автолаборатория для бактериологической диагностики острых кишечных и капельных инфекций и крытый автомобиль ГАЗ-66 для приготовления питательных сред. При этом часть лабораторной базы размещалась вне автомобилей (термостаты, автоклавы, рабочие места для пересевов). Этот опыт использования лабораторий на базе автошасси был интегрирован в концепцию СПЭБ и нормативно закреплён приказом МЗ Российской Федерации от 12.08.2003 г. № 400 «О совершенствовании организации работы СПЭБ противочумных учреждений». Впервые в табель оснащения СПЭБ были введены автолаборатории типа АЛ-3 или АЛ-4. В рамках дальнейшего развития принципа автономности в структуре бригады впервые выделено хозяйственное отделение, отделение для специалистов СПЭБ, введены летний и зимний комплекты производственной одежды, увеличено табельное количество палаток, солярных печей и электрических масляных радиаторов. При этом штатная численность бригады, направления работы и задачи СПЭБ остались прежними.

В рамках реализации принципа высокой технологичности в табеле оснащения СПЭБ впервые появились автоматический микробиологический анализатор, оборудование и тест-системы для проведения ПЦР-анализа, соответственно, в штатной структуре бригады выделена группа для проведения ПЦР-анализа, предусмотрено укомплектование СПЭБ телефоном спутниковой связи.

Следующим важным событием на пути эволюции концепции СПЭБ стала объявленная Роспотребнадзором в январе 2005 г. готовность СПЭБ к выезду в Юго-Восточную Азию для противоэпидемического обеспечения населения в зоне медико-санитарных последствий землетрясения и цунами, возникших в конце 2004 г. Возник новый вариант применения СПЭБ за рубежом в условиях полной автономности, диктовавший более жесткие требования к профессиональным и личным качествам персонала, структурно-функциональным параметрам, материально-техническому оснащению, обеспечению биологической безопасности, методологическому арсеналу и технологическим возможностям СПЭБ. Именно это обстоятельство послужило побудительным мотивом для разработки концепции модернизации СПЭБ, которая получила отражение и дальнейшее развитие в решениях Санкт-Петербургского саммита стран «Группы восьми» (2006 г.) и в распоряжении Правительства Российской Федерации от 21.05.2007 г. № 642-р.

Принципы, положенные в основу модернизации, ее проведение освещены в целом ряде публикаций [2, 4, 8, 9, 14, 15, 17, 18].

В соответствии с современной концепцией модернизированные СПЭБ – это мобильные формирования экстренного реагирования, автономного функционирования, использующие передовые диагностические и информационные технологии, современное оборудование, укомплектованные по модульному принципу, имеющие высококвалифицированный кадровый состав, способные решать задачи по ликвидации и предупреждению чрезвычайных ситуаций в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Основные принципы функционирования СПЭБ на современном этапе – мобильность, автономность, многопрофильность, высокая технологичность, биологическая безопасность, модульный принцип укомплектования, универсальность подготовки специалистов. Основные направления деятельности СПЭБ на современном этапе: лабораторная диагностика инфекционных болезней и санитарно-микробиологический контроль окружающей среды; экстренные противоэпидемические мероприятия по локализации и ликвидации эпидемических очагов особо опасных инфекционных болезней; временное кадровое замещение в условиях кризиса структур здравоохранения.

Наиболее полно реализован принцип многопрофильности и регламентированы задачи СПЭБ, к которым добавлена оценка санитарно-гигиенической (токсикологической) обстановки и проведение в случае необходимости санитарно-микробиологических, токсикологических, радиологических исследований. Впервые СПЭБ укомплектована достаточным количеством пассажирского и грузового автотранспорта (всего 8 единиц), что дает возможность перемещения как своим ходом по автомагистралям, так и другими видами транспорта, включая авиацию, предусмотрена возможность работы СПЭБ в полностью автономных условиях, что обеспечивается наличием хозяйственно-бытовой структуры на базе пневмокаров; собственной лабораторной базы, укомплектованной специализированными модулями как на базе пневмокаров (5 шт.), так и на базе автошасси (5 шт.); автономных систем жизнеобеспечения (энергоснабжения, водоснабжения, отопления, кондиционирования); штабного модуля и самых современных средств связи (сотовая, перевозимая абонентская станция спутниковой связи, спутниковая телефонная связь, радиосвязь).

Высокая технологичность обеспечена использованием самых передовых технологий в эпидемиологическом анализе (ГИС-технологии) и лабораторной диагностике. Кроме того, сами мобильные лаборатории СПЭБ на базе автошасси являются высокотехнологичными инженерно-техническими сооружениями.

Биологическая безопасность при работе СПЭБ обеспечивается как за счет использования самых современных средств индивидуальной защиты (включая изолирующие костюмы с автономным воздухоо-

беспечением), так и за счет инженерно-технических средств в автолабораториях (боксы III класса защиты, санпропускники с душем и взаимоблокировкой дверей, пониженное давление в рабочих помещениях, фильтро-вентиляционные системы с НЕРА-фильтрами и др.), позволяющих обеспечить уровень биологической безопасности BSL-2-3. Впервые регламентированы изолятор на базе ПКС и индивидуальный мобильный изолятор для транспортировки инфекционного больного. Модульный принцип укомплектования позволяет использовать СПЭБ в полном составе или в виде отдельных модулей и их комбинаций.

Реализация принципа универсальности подготовки специалистов позволила при расширении спектра задач, стоящих перед СПЭБ, несколько снизить численность бригады – с 44 до 38 человек, без ущерба качеству работы. Разработана «Программа подготовки личного состава СПЭБ для работы в чрезвычайных ситуациях» (утверждена Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 25.06.2007 г.).

На основе анализа богатого практического опыта использования СПЭБ разработана тактика их применения в современных условиях, предусматривающая варьирование кадровым и материально-техническим ресурсом в зависимости от характера, масштаба ЧС и условий их возникновения. СПЭБ в полном составе задействуется в следующих ситуациях:

- эпидемии и масштабные вспышки инфекционных болезней, требующие проведения мероприятий по санитарной охране территории, включая вновь возникающие инфекционные болезни, в случае недостаточных материально-технических и кадровых возможностей территориальных структур здравоохранения в зоне ЧС;

- масштабные стихийные бедствия (землетрясения, наводнения), сопряженные с повреждением санитарно-коммунальных систем, инфраструктур здравоохранения и угрозой санитарно-эпидемиологическому благополучию населения;

- гуманитарные катастрофы, связанные с перемещениями и концентрациями людских контингентов на ограниченных территориях в лагерях беженцев.

СПЭБ в виде отдельных модулей и групп специалистов-экспертов может привлекаться в случаях вспышки инфекционных болезней, неподдающихся верификации на уровне местного здравоохранения, с тяжелым клиническим течением, высокой летальностью, тенденцией распространения; локальных вспышек особо опасных инфекционных болезней с широкой контаминацией окружающей среды и недостаточными возможностями местного здравоохранения по их верификации и ликвидации; актов преднамеренного применения патогенных биологических агентов.

Современная концепция СПЭБ была нормативно закреплена приказами Роспотребнадзора от

20.07.2007 г. № 225 «О совершенствовании организации работы специализированных противозидемических бригад, сформированных на базе ФГУЗ «Научно-исследовательский противочумный институт» и от 03.12.2007 г. № 330 «Регламент (стандарт) функционирования специализированных противозидемических бригад (СПЭБ) при ликвидации медико-санитарных последствий чрезвычайных ситуаций природного и техногенного характера».

В 2007–2010 гг. во исполнение распоряжения Правительства Российской Федерации от 21.05.2007 г. № 642-р, в рамках выполнения решений Санкт-Петербургского саммита стран «Группы восьми» (2006 г.) осуществлена модернизация методологического, технологического, материально-технического и кадрового ресурсов СПЭБ Роспотребнадзора.

В результате в настоящее время на базе пяти научно-исследовательских противочумных институтов Роспотребнадзора функционируют по две СПЭБ. Одна укомплектована на базе пневмокаркасных систем, другая оснащена комплексом мобильных лабораторий различного профиля на базе автошасси. Разработаны стандартные операционные процедуры, регламентирующие и стандартизирующие выполнение всех этапов диагностических исследований в лабораторных модулях СПЭБ. Лабораторные базы СПЭБ прошли аккредитацию в составе ИЛЦ противочумных институтов в системе Росаккредитации.

Концепцией СПЭБ предусмотрено тесное взаимодействие со всеми заинтересованными ведомствами в зоне ЧС (МЧС, МВД, ФСБ, МО). Взаимодействие с МЧС осуществляется и в режиме повседневной деятельности, так как СПЭБ относятся к функциональной подсистеме надзора за санитарно-эпидемиологической обстановкой единой государственной системы предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций. Специалисты СПЭБ проходят аттестацию на звание «спасатель», а сами бригады – как аварийно-спасательные формирования.

Современная концепция СПЭБ была успешно реализована на практике в течение нескольких лет, прошедших после начала модернизации в 2007 г. За этот период СПЭБ Роспотребнадзора принимали участие в различных мероприятиях:

- в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в период гуманитарного кризиса в Южной Осетии (2008 г.) – СПЭБ Ставропольского НИПЧИ;

- в расследовании осложнения эпидемиологической обстановки в Таджикистане (2008 г.) – группа специалистов СПЭБ Ставропольского НИПЧИ в составе миссии ЕвроВОЗ;

- в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия при проведении саммита АТЭС на о. Русский (2012 г.) – группа специалистов СПЭБ Иркутского НИПЧИ;

- в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия при проведении Универсиады 2013 года в Казани – СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб»;

- в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия при проведении саммита «Группы двадцати» в Санкт-Петербурге (2013 г.) – группа специалистов СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб»;

- в ликвидации последствий наводнения в Дальневосточном федеральном округе (2013 г.) – СПЭБ Иркутского НИПЧИ;

- в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в ходе подготовки и проведения зимних Олимпийских и Паралимпийских Игр 2014 г. в Сочи – СПЭБ Ставропольского НИПЧИ и группа специалистов СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб».

При этом новым направлением в деятельности СПЭБ стало участие в обеспечении проведения массовых мероприятий (ММ), спортивных, общественно-политических с международным участием [13]. В рамках совершенствования концепции СПЭБ, основанием для их привлечения в ходе подготовки и проведения ММ стало возникновение (риск возникновения) ЧС санитарно-эпидемиологического характера, являющейся объектом деятельности СПЭБ. Была разработана тактика использования СПЭБ в ходе обеспечения проведения ММ. СПЭБ в полном (или усиленном) составе задействуется для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в ходе проведения ММ, когда необходимо решение нескольких задач:

- обеспечение готовности к проведению лабораторной диагностики, противоэпидемических (профилактических) мероприятий при выявлении больного (подозрительного) особо опасными инфекционными болезнями и при регистрации очагов инфекционных болезней с групповой заболеваемостью;

- оказание практической и методической помощи органам и организациям Роспотребнадзора, здравоохранения по вопросам готовности к работе в условиях ЧС санитарно-эпидемиологического характера;

- участие в мониторинге возбудителей инфекционных болезней в материале от людей и из объектов окружающей среды.

СПЭБ в полном (или усиленном) составе также может привлекаться в случае осложнения эпидемиологической обстановки в период подготовки или проведения ММ – возникновения ЧС санитарно-эпидемиологического характера (вспышки опасных инфекционных болезней, в том числе новых).

СПЭБ в виде отдельных лабораторных модулей или групп специалистов задействуется в следующих случаях: при необходимости выполнения большого объема исследований за короткий период, индикации возбудителей инфекционных болезней в клиническом материале и объектах окружающей среды в максимально короткие сроки проведения лабораторного скрининга объектов окружающей среды на наличие ПБА; при необходимости усиления местной противоэпидемической службы при осложнении эпидемиологической обстановки в период подготовки к ММ.

Таким образом, можно заключить, что СПЭБ образовались как производные противочумных учреждений в ходе борьбы с особо опасными инфекционными болезнями. Создание СПЭБ было закономерным шагом, основанным на российском и советском историческом опыте работы здравоохранения как в периоды прошедших войн, так и ликвидации чрезвычайных ситуаций в мирное время. За 50-летний период существования этих формирований постепенно эволюционировала концепция СПЭБ, основные принципы их функционирования. Движущей силой эволюции концепции СПЭБ на всех этапах были вновь возникающие биологические угрозы, вызовы в области санитарно-эпидемиологического благополучия. Именно необходимость адекватного реагирования на эти вызовы и угрозы определяла изменения в структурно-функциональной организации СПЭБ, их материально-техническом оснащении. Эволюция концепции СПЭБ основывалась на научном анализе практического опыта их применения, а также на использовании достижений научно-технического прогресса на каждом временном этапе. На сегодняшний день определен объект деятельности СПЭБ на национальном и международном уровне. В соответствии с критериями ММСП (2005 г.) – это «чрезвычайная ситуация (ЧС) в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения», или «ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера», возникающая как самостоятельно, так и в условиях стихийных бедствий и антропогенных катастроф – техногенных, социальных конфликтов с гуманитарными последствиями, террористических актов с применением патогенных биологических агентов.

Новейший опыт применения СПЭБ, полученный в 2008–2013 гг., также интегрированный в концепцию СПЭБ, послужил основой для дальнейшего совершенствования нормативно-методического обеспечения функционирования этих формирований. Несомненно, современная концепция СПЭБ, охарактеризованная выше, не является окончательной и неизменной. В нее и дальше будут вноситься коррективы, обусловленные вновь возникающими угрозами в сфере биологической безопасности и санитарно-эпидемиологического благополучия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляков В.Д. Военная эпидемиология. Учебник. Л.; 1976. 379 с.
2. Гордеева М.В., Ляпин М.Н., Карнаухов И.Г., Казакова Е.С., Шарова И.Н., Топорков А.В. Совершенствование нормативно-методического обеспечения системы противоэпидемических мероприятий при проведении работ с возбудителями инфекционных болезней в мобильных лабораториях СПЭБ. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 2:14–8.
3. Грижебовский Г.М., Велибеков А.С., Савельев В.Н. Некоторые особенности вспышки холеры в Азербайджанской ССР в 1985 г. В кн.: Материалы по эпидемиологии, диагностике и профилактике холеры. Бухара; 1987. С. 38–45.
4. Казакова Е.С., Карнаухов И.Г., Шарова И.Н., Касьян И.А., Осина Н.А., Портенко С.А., Ивашенцева Л.Н., Каплун Г.А., Куклев Е.В., Красовская Т.Ю., Щербакова С.А., Топорков А.В., Кутырев В.В. Организация лабораторной базы мобильного комплекса специализированной противоэпидемической бригады противочумного института. *Журн. микробиол., эпидемиол. и им-*

мунобиол. 2010; 2:24–8.

5. Карбышев Г.Л., Баташев В.В., Кругликов В.Д., Прометной В.И., Беспалов А.И. Опыт организации работы специализированных противоэпидемических бригад в условиях чрезвычайной ситуации на территории Чеченской Республики в 1995 году. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 1996; 3(приложение):31–5.

6. Кокушкин А.М., Кологоров А.И., Бережнов А.З., Касьян А.Ф., Топорков В.П., Донская Т.Н., Тарасов М.А., Хотько Н.И. Профилактика инфекционных заболеваний в зоне стихийного бедствия. В кн.: Природно-очаговые инфекции и их профилактики. Саратов: 1991. С. 148–55.

7. Кологоров А.И., Кедрова О.В., Пахомов Д.А., Пискунова Н.В., Ковтунов А.И., Васенин А.С., Кабин В.В., Илюхин А.А., Грачева И.В., Раздорский А.С., Сафронов В.А. Закономерности распространения холеры в бассейне Волги в 1970–1973 гг. *Пробл. особо опасных инф.* 2010; 2(104):22–8.

8. Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Топорков В.П. Некоторые аспекты совершенствования принципов организации и функционирования СПЭБ противочумных учреждений Роспотребнадзора. *Медицина катастроф.* 2006; 4(56):48–53.

9. Кутырев В.В., Федоров Ю.М., Топорков А.В., Топорков В.П., Карнаухов И.Г., Старшинов В.А. Укрепление глобальной сети по предупреждению и ликвидации последствий ЧС: модернизация СПЭБ противочумных учреждений. *Пробл. особо опасных инф.* 2006; 2(92):10–5.

10. Лотова Е.И., Идельчик Х.И. Борьба с инфекционными болезнями в СССР (1917–1967). М.: Медицина; 1967. 431 с.

11. Мезенцев В.М., Грижебовский Г.М., Шенетц К.В., Григорьев М.П., Малай В.И. Опыт работы специализированной противозидемической бригады. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2001; 6(приложение):112–4.

12. Налетова Л.Е., Авдиенко Б.В., Васюта Ю.С., Даниленко А.Ф., Колотухин Е.И., Костюков В.П., Краминский В.А., Марамович А.С., Ничога А.М., Феоктистов А.З. Вспышка холеры в Икрянинском районе Астраханской области в 1970 г. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 1975; 3:141–3.

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

14. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Щербаков Д.А., Казакова Е.С., Щербакова С.А. Обеспечение модернизации специализированных противозидемических бригад (СПЭБ) на современном этапе. *Пробл. особо опасных инф.* 2009; 3(101):10–8.

15. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Топорков А.В., Куличенко А.Н., Топорков В.П. Специализированные противозидемические бригады (СПЭБ): опыт работы и тактика применения в современных условиях. *Пробл. особо опасных инф.* 2008; 4(98):5–14.

16. Покровский В.И., редактор. Холера в СССР в период VII пандемии. М.: Медицина; 2000. 472 с.

17. Пухов Ю.М., Москвитина Э.А., Прометной В.И., Ломов Ю.М. Актуальные вопросы организации работы специализированных противозидемических бригад в различных режимах функционирования единой государственной системы предупреждения и ликвидации ЧС. Сообщение 1. *Здоровье населения и среда обитания.* 2007; 11(176):31–7.

18. Топорков А.В., Бойко А.В., Тихомирова Л.А., Малюкова Т.А., Топорков В.П., Карнаухов И.Г., Юсупова З.С., Лощманова Е.Ю., Куклев Е.В., Сафронов В.А. Особенности подготовки личного состава специализированных противозидемических бригад для работы в чрезвычайных ситуациях. *Дезинфекция. Антисептика.* 2011; 3(7):28–34.

References

1. Belyakov V.D. [Military Epidemiology. Text Book]. L.; 1976. 379 p.
2. Gordeeva M.V., Lyapin M.N., Karnaukhov I.G., Kazakova E.S., Sharova I.N., Toporkov A.V. [Improvement of the normative-regulatory framework concerning anti-epidemic procedures for works with infectious disease agents in mobile laboratories of specialized anti-epidemic teams (SAET)]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 2:14–8.
3. Grizhebovsky G.M., Velibekov A.S., Savel'ev V.N. [Certain peculiarities of cholera outbreak in the Azerbaijan Soviet Socialist Republic in 1985]. In: [Writings on Epidemiology, Diagnostics, and Prophylaxis of Cholera]. Bukhara; 1987. P. 38–45.
4. Kazakova E.S., Karnaukhov I.G., Sharova I.N., Kas'yan I.A., Osina N.A., Portenko S.A., Ivashentseva L.N., Kaplun G.A., Kuklev E.V.,

Krasovskaya T.Yu., Shcherbakova S.A., Toporkov A.V., Kutyrev V.V. [Construction of laboratory facilities in a mobile complex of the specialized anti-epidemic team affiliated to an anti-plague institute]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2010; 2:24–8.

5. Karbyshev G.L., Batashev V.V., Kругликов V.D., Prometnoy V.I., Bepalov A.I. [Experience in organization of work of the specialized anti-epidemic teams under conditions of emergency situation in the territory of Chechen Republic in 1995]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1996; 3(Apendix):31–5.

6. Kokushkin A.M., Kologorov A.I., Berezhnov A.Z., Kas'yan A.F., Toporkov V.P., Donskaya T.N., Tarasov M.A., Khot'ko N.I. [Prophylaxis of infectious diseases in a natural calamity zone]. In: [Natural-Focal Infections and Their Prevention]. Saratov; 1991. P. 148–55.

7. Kologorov A.I., Kedrova O.V., Pakhomov D.A., Piskunova N.V., Kovtunov A.I., Vasenin A.S., Kabin V.V., Ilyukhin A.A., Gracheva I.V., Razdorskiy A.S., Safronov V.A. [Regularities of cholera spread in the Volga basin in 1970–1973]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2010; 2(104):22–8.

8. Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P. [Certain aspects of enhancement of organizational principles and functionality of SAETs affiliated to plague-control institutions of the Rospotrebnadzor]. *Meditina Katastrof.* 2006; 4(56):48–53.

9. Kutyrev V.V., Feodorov Yu.M., Toporkov A.V., Toporkov V.P., Karnaukhov I.G., Starshinov V.A. [Fortifying the global network for the prevention and liquidation of emergency situations aftermaths: upgrading of the specialized anti-epidemic teams (SAET) attached to plague-control institutions]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2006; 2(92):10–5.

10. Lotova E.I., Idel'chik Kh. I. [Infectious Diseases Control under USSR (1917–1967)]. M.: Meditsina; 1967. 431 p.

11. Mezentsev V.M., Grizhebovsky G.M., Shenets K.V., Grigor'ev M.P., Malay V.I. [Experience of specialized anti-epidemic teams deployment]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2001; 6(Apendix):112–4.

12. Naletova L.E., Avdienko B.V., Vasyuta Yu.S., Danilenko A.F., Kolotukhin E.I., Kostyukov V.P., Kraminsky V.A., Maramovich A.S., Nichoga A.M., Feoktistov A.Z. [Cholera outbreak in the Ikryaninsky District of the Astrakhan Region in 1970]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1975; 3:141–3.

13. Onishchenko G.G., Kuz'kin B.P., Rakitin I.A., Bashketova N.S., Korzhaev Yu.N., Grechaninova T.A., Dyatlov I.A., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Kazakova E.S., Sharova I.N. [Sanitary-epidemiological welfare provision in the preparations to and management of the “G-20” Summit in Saint-Petersburg, 2013. Communication 2. Management and priority areas of anti-epidemic activities as regards “G-20” Summit campaign]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 4:11–5.

14. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Shcherbakov D.A., Kazakova E.S., Shcherbakova S.A. [Provision of specialized anti-epidemic teams (SAET) modernization at the present stage]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2009; 3(101):10–8.

15. Onishchenko G.G., Toporkov A.V., Toporkov V.P., Koulischenko A.N., Kutyrev V.V. [Specialized anti-epidemic teams (SAET): the experience of work and tactics of their employment in modern conditions]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2008; 4(98):5–14.

16. Pokrovsky V.I., editor [Cholera in USSR during the Period of the Seventh Pandemics]. M.: Meditsina; 2000. 472 p.

17. Pukhov Yu.M., Moskvitina E.A., Prometnoy V.I., Lomov Yu.M. [Topical issues of SAET deployment under various operational modes of the Unified State System for Prevention and Response to ES. Communication 1]. *Zdor. Nas. Sreda Obit.* 2007; 11(176):31–7.

18. Toporkov A.V., Boiko A.V., Tikhomirova L.A., Malyukova T.A., Toporkov V.P., Karnaukhov I.G., Yusupova Z.S., Lotsmanova E.Yu., Kuklev E.V., Safronov V.A. [Peculiarities of SAET personnel professional training for work under emergency situations]. *Dezinfektsiya. Antiseptika.* 2011; 3(7):28–34.

Authors:

Onishchenko G.G. Russian Academy of Science. Moscow, Russian Federation.

Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Pakskina N.D. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Kazakova E.S., Shcherbakova S.A. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Онищенко Г.Г. Российская академия наук. Москва, Российская Федерация

Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Пакскина Н.Д. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.

Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Казакова Е.С., Щербакова С.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 22.04.14.

УДК 616.981.452(471)

Н.В.Попов¹, В.Е.Безсмертный², В.П.Топорков¹, А.Н.Матросов¹, Т.В.Князева¹, А.А.Кузнецов¹,
В.П.Попов², Д.Б.Вержущий³, В.М.Корзун³, Е.В.Чипанин³, В.М.Дубянский⁴, О.В.Малецкая⁴,
М.П.Григорьев⁴, С.В.Балахонов³, А.Н.Куличенко⁴, В.В.Кутырев¹

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИРОДНЫХ ОЧАГОВ ЧУМЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2013 г. И ПРОГНОЗ НА 2014 г.

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

Проанализированы данные эпизоотологического обследования энзоотических по чуме территорий Российской Федерации за 2013 г. Дана оценка состояния численности основных носителей и переносчиков, а также эпизоотической активности природных очагов чумы различного типа. Выполнен анализ условий снижения эпизоотического потенциала горных и высокогорных природных очагов чумы Кавказа, Алтая и Тывы. Зарегистрированы единичные находки зараженных чумой блох на участках стойкого проявления чумы на территории Прикаспийской низменности. Представлен эпизоотологический прогноз на 2014 г. Отмечено повышение вероятности выхода из состояния межэпизоотического периода Волго-Уральского песчаного и Центрально-Кавказского высокогорного природных очагов чумы. Обоснованы возможность продолжения эпизоотий чумы и их интенсивность на территории Прикаспийского песчаного, Алтайского горного, Тувинского горного, Восточно-Кавказского высокогорного природных очагов чумы.

Ключевые слова: природные очаги чумы, эпизоотическая активность, численность носителей и переносчиков чумы, изменение климата, долгосрочный и краткосрочный эпизоотологические прогнозы.

N.V.Popov¹, V.E.Bezsmertny², V.P.Toporkov¹, A.N.Matrosov¹, T.V.Knyazeva¹, A.A.Kuznetsov¹, V.P.Popov²,
D.B.Verzhutsky³, V.M.Korzun³, E.V.Chipanin³, V.M.Dubyansky⁴, O.V.Maletskaia⁴, M.P.Grigoryev⁴,
S.V.Balakhonov³, A.N.Kulichenko⁴, V.V.Kutyrev¹

Epizootic Activity of Natural Plague Foci in the Russian Federation in 2013 and Prognosis for the Year of 2014

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

Analyzed are the data of the epizootologic survey of plague enzootic territories in Russia in 2013. Evaluated are the numbers of major carriers and vectors as well as the epizootic activity of natural foci of different types. Analysis of preconditions for decrease of epizootic potential of plague natural foci of Caucasus, Altai and Tyva is carried out. Single findings of infected fleas are registered at the sites of steady focality in the territory of Pre-Caspian lowland. Forecast of epizootic situation for 2014 is presented. Marked is raising probability that Volga-Ural sandy and Central Caucasian high-mountain plague foci would get out of the inter-epizootic period state. Substantiated are the possibility of plague epizootics continuation and their intensity in Pre-Caspian sandy, Altai and Tyva mountain, and Eastern-Caucasus high-mountain plague natural foci.

Key words: natural plague foci, epizootic activity, number of carriers and vectors of plague, climate change, short-term and long term epizootiological forecast.

В соответствии с долгосрочным прогнозом [3] в 2013 г. эпизоотологическая обстановка на энзоотической по чуме территории Российской Федерации определялась в целом сохранением межэпизоотических периодов в равнинных природных очагах чумы Северного и Северо-Западного Прикаспия, Предкавказья, Сибири. Имело место снижение эпизоотического потенциала горных и высокогорных природных очагов чумы Алтая, Тывы, Кавказа. На территории Прикаспийской низменности отмечена тенденция восстановления паразитарных систем природных очагов песчаночного типа.

Вследствие неблагоприятного влияния климатических факторов популяции видов мелких млекопитающих с моноэстральным типом размножения, в первую очередь малого и даурского сусликов, продолжают оставаться в состоянии глубокой депрессии. Полиэстральные виды, в том числе полуденная и гребенщикова песчанки, пищухи, мышевидные грызуны, используя даже кратковременные улучшения условий существования в летне-осенний период, успевают реализовать свой генеративный потенциал. Последнее определяет наличие подъемов численности зверьков в осенний период в природ-

ных очагах чумы песчаночьего, полевочьего и пищевочного типов, периодически обуславливает значительный рост их сезонной потенциальной эпидемической опасности [2].

Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2013 г. [1] полностью оправдался. В 2013 г. развитие эпизоотий зарегистрировано в горных системах Алтая, Тывы и Кавказа. Единичные находки зараженных чумой блох зарегистрированы на участках стойкого проявления чумы на территории Прикаспийской низменности. Культуры чумного микроба (52 штамма) выделены в Алтайском и Тувинском горных, Восточно-Кавказском высокогорном и Прикаспийском песчаном природных очагах. Иммунодиагностическими методами подтверждена циркуляция микроба чумы в Центрально-Кавказском высокогорном очаге. Общая площадь выявленных эпизоотических участков составила 1734,6 кв. км.

Прикаспийский песчаный очаг (43)*. В ноябре 2013 г. после двухгодичного перерыва на территории Лаганского и Черноземельского районов Республики Калмыкия были выявлены 3 штамма возбудителя чумы от блох *Nosopsyllus laeviceps*, счесанных с гребенщиковых и полуденных песчанок. Суммарная площадь 3 выявленных эпизоотических участков составляет 300 кв. км.

Обострение эпизоотической обстановки имело место на фоне значительного роста численности малых песчанок на большей части Волго-Кумского междуречья. Весной суммарная плотность полуденной и гребенщиковой песчанок составила 6,2, осенью – 10,0 особей на 1 га, что почти вдвое превысило многолетнюю норму (3,9 и 5,2 соответственно). В Терско-Кумском междуречье фоновая численность малых песчанок была низкой: 0,8 весной и 1,0 осенью, что вдвое ниже нормы (2,0 и 2,7). Лишь в островных массивах Иргаклинских, Бажиганских и Терских песков их плотность весной достигала 5,3, осенью – 11,4 особей на 1 га.

Численность второстепенных носителей чумы в целом также возросла. В Терско-Кумском междуречье показатели плотности малого суслика достигали 2,1 особи на 1 га. Южнее Кумы встречались лишь локальные поселения этого вида с плотностью от 0,1 до 2,8 особи на 1 га. Численность мышевидных грызунов в природных биотопах Волго-Кумского междуречья составляла весной 16,6, осенью – 17,7 % попадания в орудия лова; в Терско-Кумском междуречье – 6,3 и 6,1 соответственно. В населенных пунктах показатели численности домовых мышей составляли весной 5,6, осенью 8,0 %.

Запасы блох песчанок весной составляли на Черных землях – 80, в Ильменном районе – 34, в Приморском – 18 экз. на 1 га, что несколько меньше прошлогодних данных и в 4–7 раз ниже многолетней нормы. На песчанках преобладали блохи *Nosopsyllus*

laeviceps (85,0 %) и *Xenopsylla conformis* (12,0 %). Численность блох на второстепенных носителях была низкой: индекс обилия (ИО) блох на зверьках в среднем равнялся 0,6. При обследовании населенных пунктов на большей части территории очага блох не обнаруживали. В Кумо-Манычском междуречье при осмотре 327 жилых объектов площадью 6,6 тыс. кв. м было собрано 10 блох 3 родов: *Pulex*, *Ceratophyllus* и *Ctenocephalides*.

К весне 2014 г. вероятность сохранения среднего уровня численности грызунов в Волго-Кумском междуречье достаточно высока. Возможен также рост численности блох – паразитов малых песчанок и домовых мышей. Здесь сохраняется вероятность обнаружения единично зараженных животных на участках наиболее стойкого проявления чумы так же, как и их находки на смежных территориях.

Алтайский горный очаг (36). В 2013 г. на территории очага наблюдалась самая низкая за последние 10 лет эпизоотическая активность. Из 22 обследованных участков проявления чумы обнаружены на 6, общей площадью 220,7 кв. км. Локальные эпизоотии выявлены на Уландрыкском (3 штамма) и Тархатинском (6 штаммов) участках очаговости. Всего выделено 9 штаммов чумного микроба, в том числе от монгольской пищухи – 1, от блох, собранных с этих зверьков, – 8. Получены 19 серопозитивных результатов: от плоскочерепной полевки – 6, монгольской пищухи – 3 (в т.ч. 2 результата с 4-кратным превышением титра), даурской пищухи – 3, длиннохвостого суслика – 5, горностая – 2. Кроме того, в 5 погадках хищных птиц обнаружен капсульный антиген чумного микроба.

В 2013 г. численность монгольской пищухи в среднем по очагу весной составила 6,1 жилых нор на 1 га, увеличившись осенью до 8,3, что превысило многолетние показатели (4,1 и 6,4 соответственно). Численность даурской пищухи весной составила 0,8, осенью – 1,9 жилых нор на 1 га, что соответствует многолетним показателям. Средняя плотность нор алтайского сурка в восточной части очага (Уландрыкский участок очаговости) составила весной 0,2 жилых бутан на 1 га, летом – 0,9, осенью – 1,4. В западной части (Тархатинский участок очаговости) численность сурка не превышала 0,3 жилых бутан на 1 га. Численность длиннохвостого суслика оставалась на прошлогоднем уровне: весной – 3,9, осенью – 3,5 особи на 1 га. Показатели численности плоскочерепной полевки составляли весной 10,3 % попадания в орудия лова, осенью – 36,2 %.

На стоянках животноводов численность мелких млекопитающих в мае–июне составила 9,1 %, в сентябре–октябре – 5,4 % попаданий в орудия лова. В отловах здесь доминировала домовая мышь: весной ее численность составила 4,2, осенью – 8,7 %. Встречались также плоскочерепная полевка, джунгарский хомячок и монгольская пищуха.

В 2013 г. общий индекс обилия блох на монгольской пищухе весной составил 8,5, осенью – 6,2, что

*Весной 2014 г. эпизоотия на территории Прикаспийского песчаного природного очага чумы выявлена на площади 1400 км².

выше многолетней нормы. Запас ее блох в среднем по очагу весной равнялся 235, осенью – 406 экз. на 1 га, что выше уровня прошлого года и многолетней нормы. Несколько снизился индекс обилия блох на второстепенных носителях: на длиннохвостом суслике – до 0,9, даурской пищухе – до 6,4, плоскощепной полевке – до 1,0. В населенных пунктах блох не обнаружено.

В 2014 г. прогнозируется сохранение численности монгольской пищухи и ее блох на среднемноголетнем уровне. Сохраняется вероятность развития локальных эпизоотий на всех участках очаговости.

Тувинский горный очаг (37). В 2013 г. в очаге отмечалось снижение эпизоотической активности. В текущем году изолировано 38 штаммов возбудителя чумы, получено 19 положительных серологических реакций в системе РПГА/РНАг. Эпизоотические проявления отмечены на площади 1109 кв.км. Всего выявлено 20 эпизоотических участков на территории 14 секторов. Циркуляция возбудителя чумы установлена в границах трех мезоочагов: Монгун-Тайгинского (выделено 28 штаммов чумного микроба, получено 9 серопозитивных на чуму реакций), Боро-Шайского (7 штаммов, 4 серопозитивные находки) и Кара-Бельдырского (3 штамма и 2 серопозитивных результата). Помимо этого, по 2 серопозитивные находки обнаружены в Саглинском мезоочаге и урочище Чозы, которое располагается в 35–40 км восточнее границ очага. В Кара-Бельдырском мезоочаге все 3 культуры изолированы в его восточной части, в непосредственной близости от государственной границы с Монголией. Специфические антитела к возбудителю чумы обнаружены у сусликов, один из которых отловлен в урочище Толайты (здесь эпизоотии чумы регистрировали в 1968 и 1973 гг.), второй – в урочище Ак-Хем, располагающемся в 5 км западнее границы известных эпизоотических проявлений.

Численность длиннохвостого суслика до выхода молодняка в целом по территории очага снизилась до 4,1 особи на 1 га. Отмечено сохранение тенденции снижения интенсивности размножения зверьков: число эмбрионов на 100 половозрелых самок составило 297, что ниже нормы (440). Средняя плотность тарбагана по очагу составила 1,0 жилых бутана на 1 га. Отмечено снижение численности монгольской и даурской пищух: в мае–июне показатели плотности зверьков составляли соответственно 3,3 и 0,9 жилых нор на 1 га. Численность плоскощепной полевки в открытых стациях составила 1,5 % попадания в орудия лова. На чабанских стоянках в Монгун-Тайгинском мезоочаге в летний период показатель численности грызунов сократился до 16,6 % (2012 г. – 21,2 %).

Уровень численности блох длиннохвостого суслика повсеместно снизился. Индекс обилия блох на зверьках составил 3,6, во входах нор – 0,22, в гнездах – 38,7. Таким образом, запас блох основного носителя на 1 га составил всего 175, что ниже уровня прошлого года и многолетней нормы. Снижение

показателей численности блох произошло, в первую очередь, за счет сокращения численности блохи *Citellophilus tesquorum* – основного переносчика и хранителя инфекции в очаге. Блох в населенных пунктах не обнаружено.

В 2014 г. прогнозируется снижение численности длиннохвостого суслика и его блох на большей части территории очага. Ожидается дальнейшее сокращение эпизоотической активности очага и переход к преимущественно микроочаговой циркуляции возбудителя на локальных участках стойкой очаговости.

Восточно-Кавказский высокогорный природный очаг (39). В 2013 г. выделено 2 штамма возбудителя чумы в окрестностях с. Хосрех Кулинского района Республики Дагестан. Штаммы чумного микроба изолированы от блох *Ctenophthalmus intermedium* из гнезд обыкновенной полевки.

Условия зимовки 2012–2013 гг. положительно повлияли на состояние популяции основного носителя – обыкновенной полевки. Средняя численность ее в горной зоне составила весной 2013 г. 3,5 особи на 1 га, что соответствует многолетней норме (3,2). К осени средняя плотность полевок возросла до 5,0 особей на 1 га, что вдвое ниже нормы (11,9). В предгорной зоне плотность полевок составила весной 3,5 и осенью 3,8 особи на 1 га, что вдвое ниже многолетних (соответственно 7,4 и 8,7).

В горной зоне весной численность мышевидных грызунов в природных биотопах составила 1,9 % попадания в орудия лова; в предгорной зоне – 3,5 %. Осенняя численность мышевидных грызунов в природных биотопах в горной зоне составила 1,5 %; в предгорной зоне – 5,2 %. В населенных пунктах отмечена низкая численность мышевидных грызунов в осенний период: в горной зоне – 0,5 %, в предгорной – 0,9 %.

Численность блох обыкновенной полевки повсеместно очень низкая. Их обилие на 1 га составляло в горной зоне весной всего 4,3 (среднемноголетняя норма 53,2); осенью – 6,0 (норма 231,0). В предгорной зоне этот показатель весной равнялся 21,3 (норма 238,0). Блох в населенных пунктах не обнаружено.

Весной 2014 г. численность обыкновенной полевки прогнозируется на уровне средних многолетних показателей в горной зоне, а в предгорной зоне сохранится более низкий уровень. Численность блох не превысит среднемноголетнюю норму. Выявление локальных проявлений чумы наиболее вероятно в Кулинском районе Республики Дагестан (Кокмадагский участок очаговости).

Центрально-Кавказский высокогорный очаг (01). Очаг с 1970 г. характеризовался постоянной эпизоотической активностью вплоть до 2007 г. В 2012–2013 гг. на территории Карачаевского района Карачаево-Черкесской Республики зарегистрированы горные суслики с антителами к чумному микробу. В 2013 г. общая площадь, заселенная горным сусликом, составила менее 50 тыс. га, а средняя численность этого вида – 22 особи на 1 га, что соответствует

многолетней норме. Тенденция повышения численности горного суслика сохраняется начиная с 2009 г. во всех ландшафтно-эпизоотологических районах, в том числе: в Верхне-Кубанском она достигла 25,5; в Малко-Баксанском – 25,0; в Кубано-Малкинском и Баксано-Черекском – 19,0 особей на 1 га.

Средний показатель численности мышевидных грызунов в природных биотопах составил 7,0 % попадания в орудия лова. На открытых лугах, где обитает горный суслик, численность лесной и домовый мыши составляла 1 %. В населенных пунктах численность мышевидных грызунов колебалась в пределах 6,0–14,0 % попадания в орудия лова. Отмечено обитание серой крысы в различных типах объектов на территории н.п. Тырныауз и Былым. Блох в населенных пунктах не обнаружено.

Численность блох горного суслика относительно высока. Общий их запас в зоне горных степей (Кубано-Малкинский ЛЭР) составил 617, субальпийских лугов (Малко-Баксанский ЛЭР) – 736, альпийских лугов (Верхне-Кубанский ЛЭР) – 990 экз. на 1 га. Индекс доминирования основного переносчика *C. tesquorum* составлял в зоне горных степей 88,1 %; в зонах субальпийских и альпийских лугов – 90,3 % и 94,2 % соответственно. Блох в населенных пунктах не обнаружено.

В 2014 г. ожидается стабилизация численности горного суслика и общего запаса его блох на уровне среднемноголетних значений. На фоне сохранения низкой эпизоотической активности очага, а также в условиях не прекращающейся циркуляции возбудителя чумы и подъема численности носителя и переносчиков возможны находки зараженных животных.

В 2013 г. в 6 природных очагах чумы Российской Федерации сохранялся межэпизоотический период – Терско-Сунженском низкогорном (02), Дагестанском равнинно-предгорном (03), Прикаспийском Северо-Западном степном (14), Волго-Уральском степном (15), Забайкальском степном (38), Волго-Уральском песчаном (16). Причем в Волго-Уральском песчаном очаге отмечена тенденция роста численности носителей и переносчиков возбудителя чумы.

Волго-Уральский песчаный очаг (16). Последние находки зараженных животных отмечены на территории России в 2005 г., на территории Казахстана – в 2007 г. Благоприятные погодные условия 2013 г. способствовали увеличению численности основных носителей – малых песчанок. Интенсивность их размножения была выше уровня средних многолетних значений. Весной число эмбрионов на 100 половозрелых самок у полуденной песчанки составило 393, у гребенщиковой – 306 (при норме 224 и 203 соответственно). Суммарная средняя плотность малых песчанок весной достигла 7,5, осенью – 9,1 особи на 1 га, что несколько выше нормы (5,6 и 8,2 соответственно). Численность мышевидных грызунов составляла весной 3,6, осенью – 5,9 % попадания в орудия лова, что уступает многолетним показателям. В населенных пунктах численность до-

мовой мыши достаточно низка: 2,1 % весной и 2,9 % осенью. Численность блох малых песчанок увеличилась: весной – до 89, осенью – до 203 экз. на 1 га, что вдвое выше многолетнего уровня (44 и 116 соответственно). Индексы обилия блох на мышевидных грызунах равнялись 0,1.

В 2014 г. при благоприятных условиях зимовки численность малых песчанок, мышевидных грызунов и их эктопаразитов приблизится к многолетней норме. Отмечаемая тенденция стабилизации паразитарной системы очага значительно повышает вероятность проявлений чумы, в первую очередь в границах стойких эпизоотических участков.

Терско-Сунженский низкогорный природный очаг (02). С 2001 г. зараженных животных на территории очага не зарегистрировано. В 2013 г. в очаге сохраняется глубокая депрессия численности малого суслика. В настоящее время общая площадь его поселений оценивается в 30000 га. Средняя плотность малого суслика составляла 0,2 особи на 1 га. Показатели численности мышевидных грызунов в природных биотопах достигали 12,6 % попадания в орудия лова, что более чем вдвое выше нормы (5,4). Индексы обилия блох на второстепенных носителях не превышали единицы. В населенных пунктах обследование на наличие блох не проводили.

В 2014 г. в очаге сохранится низкий уровень численности малого суслика и его блох. Весенний уровень численности мышевидных грызунов предполагается на среднемноголетнем уровне. Обострения эпизоотической обстановки не ожидается.

Дагестанский равнинно-предгорный природный очаг (03). С 2004 г. проявлений чумы на территории очага не отмечено. В 2013 г. в равнинной части очага показатели численности малого суслика составляли 3,7 особей на 1 га, что несколько ниже уровня 2012 г., но многократно превышает среднемноголетние показатели (0,8). В предгорной зоне средняя плотность малого суслика составила 2,8 особей на 1 га, что ниже нормы (6,8). В Аграханских песках средняя численность гребенщиковой песчанки составила весной 4,6, осенью – 5,0 особей на 1 га. Численность мышевидных грызунов повсеместно низкая – 1,3 % попадания в орудия лова.

В целом по очагу численность блох малого суслика характеризуется низкими показателями. Лишь на отдельных участках весной 2013 г. наблюдалось увеличение запаса блох на 1 га по сравнению с предшествующим годом: в равнинной части очага до 61 (многолетняя норма – 18 экз. на 1 га); в предгорной части – до 120 (многолетняя норма – 156 экз. на 1 га). Летние показатели численности блох оказались на уровне среднемноголетних, либо превысили их.

Численность блох гребенщиковой песчанки сохранилась на низком уровне. Ее показатели колебались от 5 экз. на 1 га весной до 4 экз. осенью, при среднемноголетней норме соответственно 23,5 и 17,0 экз. на 1 га. Индексы обилия блох мышевидных грызунов повсеместно низкие. Блох в населенных

пунктах не обнаружено.

В 2014 г. численность малого суслика и его блох не превысит среднемноголетних показателей. Сохранится тенденция некоторого роста численности гребенщиковой песчанки. Численность мышевидных грызунов останется на низком уровне. В этих условиях активизации чумы в очаге не ожидается.

Забайкальский степной очаг (38). С 1971 г. зараженные животные на территории очага не регистрировались. В 2013 г. в очаге сохраняется низкая численность даурского суслика. Даже в оптимальных биотопах численность зверька редко превышает 2–3 особи на 1 га. На открытых участках степи весной показатели численности даурского суслика составляли 0,3–1,0, в среднем 0,5 особи на 1 га. В летне-осенний период численность суслика колебалась в пределах 0,3–0,6 особей на 1 га.

Монгольский сурух на территории очага встречается очень редко, в основном в труднодоступных участках гористой местности. Плотность его поселений в этих биотопах составила 0,8 жилых бутанов на 1 га. На территории очага сохраняется депрессия численности даурской пищухи. В 2013 г. показатели численности этого вида не превышали 0,1 жилой норы на 1 га. Весной численность даурского и джунгарского хомячков в юго-восточной и восточной частях очага равнялась 0,3–0,6 % попадания в орудия лова. Летом вдоль окраин старых полей показатель численности даурского хомячка составлял в среднем 3,1 % попадания в орудия лова. Численность джунгарского хомячка оставалась низкой и составляла в среднем 0,01 % попадания в орудия лова. В 2013 г. полевка Брандта на обследованных участках территории очага не отмечена.

Низкая численность и большая разреженность поселений хозяев-прокормителей препятствует нормальной жизнедеятельности их эктопаразитов. Численность блох даурского суслика осталась на низком уровне. Индексы обилия блох на зверьках равнялись 4,1, во входах нор – 0,8. Индекс обилия блох на даурской пищухе составлял 1,4, на стадной полевке – 1,8. Блох в населенных пунктах не обнаружено.

В 2014 г. существенного роста численности носителей и переносчиков чумы не произойдет. Обострения эпизоотической обстановки не ожидается.

Прикаспийский Северо-Западный степной очаг (14). Последние находки зараженных чумой животных зарегистрированы здесь в 1990 г. В очаге сохраняется глубокая депрессия численности малого суслика и его специфических блох. В 2013 г. появление сусликов на поверхности отмечали в январе, а массовое пробуждение произошло во 2–3 декадах марта, что на 10–15 дней раньше многолетних сроков. Средняя численность суслика составила 5,6 особи на 1 га, что почти вдвое ниже средней многолетней величины (9,6). Плотность суслика на Ергенинской возвышенности не превышала 3 особей на 1 га. На севере Черных земель этот показатель составил 4,7, в низменно-солонцеватых степях – 8,0 особей на 1 га.

На локальных участках в северной части очага и ложине Даван численность зверьков вокруг стоянок животноводов увеличилась до 5–10 особей на 1 га.

Средняя численность мышевидных грызунов в зональных биотопах составила весной 4,7, осенью – 8,7 % попадания в орудия лова. В интразональных биотопах и в агроценозах их численность составляла весной 12,8 %, осенью – 22,1 %. В населенных пунктах численность домовых мышей достигала весной 4,6 %, осенью – 8,4 % при заселенности объектов от 17 до 48 %.

Численность блох малого суслика в 2013 г. на Ергенях составила 148, в низменно-солонцеватых степях – 225, на Черных землях – 129 имаго на 1 га, что уступает прошлогоднему уровню и много ниже многолетнего. Индексы обилия блох на мышевидных грызунах повсеместно низкие. В населенных пунктах блох не зарегистрировано.

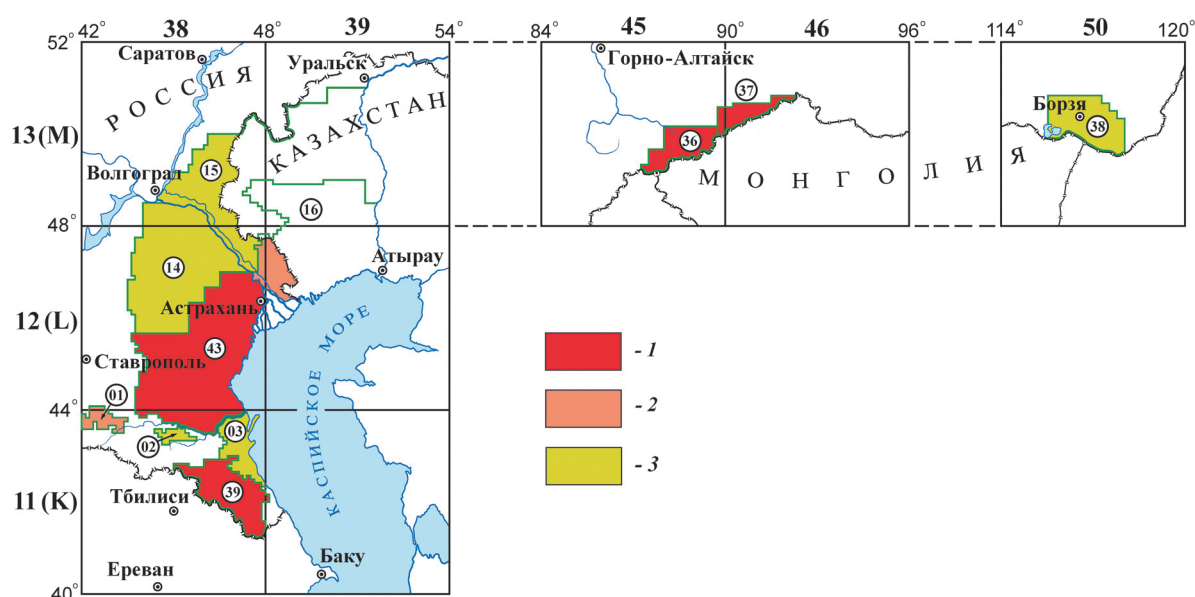
В 2014 г. в очаге сохранится низкий уровень численности носителей и переносчиков чумы. На этом фоне развитие эпизоотий чумы в очаге маловероятно.

Волго-Уральский степной очаг (15). Последние находки зараженных животных отмечены на территории России в 1975 г., на территории Казахстана – в 2001 г. В 2013 г. плотность суслика в западной части очага составила 2,4 особи на 1 га, что соответствует прошлогоднему, но много ниже многолетней нормы (8,8). Средняя численность мышевидных грызунов в степи достигала весной 3,7, осенью – 10,3 % попадания в орудия лова; в Волго-Ахтубинской пойме, соответственно, 7,9 и 9,8 %, что ниже показателей прошлого года и многолетней нормы. Численность мышевидных в населенных пунктах составила 3,0 %, что несколько выше прошлогоднего показателя (1,8), но ниже многолетнего. Заселенность объектов грызунами в среднем была 15,6 %.

Общий запас блох малого суслика повсеместно очень низкий, в среднем 61 экз. на 1 га, что соответствует прошлогоднему уровню (75), но в 6 раз ниже нормы (368). Индексы обилия блох на мышевидных грызунах также низкие. В населенных пунктах блох не обнаружено.

В 2014 г. в очаге сохранится низкий уровень численности малого суслика и его блох. Численность мышевидных грызунов не превысит уровня средних многолетних значений. Развитие эпизоотий чумы маловероятно.

Представленные выше материалы служат основой для прогноза на сохранение напряженной эпизоотической обстановки в природных очагах чумы Северо-Западного Прикаспия, Кавказа, Сибири. В 2014 г. развитие эпизоотий ожидается на территории Прикаспийского песчаного, Алтайского, Тувинского горных и Восточно-Кавказского высокогорного природных очагов чумы (рисунок). В связи с тенденцией дальнейшей стабилизации паразитарных систем повышается вероятность выхода из состояния межэпизоотического периода Волго-Уральского песчаного и Центрально-Кавказского высокогорного очагов. В



Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2014 г.:

1 – сохранение эпизоотической активности различной интенсивности; 2 – возможен выход из состояния межэпизоотического периода; 3 – сохранение межэпизоотического периода

остальных очагах прогнозируется отсутствие эпизоотической активности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Топорков В.П., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., Попов В.П., Вержущий Д.Б., Корзун В.М., Чипанин Е.В., Дубянский В.М., Малецкая О.В., Григорьев М.П., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпизоотическая активность природных очагов чумы Российской Федерации в 2012 г. и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:5–10.
2. Попов Н.В., Безсмертный В.Е., Удовиков А.И., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Матросов А.Н., Князева Т.В., Федоров Ю.М., Попов В.П., Гражданов А.К., Аязбаев Т.З., Яковлев С.А., Караваева Т.Б., Кутырев В.В. Влияние современного изменения климата на состояние природных очагов чумы России и других стран СНГ. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 3:23–8.
3. Попов Н.В., Топорков В.П., Безсмертный В.Е., Попов В.П., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Слудский А.А., Удовиков А.И., Караваева Т.Б., Меркулова Т.К., Кутырев В.В. Долгосрочный прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы в Российской Федерации как основа повышения эффективности профилактических мероприятий. *Жизнь без опасностей. Здоровье. Профилактика. Долголетие.* 2012; 7(3):13–7.

References

1. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Toporkov V.P., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Popov V.P., Verzhutsky D.B., Korzun V.M., Chipanin E.V., Dubyansky V.M., Maletskaya O.V., Grigoryev M.P., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. [Epizootic Activity of Natural Plague Foci in the Russian Federation in 2012 and Prognosis for the Year of 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:5–10.
2. Popov N.V., Bezsmertny V.E., Udobikov A.I., Kuznetsov A.A., Sludsky A.A., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Fedorov Yu.M., Popov V.P., Grazhdanov A.K., Ayazbaev T.Z., Yakovlev S.A., Karavaeva T.B., Kutyrev V.V. [Impact of the Present-Day Climate Changes on the Natural Plague Foci Condition, Situated in the Territory of the Russian Federation and Other CIS Countries]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 3:23–8.

3. Popov N.V., Toporkov V.P., Bezsmertny V.E., Popov V.P., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Sludsky A.A., Udobikov A.I., Karavaeva T.B., Merkulova T.K., Kutyrev V.V. [Long-term prognosis of epizootic activity of plague natural foci in the Russian Federation as the basis for prophylactic measures efficiency enhancement]. *Zhizn Bez Opasnostey. Zdorov'e. Profilaktika. Dolgoletie.* 2012; 7(3):13–7.

Authors:

- Popov N.V., Toporkov V.P., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Kuznetsov A.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru
- Bezsmertny V.E., Popov V.P. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nln.ru
- Verzhutsky D.B., Korzun V.M., Chipanin E.V., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russia. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru
- Dubyansky V.M., Maletskaya O.V., Grigoryev M.P., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Об авторах:

- Попов Н.В., Топорков В.П., Матросов А.Н., Князева Т.В., Кузнецов А.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru
- Безсмертный В.Е., Попов В.П. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nln.ru
- Вержущий Д.Б., Корзун В.М., Чипанин Е.В., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилессера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru
- Дубянский В.М., Малецкая О.В., Григорьев М.П., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Поступила 23.01.14.

Е.А.Москвитина¹, О.Л.Адаменко¹, И.В.Дворцова¹, В.Д.Кругликов¹, С.М.Иванова², Д.А.Козина¹

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОБСТАНОВКА ПО ХОЛЕРЕ В МИРЕ В 2013 г., ПРОГНОЗ НА 2014 г.

¹ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

Продолжалось динамическое и многоаспектное слежение за холерой на глобальном и других территориальных уровнях с целью оценки эпидемиологической обстановки и прогноза. В 2013 г. (неуточненные данные на 31.12.2013 г.) в мире зарегистрировано 91990 больных холерой в 40 странах мира, в 2012 – 251418 в 51 стране соответственно. В мире остается сложная эпидемиологическая обстановка в странах Карибского бассейна, в ряде стран Азиатского и Африканского континентов, обусловленная наличием социальных и природных условий и факторов риска, приведших к формированию эндемичных очагов, эпидемиям и вспышкам с высокими показателями летальности, распространению холеры, вызванной *V. cholerae* O1 El Tor, в том числе с измененными геномными вариантами штаммов. Прогноз по холере в мире остается неблагоприятным. Эпидемиологическая обстановка в России определялась изоляцией из поверхностных водоемов гемолизположительных *ctx⁻tcpA⁺* и *ctx⁺tcpA⁺* культур *V. cholerae* O1 El Tor сероваров *Ogawa* и *Inaba* в субъектах, различных по типам эпидемических проявлений холеры.

Ключевые слова: холера, эпидемии, эндемичные территории, факторы риска, природные и социальные условия, измененные в геноме варианты *V. cholerae* O1, прогноз.

E.A.Moskvitina¹, O.L.Adamenko¹, I.V.Dvortsova¹, V.D.Kruglikov¹, S.M.Ivanova², D.A.Kozina¹

Epidemiological Situation on Cholera throughout the World in 2013, Forecasting for 2014

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation; ²Plague Control Center, Moscow, Russian Federation

Dynamic multi-factor surveillance over the cholera both around the globe and on the lower territorial scale has been continued in order to evaluate epidemiological situation on the disease and make a forecasting. In 2013 (unspecified data of 31.12.2013) registered were 91990 patients with cholera in 40 countries worldwide, and 251418 in 2012 in 51 countries respectively. Epidemiological situation of the Caribbean and in some countries around the Asian and African continents remained unfavorable too. It was predetermined by social and environmental conditions, as well as risk factors which led to endemic foci formation, epidemics and onsets of the disease with high indexes for mortality and dissemination of cholera, causative agent being *V. cholerae* O1 El Tor, including altered genovariants of the strains. Therewith forecasting on the disease world over remains unfavorable. As for epidemiological situation in the Russian Federation, it is determined by isolation of hemolysis-positive *ctx⁻tcpA⁺ ctx⁺tcpA⁺* *V. cholerae* O1 El Tor cultures, serovars *Ogawa* and *Inaba*, from surface waters of the reservoirs, which are different in epidemic manifestations of the disease.

Key words: cholera, epidemics, endemic territories, risk factors, natural and social conditions, altered genovariants of *V. cholerae* O1, forecasting.

В настоящее время общепризнано, что теоретической и научно-практической основой профилактики и борьбы с инфекционными болезнями, в том числе холерой, является эпидемиологический надзор. С учетом этого продолжалось динамическое и многоаспектное слежение за эпидемическим процессом этой опасной инфекционной болезни на глобальном и других территориальных уровнях с целью оценки эпидемиологической обстановки и прогноза.

Использованы сведения проблемно ориентированных баз данных «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в мире», «Холера Эль-Тор. Мир. Административные территории», «Холера Бенгал», «Холера Эль-Тор. Эпидемиологический анализ заболеваемости в СНГ, России», «Холерные вибрионы. Россия». Формирование их осуществляли с использованием сведений из Wkly Epidemiologic Record (World Health Organization, 2013), ProMED-mail post (2013 г.), сайта Министерства здравоохранения Гаити, научных публикаций из базы данных PubMed. Анализ выде-

ления холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп из объектов окружающей среды в России проведен на основании соответствующей оперативной информации, поступающей в институт как в Референс-центр по мониторингу за холерой из противочумных институтов, станций, Управлений Роспотребнадзора и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации, а также на основании паспортных данных на штаммы после их окончательной идентификации.

Мир. В 2013 г. (не уточненные данные на 31.12.2013 г.) зарегистрировано 91990 больных холерой в 40 странах мира, в 2012 г. – 251418 в 51 стране соответственно. Эпидемии, вспышки и завозы инфекции имели место в Азии, Африке, Америке и Европе.

Наряду со странами, где эпидемические проявления имели место ежегодно (в Америке – Гаити, Доминиканская Республика, Куба; в Западной Африке – Гана, Гвинея, Мали, Нигер, Нигерия; в Восточной Африке – Замбия, Мозамбик, Сомали,

Уганда; в Южной Африке – Зимбабве; в Центральной Африке – Демократическая Республика Конго и Республика Конго; в Южной Азии – Индия, Пакистан; в Юго-Восточной Азии – Малайзия, Филиппины; в Центральной Азии – Китай, Афганистан), холера зарегистрирована в некоторых странах после отсутствия в течение трех, пяти и более лет (в Западной Африке – Гвинея-Бисау; в Южной Африке – ЮАР). При этом наряду с ежегодными осложнениями эпидемиологической ситуации на уровне одних и тех же административных территорий (штатов, провинций, округов и других), на чем мы остановимся ниже, отмечено поступательное распространение холеры на новые территории, обусловленное меж- и внутригосударственными завозами возбудителя инфекции, действием на активизацию эпидемического процесса других социальных, а также природных факторов. Это свидетельствует о распространении холеры на континентальных, региональных и территориальных уровнях, то есть о продолжении седьмой пандемии холеры.

Наибольший удельный вес больных холерой в 2013 г. приходится на страны Америки – 69,12 % (63590 больных холерой) и Африки – 28,22 % (25963), в Азии он составил 2,66 % (2429), и в Европе – 0,008 % (8). Необходимо отметить, что в структуре мировой заболеваемости холерой преобладание стран Американского континента сохраняется с 2010 г., после начала масштабной эпидемии в регионе Карибского бассейна, и эпидемиологическое неблагополучие в странах Африки [1, 2].

Показатель летальности в мире в 2013 г. – 2,12 %, в целом в странах Америки – 1,53 %, Африки – 3,66 %, Азии – 0,95 %.

Америка. Эпидемиологические осложнения по холере отмечены в странах Карибского бассейна (Гаити, Доминиканская Республика, Куба, Мартиника), Южной (Венесуэла и Чили) и Центральной Америки (Мексика).

Карибский бассейн. Гаити. По данным Министерства общественного здравоохранения и народонаселения Гаити, с 18.10.2010 по 31.12.2013 г.

зарегистрировано 696794 больных холерой с поражением всех департаментов страны, 8531 летальный исход [41]. В 2013 г. летальность в целом по стране составила 1,0 %, достигая в Южном и Юго-Восточном департаментах страны в отдельные периоды эпидемии 70,0–100,0 %. Это, по данным ООН, связано с сокращением числа центров лечения холеры на 16 % с 2012 по 2013 г., снижением поддержки извне на 30 % пока еще действующих медицинских учреждений, отсутствием достаточного финансирования [27].

В 2013 г. выявлена тенденция к снижению заболеваемости с темпом 30,686 (относительно 2010 г.). При анализе сезонности (2012–2013 гг.) установлены ежегодные подъемы в мае–июне и сентябре–ноябре (рис. 1), что, по мнению экспертов ПАНО/WHO (Pan American Health Organization/World Health Organization), совпадает с периодами сильных дождей (сезон тропических штормов-ураганов) в мае–июле и примерно с сентября по октябрь [5]. Необходимо отметить, что имели место завозы инфекции с Гаити в Мартинику [13].

Нельзя не остановиться на представляющих научный интерес исследованиях по характеристике штаммов *Vibrio cholerae* El Tor O1 из Гаити. Это работа J. Dolores, K. J. F. Satchell [38], в которой показано, что среди появившихся недавно измененных штаммов *V. cholerae* El Tor O1, несущих классический ген *ctxB*, отмечена мутация в гене *rtxA* с аллелью 1 токсина MARTX, приводящая к инактивации и ингибции функции токсина. Установлено в эксперименте, что наиболее клинически значимым изменением в гене *rtxA* токсина является один SNP, который возник в штаммах *Vibrio cholerae* El Tor O1, циркулирующих в настоящее время и известных как измененные штаммы Эль Тор. Этот SNP инактивировал функцию токсина MARTX за счет введения преждевременного стоп-кодона, что привело к усечению белка на 12 аминокислот и к вероятному нарушению сигнала секреции на С-конце. Такой нуль-мутант представляет собой генетическую «среду», благоприятную

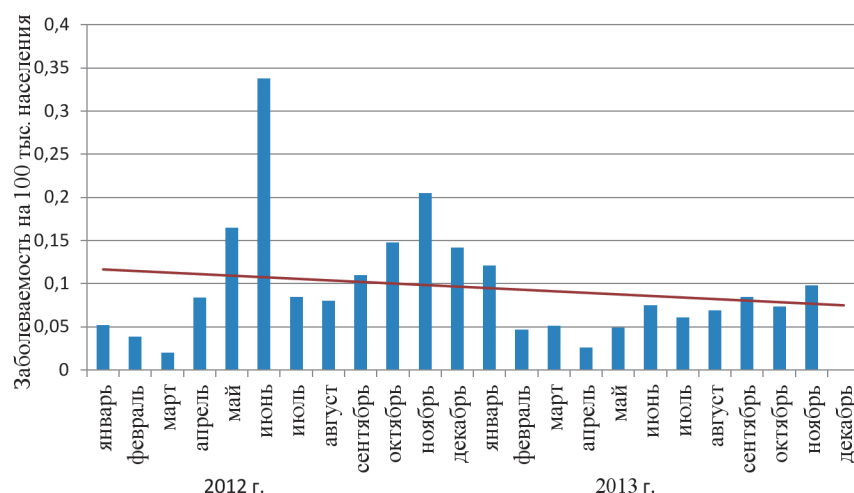


Рис. 1. Динамика заболеваемости холерой в Гаити

для последующего появления *ctxB7* с аллелем 4 гена *rtxA* в штаммах, получивших распространение в Индии, Непале, Камеруне, Гаити и Доминиканской Республике [3, 40, 41, 44, 46]. Подобно штаммам классического биовара, измененные пандемические штаммы Эль Тор утратили ген *rtxA* после приобретения *ctxB* классического типа. Этот факт подчеркивает, что эволюция холеры Эль Тор следует по пути повышенной зависимости от холерного токсина с устранением прочих секретируемых факторов. Отмечено, что при изучении измененных штаммов Эль Тор необходимо определять *ctxB* и *rtxA* аллели, чтобы понять, продуцирует ли такой штамм активный токсин MARTX [38].

L.S.Katz *et al.* [43] при изучении эволюционной динамики *V. cholerae* O1, выделенных на Гаити в определенный отрезок времени (с октября 2010 по 2012 г.) после заноса из одного источника, с применением метода секвенирования полного генома штаммов, выявили почти однородный их геномный состав. Эти штаммы имели различные профили по результатам гель-электрофореза в пульсирующем поле (PFGE). Сравнение геномов этих штаммов со 108 геномами *V. cholerae* (с определением 566 однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в коровых геномах) из других источников, в том числе из Таиланда, Бангладеш, Непала, Камеруна, Индии, Пакистана и Бенина, подтвердило идентичность штаммам из Непала и отличие от циркулирующих в других странах мира. Высказана точка зрения, что внутренние мутационные процессы могут нести ответственность за все наблюдаемые генетические полиморфизмы без заметного участия горизонтального переноса генов (HGT). В частности установлено, что клон из Гаити имел ограничения в способности приобретать новый генетический материал в результате отсутствия способности к естественной трансформации, являющейся важным механизмом горизонтального переноса генов. Происходит она у *V. cholerae* на хитиновых поверхностях и требует функционального кворум-сенсинга (QS). Эксперименты по трансформации на хитине продемонстрировали, что у штаммов из Гаити была нарушена способность к поглощению внеклеточной ДНК из клинического штамма или собственной ДНК. Но эти ограничения не были обусловлены отсутствием способности к QS и экспрессии *hapR* у изучаемых штаммов. Убедительно опровергнута версия о том, что местные штаммы *V. cholerae* в результате HGT повлияли на вызвавший вспышку штамм. При изучении вариаций в составе генов и структурной организации выявлено наличие независимых делеций и инверсий в SXT – мобильном генетическом элементе, содержащем гены, ответственные за антибиотикорезистентность.

По мнению Y.H.Grad, M.K.Waldor [39], упомянутая работа L.S.Katz *et al.* [43] пополняет все возрастающий массив работ, в которых методы геномики используются для изучения и происхождения вспышек.

В качестве прогноза по холере в Гаити можно привести мнение о вероятности того, что холера останется в стране на годы. Из 10 миллионов гаитянского населения только 2 % имеют доступ к питьевой воде, большинство людей живет в антисанитарных условиях и использует для своих нужд воду из близлежащих рек, число больных будет расти в периоды наводнений [10].

Доминиканская Республика. С ноября 2010 г. по декабрь 2013 г. в стране зарегистрировано 32271 больной холерой, летальность – 1,4 %. Больные выявлены в 31 из 32 провинций страны, при этом в восьми провинциях (La Altagracia, Azua, Boarucu, La Vega, San Cristobal, San Pedro de Macoris, Santiago и Santo Domingo) отмечено 80 % от всех случаев за 2013 г. По данным РАНО/WHO, распространение холеры в Доминиканской Республике, по-видимому, связано с водой рек, являющихся общими для Доминиканы и Гаити. Более развитая санитарная инфраструктура в стране дала возможность избежать ситуации, наблюдаемой в Гаити [21]. Вместе с тем имели место эпидемические осложнения в отдаленных от Гаити провинциях, связанные с социальными условиями: вспышка в San Cristobal была обусловлена реализацией водного пути передачи через контаминированную воду, продаваемую населению из танкеров (баков), в провинции San Juan фактором передачи явилась речная вода, куда сбрасывались стоки; выявление больных в Исправительном центре в Higüey (провинция La Altagracia) связывают с содержанием в камере 146 заключенных, рассчитанной на 20 человек [25]. В ряде провинций (Santiago, Santo Domingo и San Juan) холеру регистрируют ежегодно, что свидетельствует о формировании эндемичных территорий в стране.

Куба. За период с июня 2012 г. по декабрь 2013 г. (на 23 декабря) в стране зарегистрировано 678 подтвержденных случаев холеры в 11 провинциях страны (из 15) с распространением на новые территории и регистрацией повторно в ряде из них. Летальность – 0,4 %. Первая вспышка произошла в Гаване в январе 2013 г., когда был подтвержден 51 случай инфицирования *V. cholerae* серогруппы O1 серотипа Огава, биотипа Эль Тор с преобладанием больных среди прибывших из восточных провинций страны. Впоследствии о холере поступила информация из провинций Guantnamo, Granma, Holguin, La Habana, Matanzas, Mayabeque, Cienfuegos, Camaguey, Las Tunas, Santiago de Cuba. Причинами, способствовавшими широкому распространению вспышек, явились социальные условия: миграция внутри страны с последующим распространением (участие в похоронах в провинции Cienfuegos); реализация пищевого пути распространения возбудителя отмечена во время вспышки в Гаване, где на двух предприятиях питания были выявлены бессимптомные вибрионосители (из числа разносчиков блюд) [21, 22]. Основными факторами риска являлись потребление контаминированной необеззараженной воды, пищи, купленной у уличных торговцев, блюд из сырых или недостаточно

термически обработанных морепродуктов. О контаминации объектов окружающей среды свидетельствуют данные об инфицировании туриста из Италии (был на Кубе с 23 июня по 13 июля), который в последний день пребывания в Гаване употреблял в пищу сырые морепродукты, в том числе морского ежа и крабов, которых самостоятельно поймал у побережья Гаваны. Во время перелета в Италию у мужчины развилась водянистая диарея, появились сильная слабость, тахикардия, мышечные судороги, головокружение, боли в животе, тошнота и рвота. На следующий день после возвращения он поступил в больницу с водянистой диареей, обезвоживанием, сильной потерей веса (10 кг), низким кровяным давлением и тяжелой почечной недостаточностью. Фенотипические и генетические характеристики штамма *V. cholerae* O1, выделенного из клинических проб от больного, свидетельствовали о родстве этого штамма с эпидемическими штаммами из Гаити [23].

Куба – важный туристический центр. По оценкам РАНО/WHO, в 2010 г. Кубу посетило более 2,5 млн туристов, примерно 32 % от этого числа являлись гражданами стран Европы, в основном Италии, Испании и Германии [23]. Это указывает на существующий риск инфицирования холерой людей, совершающих поездки в эту страну. Подтверждением этому являются завозы холеры с Кубы в 2013 г. в страны Европы: в Италию (3 завоза), Германию (2), Испанию (2), Нидерланды (1) и страны Южной Америки: в Венесуэлу (2) и Чили (2) [19, 21, 22, 23]. В одном из последних сообщений РАНО/WHO акцентирует внимание на том, что, несмотря на то, что с Кубы не поступает официальных сообщений о новых больных, неправительственные источники продолжают сообщать о новых случаях холеры [36].

Центральная Америка. Мексика. В коммюнике Федерального Секретариата здравоохранения Мексики сообщено о 157 случаях холеры в стране, 145 из которых зарегистрированы в центральном штате Hidalgo, где фактором передачи возбудителя инфекции послужила вода реки, которую местное население использует для повседневных нужд: мытья овощей и фруктов, стирки белья, купания и прочего. После недели сильных ливней в начале октября число больных холерой выросло [29]. Помимо Hidalgo, больные зарегистрированы и в других местностях – в Федеральном округе (2 больных), в центральном штате San Luis Potosi (1), в штате Veracruz (2), расположенном на побережье Мексиканского залива, в штате Mexico (9) [30]. Всего, по данным РАНО/WHO, зарегистрировано 184 больных холерой, один умер. Как сообщает ВОЗ, генетический профиль циркулирующего штамма, выделенного от больных в Мексике, идентичен штамму (95 %), который убил более 8 тыс. жителей Гаити с октября 2010 г., и отличается от штамма, циркулировавшего в Мексике во время эпидемии 1991–2001 гг.

При анализе поступающей из ProMED-mail информации обращает на себя внимание то, что «при

умеренной тяжести заболевания для 70 % больных холерой не понадобилась госпитализация» [30], то есть противохолерные мероприятия проводятся не в полном объеме, способствуя распространению возбудителя инфекции с источниками в пространстве и во времени.

Следует отметить факт распространения штаммов *V. cholerae* El Tor O1 из Гаити с вышеуказанной характеристикой в странах Карибского бассейна, Центральной и Южной Америки.

Азия. В 2013 г. из различных источников поступила информация о холере из стран *Центральной Азии* (Афганистан – 1492 больных холерой, Китай – 12), *Юго-Восточной* (Малайзия – 20, Филиппины – 105), *Юго-Западной* (Иран – 214) и *Южной* (Индия – 246, Пакистан – 340). По данным ВОЗ [4], сотни тысяч случаев холеры в Азии не учитываются по причине серьезных ограничений в функционировании систем надзора на обширных территориях Азии. Более двух миллионов больных острой водянистой диареей регистрируется в Бангладеш ежегодно, неизвестно, какая часть этих случаев вызвана *V. cholerae*.

Осложнения эпидемиологической ситуации были обусловлены:

- межгосударственными завозами возбудителя инфекции нелегальными мигрантами из Афганистана и Пакистана в столицу Ирана Тегеран, в провинции Sistan-Balujistan и Kerman с последующим распространением холеры; в Китай, Hong Kong SAR; внутригосударственными в Индии – в штат Kerala из штата Karnataka [11, 28, 31];

- вспышкой холеры в лагере для сирийских беженцев Za'atari в провинции Mafrq Governore, на северо-востоке Иордании, причиной которой могло быть использование загрязненной воды и несоблюдение надлежащих санитарных условий в лагере, отсутствие медицинского контроля со стороны международных органов здравоохранения. По сообщению администрации Министерства Здравоохранения страны, сотни больных проходят лечение в местных поликлиниках и больницах, находящихся рядом с лагерем [15];

- активизацией эпидемического процесса на эндемичных территориях Индии (штаты Gujarat и Maharashtra) за счет контаминации источников питьевой воды после дождей [18];

- вспышками холеры, возникшими под влиянием социальных условий и наличием постоянных территориальных рисков за счет отсутствия или неудовлетворительного состояния системы водоснабжения и водоотведения и, как следствие, использование контаминированной воды (Филиппины, округ Maguindanao; Пакистан, провинция Balochistan; Непал, Banke District; Афганистан, провинция Badakhshan. Так, согласно данным Агентства международного развития США (US Agency for International Development), лишь 12 % населения сельских районов Афганистана имеет доступ к чистой питьевой воде [14, 15, 20, 24];

- сочетанием природных (муссонные дожди, наводнения) и социальных условий (Непал, Kathmandu, Central Region; Индия, Uttarakhand State) [16, 17].

К настоящему времени установлено, что на Азиатском континенте вспышки и эпидемии обусловлены атипичными штаммами Эль Тор с модификациями в генах профага СТХФ и в группировке генов, несущими ген *ctxB*, подобный классическому (известны также как СТХ-2) [44]. Среди таких атипичных штаммов Эль Тор есть штаммы, обозначаемые как измененные штаммы Эль Тор (известные также как СТХ-3), профаг СТХФ которых идентичен профагу штаммов Эль Тор по последовательности и локализации в геноме, за исключением того, что в *ctxB3* аллеле Эль Тор имелись две точечные мутации, которые изменили этот ген на *ctxB1* аллель, присутствующий в штаммах классического биотипа [47]. Измененные штаммы Эль Тор были впервые выделены в Бангладеш в 1990-х годах [44, 48], начиная с 2000 г. вытеснили типичные штаммы Эль Тор [45]. Затем эти штаммы накопили дополнительную мутацию в гене *ctxB*, аллель *ctxB7* [47] (известны также как СТХ-3b); эти штаммы были впоследствии идентифицированы среди выделенных в Индии, Бангладеш и Непале [3, 40, 41, 44, 46]. P.Zhang *et al.* [49] сообщили о новых вариантах гена *ctxB* в штаммах *V. cholerae* O1 из Китая.

Учитывая, что аллель 1 гена *rtxA* Эль Тор высококонсервативен и является преобладающим среди штаммов седьмой пандемии (Таиланд, Малайзия, Вьетнам), следует отметить об обнаружении в Индии, Бангладеш и Непале измененных по этому признаку *V. cholerae* O1 [38].

Африка. Число пораженных стран – 22. Холера выявлена во всех регионах континента (кроме Северного) с показателями заболеваемости (на 100 тыс. населения) в странах Восточной Африки от 0,04 (Замбия) до 11,37 (Бурунди); Западной – от 0,27 (Гана) до 58,89 (Гвинея-Бисау); Центральной от 12,59 (Конго) до 44,67 (Ангола) и Южной от 0,002 (ЮАР) до 0,16 (Намибия). При этом о холере сообщено из 47 административных территорий (штаты, регионы, провинции): из Западной Африки – 19, из Центральной – 12, из Восточной – 14 и из Южной – 2. Летальность в Африке – 3,7 %, в Восточном регионе – 9,2 %; в Западном – 3,7 %; в Центральном – 2,7 %.

Неблагополучная эпидемиологическая обстановка обусловлена наличием факторов риска и особенностями эпидемического процесса:

- отсутствие базовых санитарных условий и инфраструктуры, обеспечивающих в ряде стран континента нормальное качество воды и адекватный уровень санитарии (Замбия, Central Province; Демократическая Республика Конго, South Kivu Province; Нигерия; Мали, Gao Region; Руанда, Rusizi District) [7, 12, 24, 26];

- наличие эндемичных очагов с ежегодными эпидпроявлениями без завозов извне (в Замбии,

Central Province, в Зимбабве, Masvingo Province, Уганде, Western Region, в Нигере, Tillaberi region) [7, 11, 12, 24, 37];

- разлитой в пространстве с поражением большого числа населенных пунктов (Уганда, Nebbi District; Танзания, Rukwa Region; Мозамбик, Cabo Delgado, Niassa Province; Нигерия) [7, 8, 33] и хронический тип эпидемического процесса – продолжение в январе 2013 г. эпидемий, начавшихся в 2012 г. (Гвинея-Бисау, Tombali Province) [24];

- неудовлетворительное санитарное состояние в лагерях беженцев (Сьерра-Леоне, Western Rural District; Нигерия, Nasarawa State) [26, 32]; большое скопление мигрантов (15000) в лагере беженцев в Нигере (Tillaberi region), прибывших из Мали вследствие военного конфликта в стране [12];

- переполненные тюрьмы и недоброкачественная питьевая вода. В тюрьме Огаден в региональной столице Джигджига (Эфиопия, Somali Region), рассчитанной на 400 заключенных, находилось несколько тысяч человек. За одну неделю умерли 55 заключенных после употребления контаминированной воды, хранящейся в цистернах [35].

- межгосударственный завоз холеры из Анголы в Намибию [17];

- урбанизация и высокая плотность населения (Нигерия, Oyo State; Конго, Pointe-Noir; Того, Maritime Region) [9, 31];

- реализация пищевого пути передачи возбудителя инфекции через контаминированные продукты, покупаемые у уличных торговцев (Нигерия, Lagos State) [32];

- отсутствие медицинской помощи больным холерой в районах, расположенных вдали от крупных городов (Нигерия, Benue State) [34];

- сочетание природных условий (засуха, сезон дождей и их последствия) и факторов риска (качество воды, другие проблемы с санитарным благоустройством) (Конго, Pointe-Noir; Демократическая Республика Конго, Katanga Province; Ангола, Uije Province, Southern Provinces) [6, 8, 9, 34, 37].

Наряду с *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, в том числе генетически измененными, приведены данные о выделении от больных *V. cholerae* O139 серогруппы [33].

Европа. Кроме завозов холеры с Кубы в Германию, Испанию, Нидерланды и Италию, информации не поступало [21, 22, 23].

Страны СНГ. Из доступных источников сообщений о холере не было.

Россия. Эпидемиологическая обстановка определялась изоляцией из поверхностных водоемов 49 атоксигенных, гемолизоположительных культур *V. cholerae* O1 El Tor, сероваров *Ogawa* – 35 (71,43 %) и *Inaba* – 14 (28,57 %). Наряду со штаммами *V. cholerae* O1 *ctx⁻ tcpA⁻*, идентифицированы три штамма *V. cholerae* O1 *ctx⁻ tcpA⁺* из поверхностных водоемов, в местах сброса сточных вод (Республика Калмыкия, Хабаровский край). Холерные вибрионы

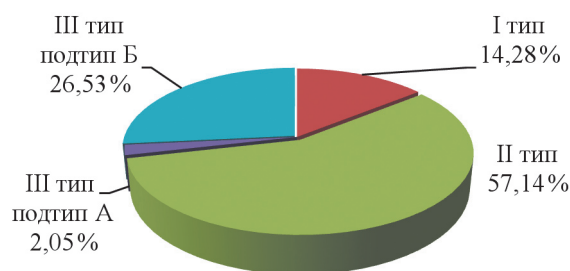


Рис. 2 Удельный вес выделенных штаммов холерных вибрионов O1 в субъектах Российской Федерации, различных по типам эпидемических проявлений холеры. 2013 г.

были выделены из объектов окружающей среды на административных территориях, различных по типам эпидемических проявлений холеры (рис. 2), в том числе:

- на территориях I типа – Ростовская область, Ростов-на-Дону (в местах неорганизованного рекреационного водопользования и сброса хозяйственно-бытовых сточных вод);

- на территориях II типа – Республика Калмыкия, Элиста (в местах неорганизованного рекреационного водопользования и сброса сточных вод в поверхностные водоемы); Краснодарский край, Новороссийск (в зоне организованного рекреационного водопользования);

- на территории III типа подтип А – Иркутская область, Усолье (в месте сброса хозяйственно-бытовых сточных вод);

- на территориях III типа подтип Б – Забайкальский край, Республики Бурятия и Коми (в зонах организованного и местах неорганизованного рекреационного водопользования); Хабаровский край, Хабаровск (в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод).

Пик изоляции холерных вибрионов пришелся, как и в предшествующие годы, на июль и август – 28,60 и 51,02 % соответственно. В остальные месяцы показатели распределились следующим образом: в мае – 2,04 %, июне – 4,06 %, сентябре – 14,28 %. Следует отметить, что сезон выделения холерных вибрионов в 2013 г. начался в мае месяце (Ростов-на-Дону).

Несмотря на то, что в ряде субъектов Российской Федерации холерные вибрионы не были изолированы из объектов окружающей среды с 1990 г. и в более поздние сроки, периодическое их обнаружение, в том числе с большим интервалом времени в Республике Бурятия (1994, 1998, 2013 гг.), свидетельствует об эффективности мониторинга контаминации холерными вибрионами объектов окружающей среды, как составляющей эпидемиологического надзора за холерой в стране.

Прогноз по холере в мире остается неблагоприятным на основании сложной эпидемиологической обстановки в странах Карибского бассейна в Америке, в ряде стран Азиатского и Африканского континентов, обусловленной наличием социальных и природных факторов риска, приведших к формиро-

ванию эндемичных очагов, эпидемиям и вспышкам с высокими показателями летальности, распространению холеры, вызванной *V. cholerae* O1 El Tor, в том числе измененными в геноме вариантами штаммов, в мировом пространстве и во времени, исчисляемом годами и десятилетиями.

По мнению экспертов ВОЗ, холера по-прежнему является значимой нерешенной проблемой общественного здравоохранения Гаити и ряда стран Африки. Эффективное предупреждение холеры и борьба с ней требуют возобновленных усилий, направленных на интеграцию междисциплинарных подходов, сочетающих в себе применение новых и традиционных видов вмешательств и методов. В связи с этим ВОЗ инициировала меры по укреплению глобальной координации инициатив по борьбе с холерой и более эффективному обеспечению потребностей стран, подвергающихся высокому риску этой болезни [4].

Прогноз по холере в России на 2014 год – неблагоприятный в плане возможных завозов инфекции. Это диктует необходимость постоянной готовности органов и учреждений Федеральной Службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Министерства здравоохранения Российской Федерации и других ведомств для осуществления мероприятий на случай выявления больного с подозрением на холеру, а также организации и проведения эпидемиологического надзора за холерой как составной части противохолерных мероприятий для своевременного выявления завозных случаев холеры, выделения холерных вибрионов из объектов окружающей среды и предотвращения распространения возбудителя инфекции.

Приносим благодарность Т.В.Ковалёвой – сотруднику лаборатории эпидемиологии ООИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора за помощь при подготовке материалов для статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Кругликов В.Д. Холера в начале XXI в. Прогноз на глобальном уровне. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):11–6.
2. Москвитина Э.А., Мазрухо А.Б., Адаменко О.Л., Арешина О.А., Назаретян А.А., Кругликов В.Д., Иванова С.М., Козина Д.А. Характеристика эпидемиологической обстановки по холере в мире (2003–2012 гг.) и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1(117):11–7.
3. Chin C.S., Sorenson J., Harris J.B., Robins W.P., Charles R.C., Jean-Charles R.R., Bullard J., Webster D.R., Kasarskis A., Peluso P., Paxinos E.E., Yamaichi Y., Calderwood S.B., Mekalanos J.J., Schadt E.E., Waldor M.K. The origin of the Haitian cholera outbreak strain. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364:33–42.
4. Cholera, 2012. *Wkly Epidem. Rec.* 2013; 88(31):321–36.
5. Cholera, diarrhea & dysentery update (04): Americas. [Internet]. 8 Jan 2013 [cited 8 Jan]. Archive number: 201320130109.1489407. Available from: <http://www.promedmail.org>.
6. Cholera, diarrhea & dysentery update (05): Africa. [Internet]. 10 Jan 2013 [cited 10 Jan 2013]. Archive number: 20130120.1507025. Available from: <http://www.promedmail.org>.
7. Cholera, diarrhea & dysentery update (08): Africa, Asia. [Internet]. 31 Jan 2013 [cited 31 Jan 2013]. Archive number: 20130131.1522070. Available from: <http://www.promedmail.org>.
8. Cholera, diarrhea & dysentery update (10): Africa, Americas. [Internet]. 6 Mar 2013 [cited 6 Mar 2013]. Archive number: 20130311.1581527. Available from: <http://www.promedmail.org>.

9. Cholera, diarrhea & dysentery update (11): Africa. [Internet]. 18 Mar 2013 [cited 18 Mar 2013]. Archive number: 20130318.1592213. Available from: <http://www.promedmail.org>.
10. Cholera, diarrhea & dysentery update (12): Haiti. [Internet]. 27 Mar 2013 [cited 27 Mar 2013]. Archive number: 20130327.1606529. Available from: <http://www.promedmail.org>.
11. Cholera, diarrhea & dysentery update (15): Africa, Asia. [Internet]. 6 May 2013 [cited 6 May 2013]. Archive Number: 20130506.1695234. Available from: <http://www.promedmail.org>.
12. Cholera, diarrhea & dysentery update (18): Africa. [Internet]. 29 May 2013 [cited 29 May 2013]. Archive number: 20130529.1744109. Available from: <http://www.promedmail.org>.
13. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (19): Martinique ex HAITI, Haiti. [Internet]. 1 Jun 2013 [cited 1 Jun 2013]. Archive number: 20130603.1753128. Available from: <http://www.promedmail.org>.
14. Cholera, diarrhea & dysentery update (20): Africa, Asia [Internet]. 13 Jun 2013 [cited 13 Jun 2013]. Archive Number: 20130613.1767053 Available from: <http://www.promedmail.org>.
15. Cholera, diarrhea & dysentery update (21): Africa, Asia. [Internet]. 16 Jun 2013 [cited 16 Jun 2013]. Archive number: 20130616.1775297. Available from: <http://www.promedmail.org>.
16. Cholera, diarrhea & dysentery update (23): Africa, Asia. [Internet]. 3 Jun 2013 [cited 3 Jun 2013]. Archive number: 20130703.1801775. Available from: <http://www.promedmail.org>.
17. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (27): Africa, Asia. [Internet]. 17 Jul 2013 [cited 17 Jul 2013]. Archive number: 20130717.1830513. Available from: <http://www.promedmail.org>.
18. Cholera, diarrhea & dysentery update (30): Africa, Asia [Internet]. 6 Aug 2013 [cited 6 Aug 2013]. Archive number: 20130806.1864805. Available from: <http://www.promedmail.org>.
19. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (32): Chile, Venezuela (ex Cuba). [Internet]. 13 Aug 2013 [cited 13 Aug 2013]. Archive number: 20130813.1877405. Available from: <http://www.promedmail.org>.
20. Cholera, diarrhea & dysentery update (33): Afghanistan (Badakhshan). [Internet]. 14 Aug 2013 [cited 14 Aug 2013]. Archive number: 20130814.1879494. Available from: <http://www.promedmail.org>.
21. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (34): Americas, Italy ex Cuba [Internet]. 8 Jan [cited 14 Aug]. Archive number: 20130818.1886948. Available from: <http://www.promedmail.org>.
22. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (36): Americas, EU ex Cuba. [Internet]. 23 Aug 2013 [cited 23 Aug 2013]. Archive number: 20130823.1898160. Available from: <http://www.promedmail.org>.
23. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (40): Italy ex Cuba, Dominican Rep. [Internet]. 31 Aug 2013 [cited 31 Aug 2013]. Archive number: 20130831.1911344. Available from: <http://www.promedmail.org>.
24. Cholera, diarrhea & dysentery update (41): Africa, Asia. [Internet]. 28 Aug 2013 [cited 28 Aug 2013]. Archive number: 20130903.1913649. Available from: <http://www.promedmail.org>.
25. Cholera, diarrhea & dysentery update (44): Dominican Republic (CR, JU). [Internet]. 7 Sep 2013 [cited 7 Sep 2013]. Archive number: 20130907.1929827. Available from: <http://www.promedmail.org>.
26. Cholera, diarrhea & dysentery update (46): Africa. [Internet]. 9 Sep 2013 [cited 9 Sep 2013]. Archive number: 20130911.1937972. Available from: <http://www.promedmail.org>.
27. Cholera, diarrhea & dysentery update (47): Haiti. [Internet]. 14 Sep 2013 [cited 14 Sep 2013]. Archive number: 20130914.1944369. Available from: <http://www.promedmail.org>.
28. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (50): Iran. [Internet]. 28 Sep 2013 [cited 28 Sep 2013]. Archive number: 20130928.1967013. Available from: <http://www.promedmail.org>.
29. Cholera, diarrhea & dysentery update (51): Mexico (DF, HI) cholera suspected. [Internet]. 1 Sep 2013 [cited 1 Sep 2013]. Archive number: 20131001.1977174. Available from: <http://www.promedmail.org>.
30. Cholera, diarrhea & dysentery update (55): Mexico. [Internet]. 14 Oct 2013 [cited 14 Oct 2013]. Archive number: 20131014.1999447. Available from: <http://www.promedmail.org>.
31. Cholera, diarrhea & dysentery update (56): Africa, Asia. [Internet]. 14 Oct 2013 [cited 14 Oct 2013]. Archive number: 20131014.1999439. Available from: <http://www.promedmail.org>.
32. Cholera, diarrhea & dysentery update (59): Africa, Asia. [Internet]. 31 Oct 2013 [cited 31 Oct 2013]. Archive number: 20131031.2022745. Available from: <http://www.promedmail.org>.
33. Cholera, diarrhea & dysentery update (60): Africa. [Internet]. 4 Nov 2013 [cited 4 Nov 2013]. Archive number: 20131104.2036594. Available from: <http://www.promedmail.org>.
34. Cholera, diarrhea & dysentery update (62): Africa. [Internet]. 17 Nov 2013 [cited 17 Nov 2013]. Archive number: 20131117.2060236. Available from: <http://www.promedmail.org>.
35. Cholera, diarrhea & dysentery update (65): Africa. [Internet]. 30 Nov 2013 [cited 30 Nov 2013]. Archive number: 20131130.2083507. Available from: <http://www.promedmail.org>.
36. Cholera, diarrhea & dysentery update (66): [Internet]. 25 Dec 2013 [cited 25 Dec 2013]. Americas Archive number: 20131207.2097352. Available from: <http://www.promedmail.org>.
37. Cholera, diarrhea & dysentery update (67): Africa. [Internet]. 8 Dec 2013 [cited 8 Dec 2013]. Archive number: 20131208.2098501. Available from: <http://www.promedmail.org>.
38. Dolores J., Satchell K.J. Analysis of *Vibrio cholerae* genome sequences reveals unique rtxA variants in environmental strains and an rtxA-null mutation in recent altered El Tor isolates. *mBio*. 2013; 4(2):e00624–12.
39. Grad Y.H., Waldor M.K. Deciphering the origins and tracking the evolution of cholera epidemics with whole-genome-based molecular epidemiology. *mBio*. 2013; 4(5):e00670–13.
40. Hasan N.A., Choi S.Y., Eppinger M., Clark P.W., Chen A., Alam M., Haley B.J., Taviani E., Hine E., Su Q., Tallon L.J., Prosper J.B., Furth K., Hoq M.M., Li H., Fraser-Liggett C.M., Cravioto A., Huq A., Ravel J., Cebula T.A., Colwell R.R. Genomic diversity of 2010 Haitian cholera outbreak strains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012; 109:E2010–7.
41. Hendriksen R.S., Price L.B., Schupp J.M., Gillece J.D., Kaas R.S., Engelthaler D.M., Bortolaia V., Pearson T., Waters A.E., Upadhyay B.P., Shrestha S.D., Adhikari S., Shakya G., Keim P.S., Aarestrup F.M. Population genetics of *Vibrio cholerae* from Nepal in 2010: evidence on the origin of the Haitian outbreak. *mBio*. 2011; 2(4):e00157–11.
42. <http://mspp.gouv.ht/site/index.php>. Ministere de la Sante Publique et de la Population (MSPP). RAPPORT DE CAS. Republique D Haiti. Rapport journalier MSP du 31 Decembre 2013.
43. Katz L.S., Petkau A., Beaulaurier J., Tyler S., Antonova E.S., Turnsek M.A., Guo Y., Wang S., Paxinos E.E., Orata F., Gladney L.M., Stroika S., Folster J.P., Rowe L., Freeman M.M., Knox N., Frace M., Boncy J., Graham M., Hammer B.K., Boucher Y., Bashir A., Hanage W.P., Van Domselaar G., Tarr C.L. Evolutionary dynamics of *Vibrio cholerae* O1 following a single-source introduction to Haiti. *mBio*. 2013; 4(4):e00398–13.
44. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477:462–5.
45. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J., Svennerholm A.M., Safa A., Bhuiyan N.A., Ahmad Q.S., Faruque S.M., Faruque A.S., Takeda Y., Sack D.A. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44:4211–3.
46. Reimer A.R., Van Domselaar G., Stroika S., Walker M., Kent H., Tarr C., Talkington D., Rowe L., Olsen-Rasmussen M., Frace M., Sammons S., Dahourou G.A., Boncy J., Smith A.M., Mabon P., Petkau A., Graham M., Gilmour M.W., Gerner-Smidt P. Comparative genomics of *Vibrio cholerae* from Haiti, Asia, and Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(11):2113–21.
47. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18:46–54.
48. Siddique A.K., Nair G.B., Alam M., Sack D.A., Huq A., Nizam A., Longini I.M. Jr., Qadri F., Faruque S.M., Colwell R.R., Ahmed S., Iqbal A., Bhuiyan N.A., Sack R.B. El Tor cholera with severe disease: a new threat to Asia and beyond. *Epidemiol. Infect.* 2010; 138:347–52.
49. Zhang P., Zhou H., Kan B., Wang D. Novel ctxB variants of *Vibrio cholerae* O1 isolates, China. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 20:48–53.

References

1. Moskvitina E.A., Mazrukho A.B., Adamenko O.L., Kruglikov V.D. [Cholera in the early XXI century: Global prognosis]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):11–6.
2. Moskvitina E.A., Mazrukho A.B., Adamenko O.L., Areshina O.A., Nazaretyan A.A., Kruglikov V.D., Ivanova S.M., Kozina D.A. [Characteristics of the epidemiological situation on cholera the world over (2003–2012) and prognosis for 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1(117):11–7.
3. Chin C.S., Sorenson J., Harris J.B., Robins W.P., Charles R.C., Jean-Charles R.R., Bullard J., Webster D.R., Kasarskis A., Peluso P., Paxinos E.E., Yamaichi Y., Calderwood S.B., Mekalanos J.J., Schadt E.E., Waldor M.K. The origin of the Haitian cholera outbreak strain. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364:33–42.
4. Cholera, 2012. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2013; 88(31):321–36.
5. Cholera, diarrhea & dysentery update (04): Americas. [Internet]. 8 Jan 2013 [cited 8 Jan]. Archive number: 201320130109.1489407. Available from: <http://www.promedmail.org>.
6. Cholera, diarrhea & dysentery update (05): Africa. [Internet]. 10 Jan 2013 [cited 10 Jan 2013]. Archive number: 20130120.1507025. Available from: <http://www.promedmail.org>.
7. Cholera, diarrhea & dysentery update (08): Africa, Asia. [Internet]. 31 Jan 2013 [cited 31 Jan 2013]. Archive number: 20130131.1522070. Available from: <http://www.promedmail.org>.
8. Cholera, diarrhea & dysentery update (10): Africa, Americas. [Internet]. 6 Mar 2013 [cited 6 Mar 2013]. Archive number: 20130311.1581527. Available from: <http://www.promedmail.org>.
9. Cholera, diarrhea & dysentery update (11): Africa. [Internet]. 18 Mar

- 2013 [cited 18 Mar 2013]. Archive number: 20130318.1592213. Available from: <http://www.promedmail.org>.
10. Cholera, diarrhea & dysentery update (12): Haiti. [Internet]. 27 Mar 2013 [cited 27 Mar 2013]. Archive number: 20130327.1606529. Available from: <http://www.promedmail.org>.
11. Cholera, diarrhea & dysentery update (15): Africa, Asia. [Internet]. 6 May 2013 [cited 6 May 2013]. Archive Number: 20130506.1695234. Available from: <http://www.promedmail.org>.
12. Cholera, diarrhea & dysentery update (18): Africa. [Internet]. 29 May 2013 [cited 29 May 2013]. Archive number: 20130529.1744109. Available from: <http://www.promedmail.org>.
13. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (19): Martinique ex HAITI, Haiti. [Internet]. 1 Jun 2013 [cited 1 Jun 2013]. Archive number: 20130603.1753128. Available from: <http://www.promedmail.org>.
14. Cholera, diarrhea & dysentery update (20): Africa, Asia [Internet]. 13 Jun 2013 [cited 13 Jun 2013]. Archive Number: 20130613.1767053. Available from: <http://www.promedmail.org>.
15. Cholera, diarrhea & dysentery update (21): Africa, Asia. [Internet]. 16 Jun 2013 [cited 16 Jun 2013]. Archive number: 20130616.1775297. Available from: <http://www.promedmail.org>.
16. Cholera, diarrhea & dysentery update (23): Africa, Asia. [Internet]. 3 Jun 2013 [cited 3 Jun 2013]. Archive number: 20130703.1801775. Available from: <http://www.promedmail.org>.
17. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (27): Africa, Asia. [Internet]. 17 Jul 2013 [cited 17 Jul 2013]. Archive number: 20130717.1830513. Available from: <http://www.promedmail.org>.
18. Cholera, diarrhea & dysentery update (30): Africa, Asia [Internet]. 6 Aug 2013 [cited 6 Aug 2013]. Archive number: 20130806.1864805. Available from: <http://www.promedmail.org>.
19. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (32): Chile, Venezuela (ex Cuba). [Internet]. 13 Aug 2013 [cited 13 Aug 2013]. Archive number: 20130813.1877405. Available from: <http://www.promedmail.org>.
20. Cholera, diarrhea & dysentery update (33): Afghanistan (Badakhshan). [Internet]. 14 Aug 2013 [cited 14 Aug 2013]. Archive number: 20130814.1879494. Available from: <http://www.promedmail.org>.
21. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (34): Americas, Italy ex Cuba [Internet]. 8 Jan [cited 14 Aug]. Archive number: 20130818.1886948. Available from: <http://www.promedmail.org>.
22. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (36): Americas, EU ex Cuba. [Internet]. 23 Aug 2013 [cited 23 Aug 2013]. Archive number: 20130823.1898160. Available from: <http://www.promedmail.org>.
23. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (40): Italy ex Cuba, Dominican Rep. [Internet]. 31 Aug 2013 [cited 31 Aug 2013]. Archive number: 20130831.1911344. Available from: <http://www.promedmail.org>.
24. Cholera, diarrhea & dysentery update (41): Africa, Asia. [Internet]. 28 Aug 2013 [cited 28 Aug 2013]. Archive number: 20130903.1913649. Available from: <http://www.promedmail.org>.
25. Cholera, diarrhea & dysentery update (44): Dominican Republic (CR, JU). [Internet]. 7 Sep 2013 [cited 7 Sep 2013]. Archive number: 20130907.1929827. Available from: <http://www.promedmail.org>.
26. Cholera, diarrhea & dysentery update (46): Africa. [Internet]. 9 Sep 2013 [cited 9 Sep 2013]. Archive number: 20130911.1937972. Available from: <http://www.promedmail.org>.
27. Cholera, diarrhea & dysentery update (47): Haiti. [Internet]. 14 Sep 2013 [cited 14 Sep 2013]. Archive number: 20130914.1944369. Available from: <http://www.promedmail.org>.
28. Cholera, diarrhea & dysentery update 2013 (50): Iran. [Internet]. 28 Sep 2013 [cited 28 Sep 2013]. Archive number: 20130928.1967013. Available from: <http://www.promedmail.org>.
29. Cholera, diarrhea & dysentery update (51): Mexico (DF, HI) cholera suspected. [Internet]. 1 Sep 2013 [cited 1 Sep 2013]. Archive number: 20131001.1977174. Available from: <http://www.promedmail.org>.
30. Cholera, diarrhea & dysentery update (55): Mexico. [Internet]. 14 Oct 2013 [cited 14 Oct 2013]. Archive number: 20131014.1999447. Available from: <http://www.promedmail.org>.
31. Cholera, diarrhea & dysentery update (56): Africa, Asia. [Internet]. 14 Oct 2013 [cited 14 Oct 2013]. Archive number: 20131014.1999439. Available from: <http://www.promedmail.org>.
32. Cholera, diarrhea & dysentery update (59): Africa, Asia. [Internet]. 31 Oct 2013 [cited 31 Oct 2013]. Archive number: 20131031.2022745. Available from: <http://www.promedmail.org>.
33. Cholera, diarrhea & dysentery update (60): Africa. [Internet]. 4 Nov 2013 [cited 4 Nov 2013]. Archive number: 20131104.2036594. Available from: <http://www.promedmail.org>.
34. Cholera, diarrhea & dysentery update (62): Africa. [Internet]. 17 Nov 2013 [cited 17 Nov 2013]. Archive number: 20131117.2060236. Available from: <http://www.promedmail.org>.
35. Cholera, diarrhea & dysentery update (65): Africa. [Internet]. 30 Nov 2013 [cited 30 Nov 2013]. Archive number: 20131130.2083507. Available from: <http://www.promedmail.org>.
36. Cholera, diarrhea & dysentery update (66): [Internet]. 25 Dec 2013 [cited 25 Dec 2013]. Americas Archive number: 20131207.2097352. Available from: <http://www.promedmail.org>.
37. Cholera, diarrhea & dysentery update (67): Africa. [Internet]. 8 Dec 2013 [cited 8 Dec 2013]. Archive number: 20131208.2098501. Available from: <http://www.promedmail.org>.
38. Dolores J., Satchell K.J. Analysis of *Vibrio cholerae* genome sequences reveals unique rtxA variants in environmental strains and an rtxA-null mutation in recent altered El Tor isolates. *mBio*. 2013; 4(2):e00624–12.
39. Grad Y.H., Waldor M.K. Deciphering the origins and tracking the evolution of cholera epidemics with whole-genome-based molecular epidemiology. *mBio*. 2013; 4(5):e00670–13.
40. Hasan N.A., Choi S.Y., Eppinger M., Clark P.W., Chen A., Alam M., Haley B.J., Taviani E., Hine E., Su Q., Tallon L.J., Prosper J.B., Furth K., Hoq M.M., Li H., Fraser-Liggett C.M., Cravioto A., Huq A., Ravel J., Cebula T.A., Colwell R.R. Genomic diversity of 2010 Haitian cholera outbreak strains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012; 109:E2010–7.
41. Hendriksen R.S., Price L.B., Schupp J.M., Gillette J.D., Kaas R.S., Engelthaler D.M., Bortolaia V., Pearson T., Waters A.E., Upadhyay B.P., Shrestha S.D., Adhikari S., Shakya G., Keim P.S., Aarestrup F.M. Population genetics of *Vibrio cholerae* from Nepal in 2010: evidence on the origin of the Haitian outbreak. *mBio*. 2011; 2(4):e00157–11.
42. <http://mssp.gouv.ht/site/index.php>. Ministere de la Sante Publique et de la Population (MSP). RAPPORT DE CAS. Republique D Haiti. Rapport journalier MSSP du 31 Decembre 2013.
43. Katz L.S., Petkau A., Beaulaurier J., Tyler S., Antonova E.S., Turnsek M.A., Guo Y., Wang S., Paxinos E.E., Orata F., Gladney L.M., Stroika S., Folster J.P., Rowe L., Freeman M.M., Knox N., Frace M., Boney J., Graham M., Hammer B.K., Boucher Y., Bashir A., Hanage W.P., Van Domselaar G., Tarr C.L. Evolutionary dynamics of *Vibrio cholerae* O1 following a single-source introduction to Haiti. *mBio*. 2013; 4(4):e00398–13.
44. Muttreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477:462–5.
45. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J., Svennerholm A.M., Safa A., Bhuiyan N.A., Ahmad Q.S., Faruque S.M., Faruque A.S., Takeda Y., Sack D.A. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44:4211–3.
46. Reimer A.R., Van Domselaar G., Stroika S., Walker M., Kent H., Tarr C., Talkington D., Rowe L., Olsen-Rasmussen M., Frace M., Sammons S., Dahourou G.A., Boney J., Smith A.M., Mabon P., Petkau A., Graham M., Gilmour M.W., Gerner-Smidt P. Comparative genomics of *Vibrio cholerae* from Haiti, Asia, and Africa. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17(11):2113–21.
47. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18:46–54.
48. Siddique A.K., Nair G.B., Alam M., Sack D.A., Huq A., Nizam A., Longini I.M. Jr., Qadri F., Faruque S.M., Colwell R.R., Ahmed S., Iqbal A., Bhuiyan N.A., Sack R.B. El Tor cholera with severe disease: a new threat to Asia and beyond. *Epidemiol. Infect.* 2010; 138:347–52.
49. Zhang P., Zhou H., Kan B., Wang D. Novel ctxB variants of *Vibrio cholerae* O1 isolates, China. *Infect. Genet. Evol.* 2013; 20:48–53.

Authors:

Moskvitina E.A., Adamenko O.L., Dvortsova I.V., Kruglikov V.D., Kozina D.A. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru
Ivanova S.M. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nln.ru

Об авторах:

Москвитина Э.А., Адаменко О.Л., Дворцова И.В., Кругликов В.Д., Козина Д.А. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru
Иванова С.М. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nln.ru

Поступила 16.01.14.

**А.Г.Рязанова, Е.И.Еременко, Н.П.Буравцева, Л.Ю.Аксенова, О.И.Цыганкова, Е.А.Котенева,
Т.М.Головинская, В.В.Воропаев, О.В.Плужникова, А.Н.Куличенко**

ОБЗОР СИТУАЦИИ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ В 2013 г., ПРОГНОЗ НА 2014 г.

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

Проведен анализ эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по сибирской язве в Российской Федерации и в мире в 2013 г., представлен прогноз заболеваемости на 2014 г. Отмечено снижение заболеваемости людей сибирской язвой в России (2 случая в 2013 г. по сравнению с 12 – в 2012 г.). Выявлено 3 случая сибирской язвы у крупного рогатого скота.

Ключевые слова: сибирская язва, возбудитель сибирской язвы, вспышка, заболеваемость.

**A.G.Ryazanova, E.I.Eremenko, N.P.Buravtseva, L.U.Aksenova, O.I.Tsygankova, E.A.Koteneva,
T.M.Golovinskaya, V.V.Voropaev, O.V.Pluzhnikova, A.N.Kulichenko**

The Review of Anthrax Situation 2013, the Forecast for 2014

Stavropol Anti-Plague Research Institute, Stavropol, Russian Federation

The analysis of epidemiological and epizootiological situation on anthrax in the Russian Federation and in the world in 2013 is carried out. The forecast of disease for 2014 is presented. Anthrax morbidity in humans in Russia is shown to decrease in 2013 in comparison with that in 2012 (2 cases versus 12). Three anthrax cases are registered in cattle.

Key words: anthrax, causative agent of anthrax, outbreak, morbidity.

Заболеваемость людей в Российской Федерации. В 2013 г. в Российской Федерации зарегистрировано 2 случая сибирской язвы у людей, что на 10 случаев меньше по сравнению с 2012 г. Случаи заболевания зафиксированы в одном субъекте Северо-Кавказского федерального округа.

Заражение сибирской язвой двух лиц в июне в Солнечнодольске Изобильненского района Ставропольского края произошло в процессе вынужденного убоя овцы и разделки туши без ветеринарного освидетельствования. Для проведения стационарного лечения больные были доставлены в инфекционное отделение ГБУЗ Ставропольского края «Изобильненская центральная районная больница» и ГБУЗ «Краевая клиническая инфекционная больница» Ставрополя. Диагноз кожной формы сибирской язвы, поставленный на основании эпидемиологического анамнеза и клинической картины, был подтвержден выделением культур возбудителя сибирской язвы из клинического материала пациентов в Референс-центре по мониторингу за возбудителем сибирской язвы Ставропольского противочумного института, где также были выделены культуры *Bacillus anthracis* из материала от павшей овцы и объектов окружающей среды. Исходом заболевания пациентов явилось выздоровление.

Заболеваемость животных в Российской Федерации. По официальным данным Россельхознадзора, в 2013 г. в Российской Федерации зарегистрировано 3 неблагоприятных по сибирской язве среди сельскохозяйственных животных пункта: один в Курской области (1 голова КРС в I квартале), один в Белгородской области (1 гол. КРС во II квартале), один в Ставропольском крае (4 гол. МРС во II квартале).

Заболеваемость людей в приграничных с Российской Федерацией государствах. Сообщалось

о двух групповых вспышках сибирской язвы, зарегистрированных на территории Армении. В марте у 2 человек, один из которых является жителем Грузии, диагностирована кожная форма сибирской язвы. Оба заболевших перед поездкой в Ереван участвовали в убойе скота в одном из населенных пунктов Грузии. Вторая вспышка была зарегистрирована в октябре, когда свыше 20 человек были госпитализированы с подозрением на заболевание после контакта и употребления мяса павшего КРС, у 10 лиц диагноз кожной формы сибирской язвы был подтвержден.

В свободном доступе имеется информация лишь об одном случае кожной формы сибирской язвы, зарегистрированном в Грузии в 2013 г., хотя в предыдущие годы ситуация по сибирской язве на территории этого государства отличалась высокой степенью неблагополучия: так, в период с 2010 по 2012 год на территории Грузии зарегистрирован 251 случай заболевания людей сибирской язвой.

Зафиксированы случаи сибирской язвы у людей в Кыргызстане (17 госпитализированных, 2 лабораторно подтвержденных случая, 5 отрицательных ответов по результатам лабораторных исследований, в 10 случаях данные о подтверждении/опровержении диагноза отсутствуют), в Таджикистане (8 случаев).

Заболеваемость животных в приграничных с Российской Федерацией государствах. Вспышки сибирской язвы среди сельскохозяйственных животных были отмечены в Грузии (12 вспышек, 13 голов КРС), Азербайджане (1 вспышка, 1 голова КРС), Армении, Кыргызстане, Таджикистане.

Заболеваемость людей в странах дальнего зарубежья. В 2013 г. случаи заболевания людей сибирской язвой имели место в ряде стран дальнего зарубежья.

Заболевания людей сибирской язвой, обусловленные контактом и/или употреблением мяса больного/павшего скота (преимущественно КРС), регистрировались в странах Африки: Зимбабве – 40 случаев; Намибия – 22, из них 20 случаев кожной формы, 2 – кишечной формы с летальными исходами; Замбия – 9; Гана – 4 с летальным исходом (источник – КРС) и неопределенное количество (источник – МРС); Марокко – 1 с летальным исходом; Бенин – 1 случай; в странах Азии: Бангладеш – 240; Индия – 49, из которых 21 (1 летальный случай) – вследствие контакта и употребления недостаточно термически обработанного мяса буйвола и 28 – в связи с контактом и употреблением мяса павших коз; Филиппины – 23 подозрительных случая с кожными проявлениями, расстройствами дыхательной системы и желудочно-кишечного тракта после употребления мяса павшего водяного буйвола; Индонезия – 12 (1 летальный) в виду контакта и употребления мяса больной лошади; в странах Южной Америки: Перу – 2 зарегистрированного случая.

В Европе продолжали регистрироваться случаи инъекционной формы сибирской язвы у наркозависимых лиц, употреблявших героин в виде внутривенных инъекций. В 2013 г. выявлено 2 случая инъекционной формы в Великобритании (в Англии и Шотландии) с летальными исходами.

В Италии зарегистрирован случай кожной формы сибирской язвы у фермера-владельца стада здоровых овец. При проведении расследования было установлено, что в 3 км расположена ферма, на которой зафиксированы случаи заболевания сибирской язвой МРС. Принимая во внимание отсутствие контакта фермера с больным скотом и результаты MLVA15- и SNR-генотипирования, показавшие идентичность генотипов ДНК проб материала от человека и павших на соседней ферме овец, было сделано заключение о трансмиссивном механизме передачи инфекции от больного скота человеку посредством укуса овода. О подобном случае в Италии сообщалось в 2012 г.

Случаи кожной формы сибирской язвы регистрировались в таких европейских странах, как Молдова (4 заболевших, 1 подозрительный случай), Болгария (1), Румыния (2 подозрительных случая).

Заболееваемость животных в странах дальнего зарубежья. Вспышки сибирской язвы преимущественно среди сельскохозяйственных животных регистрировались практически повсеместно.

По-прежнему основным видом в структуре заболеваемости сельскохозяйственных животных являлся КРС. Вспышки среди КРС фиксировались в Африке: Гвинея-Биссау – 9 вспышек (78 голов), Кения – 6 (12), Буркина Фасо – 5 (28), Сенегал – 4 (44), Эритрея – 3 (16), Зимбабве – 2 (сотни голов), Замбия – 1 (количество не известно), Намибия – 1 (10), Бенин – 2 (4), Марокко – 1 (1), Сьерра-Леоне – количество вспышек и павших голов неизвестно; в странах Америки: Аргентина – 12 (56), Гаити – 1 (10), Никарагуа – 1 (2); в Азии: Израиль – 1 (16), Монголия – 4 (4), Бангладеш – количество вспышек и павших голов неизвестно; в Европе: Сербия – 1 (1), Швеция – 1 (1),

Босния и Герцеговина – 1 (1), Черногория – 1 (количество голов не известно); в Австралии зафиксировано 2 вспышки (60 голов КРС).

В ряде стран отмечены вспышки как среди КРС, так и других видов восприимчивых животных: Нигер – 17 вспышек (34 КРС, 33 МРС), Гвинея – 9 (12 КРС, 13 МРС), Гана – 5 (52 КРС, 42 МРС), Лесото – 5 (17 КРС, 1 МРС), Кот-д'Ивуар – 2 (2 КРС, 19 МРС), Танзания – 1 (7 голов, смешанная вспышка, виды не известны), Индия – 13 вспышек (71 КРС, 40 МРС, 1 слон), Сирия – 2 (1 КРС, 4 МРС), США – 5 (10 КРС, 2 антилопы).

Вспышки с вовлечением в эпизоотический процесс МРС зарегистрированы в Болгарии – 1 вспышка (1 голова МРС), в Венгрии – 1 (1), в Италии – количество вспышек и павших голов неизвестно, в Иране – 1 (61), в Ираке – 1 (количество голов неизвестно). Зафиксирована одна вспышка сибирской язвы среди свиней, в период которой пало 4 головы (Бутан).

В 2013 г. в Российской Федерации отмечено снижение заболеваемости сибирской язвой людей по сравнению с предыдущими годами. Причиной инфицирования людей являлось проведение вынужденного убоя заболевшего скота в личном хозяйстве без ветеринарного освидетельствования.

Значительно снизилась заболеваемость людей в Грузии. Трудно сказать, является ли это следствием объективных причин, обусловленных проведением необходимых противоэпидемических и профилактических мероприятий в государстве, или представлением неполной информации о количестве заболевших.

В Великобритании продолжали регистрироваться случаи инъекционной формы сибирской язвы среди героиновых наркоманов. Не исключается возможность оборота контаминированных наркотических средств на территории Российской Федерации.

Продолжала оставаться на высоком уровне заболеваемость сельскохозяйственных животных в Аргентине и ряде стран Африки. Лидирующее место в видовой структуре заболеваемости скота в мире принадлежит крупному рогатому скоту.

Неблагополучная эпизоотологическая ситуация по сибирской язве за рубежом по-прежнему способствует риску импортирования контаминированного сырья и/или изготовленной из него продукции в Российскую Федерацию.

Учитывая среднегодовые показатели заболевания людей за последние годы, для Российской Федерации на 2014 г. прогнозируется от 1 до 20 случаев сибирской язвы.

Authors:

Ryazanova A.G., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Aksenova L.U., Tsygankova O.I., Koteneva E.A., Golovinskaya T.M., Voropaev V.V., Pluzhnikova O.V., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Об авторах:

Рязанова А.Г., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Аксенова Л.Ю., Цыганкова О.И., Котенева Е.А., Головинская Т.М., Ворopaев В.В., Плужникова О.В., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Поступила 13.02.14.

Г.И.Лямкин, С.И.Головнева, А.А.Худолеев, Е.Н.Чеботарева, Л.И.Шакирова, А.Н.Куличенко

ОБЗОР ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ И ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2013 г. И ПРОГНОЗ НА 2014 г.*ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт». Ставрополь, Российская Федерация*

Представлен анализ и проведена оценка эпизоотической и эпидемической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации в 2013 г. Показано, что на фоне напряженной эпизоотической обстановки в Российской Федерации наметилась тенденция к сокращению количества заболевших бруцеллезом людей. Сохраняется высокий уровень заболеваемости среди людей в Северо-Кавказском и Южном федеральных округах, обусловленной циркуляцией возбудителя бруцеллеза вида *B. melitensis*. Результатом реализации комплексной программы по профилактике бруцеллеза в Республике Дагестан явилось существенное снижение заболеваемости впервые выявленным бруцеллезом в республике. В 2014 г. прогнозируется стабилизация количества заболеваний бруцеллезом среди людей и сельскохозяйственных животных на уровне 320–370 случаев.

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

G.I.Lyamkin, S.I.Golovneva, A.A.Khudoleev, E.N.Chebotareva, L.I.Shakirova, A.N.Kulichenko

Survey of Epizootiologic and Epidemiologic Situation on Brucellosis in the Russian Federation in 2013; Prognosis for 2014*Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation*

Carried out is the analysis and assessment of epizootiologic and epidemiologic situation on brucellosis in the Russian Federation over the year 2013. It is demonstrated that on the grounds of tense epizootic situation there is a tendency to reduction in brucellosis morbidity rates among the population. Incidence rates in the North-Caucasian and Southern Federal districts remain high due to *B. melitensis* spp. brucellosis agent circulation. However, realization of a complex of brucellosis prophylactic measures in the territory of the Republic of Dagestan has resulted in a considerable reduction of a number of primary cases in the region. In addition, forecasted is stabilization of brucellosis morbidity rates among the population and farming animals in 2014, being estimated at 320–370 cases a year.

Key words: brucellosis, morbidity rate, epidemic manifestations, epizootic process.

С целью оценки состояния эпизоотической и эпидемической обстановки по бруцеллезу в Российской Федерации в 2013 г. и прогнозирования вероятного развития эпидемической ситуации в 2014 г. проведен анализ официальных статистических данных по бруцеллезу Роспотребнадзора, Россельхознадзора, ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации за 2013 г. [1, 2, 6, 7].

Эпидемическая обстановка по бруцеллезу в Российской Федерации продолжает оставаться неблагоприятной на территории некоторых субъектов страны и определяется наличием заболеваний среди мелкого и крупного рогатого скота, являющихся

основными источниками возбудителя бруцеллеза для людей [3, 4, 5].

В 2013 г. в Российской Федерации зарегистрирован 341 больной бруцеллезом, показатель заболеваемости (далее – ИП) составил 0,24 на 100 тыс. населения, что на 26,7 % меньше, чем в 2012 г. (465 больных, ИП – 0,33). Количество заболевших бруцеллезом детей в возрасте до 17 лет в 2013 г. составило 20 чел. (ИП – 0,08) и по сравнению с 2012 г. (45 чел., ИП – 0,07) снизилось в 2,3 раза (рис. 1). Больные бруцеллезом люди регистрировались на территории 28 субъектов Российской Федерации восьми федеральных округов. Основная часть больных бруцеллезом (95 %) сосредоточена в субъектах Северо-Кавказского (61,8 %), Южного (18,8 %) и Сибирского (12,9 %)

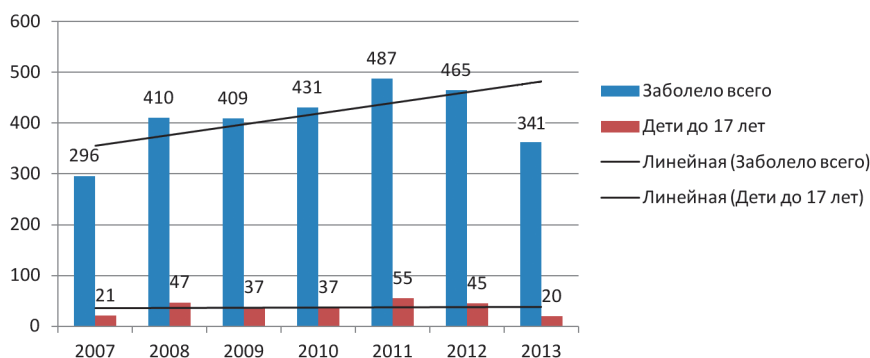


Рис. 1. Количество заболевших бруцеллезом людей в РФ в 2007–2013 гг.

федеральных округов Российской Федерации. В Северо-Кавказском федеральном округе Российской Федерации (СКФО) в 2013 г. бруцеллезом заболело 211 чел. (ИП – 2,33).

В Республике Дагестан зарегистрировано наибольшее число заболеваний бруцеллезом (142 чел., ИП – 4,86), в том числе среди детского населения (13 чел., ИП – 1,46). Заболевшие бруцеллезом дети в Республике Дагестан составили 65 % от общероссийской заболеваемости в этой возрастной группе. Высокий уровень заболеваемости детей обусловлен привлечением их к уходу за сельскохозяйственными животными в индивидуальных хозяйствах и употреблением инфицированных молочных продуктов. От больных людей в Республике Дагестан было изолировано 6 штаммов возбудителя бруцеллеза, которые изучены в Референс-центре по мониторингу за возбудителем бруцеллеза и идентифицированы как *Brucella (B.) melitensis*, I биовар (3 штамма) и *B. melitensis*, III биовар (3 штамма). Высокая заболеваемость людей бруцеллезом свидетельствует о значительном распространении этой инфекции среди сельскохозяйственных животных в республике. Следует констатировать снижение заболеваемости бруцеллезом в республике по сравнению с 2012 г. на 33,6 %, в том числе детей в 2,2 раза, что связано с результатами реализации в 2013 г. целевой программы «Борьба с бруцеллезом людей и сельскохозяйственных животных в Республике Дагестан на 2013–2016 годы». В Ставропольском крае выявлено 63 случая заболеваний людей бруцеллезом (ИП – 2,26). Заболевших бруцеллезом детей не зарегистрировано. В остальных субъектах СКФО регистрировались единичные случаи заболевания бруцеллезом среди взрослого населения (от 1 до 3 случаев), заболевания среди детей не выявлены.

В Южном федеральном округе Российской Федерации (ЮФО) зарегистрировано 64 больных бруцеллезом (ИП – 0,46), среди детей установлено два случая заболевания. Основная часть больных, 61 чел. (95,3 %), выявлена в Республике Калмыкия, Астраханской и Волгоградской областях. В Республике Калмыкия самый высокий в Российской Федерации ИП – 15,29 (заболело 44 чел., в том числе один ребенок). От больных бруцеллезом людей изолировано три культуры возбудителя бруцеллеза, которые изучены и идентифицированы в Референс-центре по мониторингу за возбудителем бруцеллеза как *B. melitensis*, III биовар. В Астраханской области выявлено 6 больных бруцеллезом (ИП – 0,59), в том числе 1 ребенок. В Волгоградской области бруцеллез диагностирован у 11 чел. (ИП – 0,42). Случаев заболевания бруцеллезом среди детей не зарегистрировано. В Ростовской области установлено 3 случая заболеваний бруцеллезом среди взрослого населения.

В Сибирском федеральном округе Российской Федерации (СФО) зарегистрировано 44 случая заболеваний бруцеллезом (ИП – 0,23), в том числе три случая среди детей (ИП – 0,08). На Республику Тыва

и Забайкальский край приходится более 59 % случаев заболеваний среди взрослого населения округа и 100 % случаев среди детей. В остальных субъектах СФО регистрировалось от 1 до 6 случаев заболеваний бруцеллезом среди взрослого населения. В 2013 г. заболеваемость среди взрослого населения округа снизилась на 36,2 %.

В Приволжском федеральном округе Российской Федерации (ПФО) зарегистрировано шесть больных бруцеллезом (ИП – 0,02), случаев заболеваний среди детей нет. В Центральном федеральном округе Российской Федерации (ЦФО) заболевания бруцеллезом установлены у девяти человек (ИП – 0,02), один из которых житель Москвы, пять – Воронежской области, двое – Орловской области, один – Тверской области.

В Дальневосточном федеральном округе Российской Федерации (ДФО) выявлено два больных бруцеллезом (ИП – 0,03) из Амурской области. В Уральском и Северо-Западном федеральных округах (УФО, СЗФО) зарегистрировано соответственно 3 (ИП – 0,02) и 2 (ИП – 0,01) больных бруцеллезом.

Среди заболевших бруцеллезом в Российской Федерации преобладали мужчины (до 70 %) работоспособного возраста (35–55 лет), связанные по роду деятельности с обслуживанием сельскохозяйственных животных (работники молочно-товарных ферм, чабаны, зооветеринарные работники) в сельской местности.

Эпидемические проявления бруцеллеза зависят от степени пораженности бруцеллезной инфекцией эпидемически значимых видов сельскохозяйственных животных – крупного (КРС) и мелкого (МРС) рогатого скота. По данным Росстата по состоянию на декабрь 2013 г. в Российской Федерации численность поголовья КРС в хозяйствах всех сельхозпроизводителей России составила 19,5 млн голов, МРС – 23,8 млн голов. В общем поголовье сельскохозяйственных животных на долю личных подсобных хозяйств населения и фермеров приходится 44,6 % поголовья КРС и 47,3 % поголовья МРС [6].

По данным Россельхознадзора, в Российской Федерации ежегодно регистрируются пункты, неблагополучные по бруцеллезу среди КРС и МРС (рис. 2). В 2013 г. на территории 34 субъектов Российской Федерации было выявлено 262 неблагополучных пункта по бруцеллезу сельскохозяйственных животных, из которых 223 связаны с заболеваниями среди КРС и 39 – среди МРС.

Наибольшее количество неблагополучных по бруцеллезу пунктов, связанных с заболеваниями среди КРС, зарегистрировано в Республике Калмыкия (75), Республике Дагестан (30), Астраханской области (16), Краснодарском крае (11), Республике Северная Осетия-Алания (11), Саратовской области (9), Ставропольском крае (5). По четыре неблагополучных пункта зарегистрировано в Алтайском, Забайкальском краях и Омской области, по три – в Амурской области, Республике Бурятия

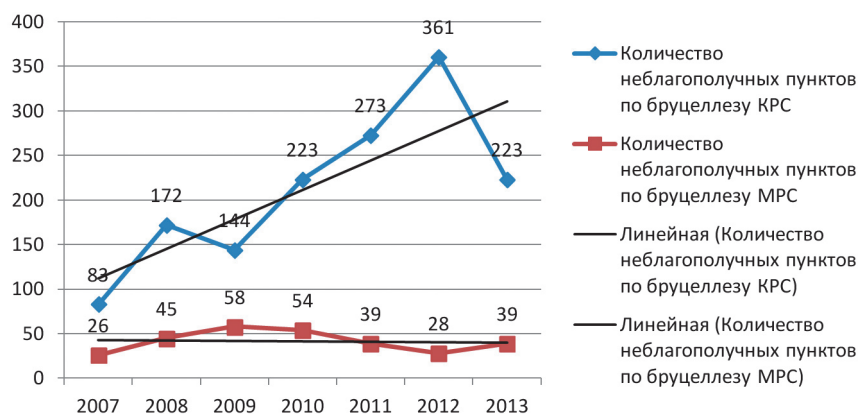


Рис. 2. Динамика регистрации неблагополучных по бруцеллезу КРС и МРС пунктов за период 2007–2013 гг.

и Ростовской области, по 2 – в Новосибирской и Тверской областях, республиках Тыва и Чеченской, по 1 – в Волгоградской, Вологодской, Воронежской, Иркутской, Калужской, Пензенской, Тамбовской, Свердловской областях, Пермском крае, Республике Кабардино-Балкария.

Неблагополучные пункты по бруцеллезу МРС зарегистрированы в республике Дагестан (8 пунктов), в Оренбургской, Саратовской областях, Республике Калмыкия (по 3 пункта), в Красноярском, Краснодарском краях, Ленинградской и Свердловской областях (по 2 пункта), в Алтайском крае, Амурской, Астраханской, Волгоградской, Вологодской, Иркутской, Томской, Тульской областях, Республике Тыва (по 1 пункту).

Наиболее неблагополучными территориями Российской Федерации по бруцеллезу животных являются ЮФО, СКФО и СФО, характеризующиеся интенсивным развитием животноводства, которое сопровождается распространением бруцеллезной инфекции среди КРС и МРС.

Заболевания людей бруцеллезом в 2013 г. регистрировались в некоторых субъектах Российской Федерации, в которых, по данным Россельхознадзора, не регистрировались больные бруцеллезом сельскохозяйственные животные (республики Марий Эл, Башкортостан и Татарстан, Омская область), что свидетельствует об активности скрытых эпизоотических очагов бруцеллеза.

Как и в предыдущие годы, ситуация по бруцеллезу среди сельскохозяйственных животных в стране имеет негативную тенденцию, в том числе за счет бруцеллеза среди МРС, представляющего наибольшую опасность для здоровья населения, ввиду носительства высоковирулентного возбудителя вида *B. melitensis*.

Эпизоотические очаги бруцеллеза сельскохозяйственных животных регистрируются преимущественно в Северо-Кавказском, Южном и Сибирском федеральных округах Российской Федерации, на долю которых приходится до 90 % всех регистрируемых в стране случаев заболеваний бруцеллезом животных. В этих же округах находится около 80 % общероссийского поголовья КРС и МРС, где большая часть МРС (более 80 %) и КРС (около 50 %) содер-

жится в индивидуальных и крестьянско-фермерских хозяйствах.

Основными причинами возникновения и распространения бруцеллезной инфекции среди сельскохозяйственных животных, как и в предыдущие годы, являются несанкционированное приобретение и ввоз больных животных из других регионов без проведения регламентированных противобруцеллезных мероприятий, отсутствие должного контроля со стороны муниципальных органов за перемещением и регистрацией поголовья скота, несвоевременная сдача больных животных на убой, совместный выпас и использование общих мест водопоя животными из благополучных и не благополучных по бруцеллезу хозяйств.

Специфическая иммунопрофилактика людей является индивидуальной мерой защиты и сохраняет свою актуальность при опасности заражения людей возбудителем *B. melitensis*, при условии строгого соблюдения показаний к применению вакцины и тщательного отбора контингентов с использованием наиболее специфичных и чувствительных методов диагностики.

Сравнительная оценка количества вакцинированных людей против бруцеллеза по субъектам Российской Федерации свидетельствует о том, что основное количество вакцинированных (56,1 %) сосредоточено в наиболее неблагополучных по бруцеллезу регионах (ЮФО, СФО). На долю СКФО, ЦФО, ПФО, УФО приходится 43,9 % вакцинированных. Наибольшее количество ревакцинаций проведено в СФО (41,9 %), УФО (20,6 %), ЮФО (20,5 %), ПФО (12,5 %).

Вопрос проведения специфической профилактики бруцеллеза среди угрожаемых контингентов остается по-прежнему актуальным в субъектах с высоким уровнем заболеваемости МРС как у индивидуальных владельцев, так и крестьянско-фермерских хозяйствах.

В рамках работы Референс-центра по мониторингу за возбудителем бруцеллеза проведено типирование 24 штаммов бруцелл, изолированных от больных бруцеллезом людей в Республике Дагестан и Республике Калмыкия в 2012–2013 гг. методом MLVA по 14 VNTR-локусам. В результате типирования все штаммы были сгруппированы в общий кластер, об-

разованный штаммом III биовара вида *B. melitensis*. Штаммы, изолированные в Республике Калмыкия, формировали отдельную подгруппу в пределах общего кластера. Штаммы, выделенные в Республике Дагестан, были объединены в 4 подгруппы, включавшие культуры, изолированные в определенных географических пунктах (Хунзахский район (с. Орта, Левашинский район (с. Арада-Чугли), г. Каспийск, Шамилский район (с. Ассаб)).

Результаты генотипирования позволяют говорить о корреляции между генетическими группами и географическими районами выделения штаммов.

Таким образом, проводимый комплекс организационных и практических противобруцеллезных мероприятий на территории Российской Федерации позволил добиться снижения инфекционной заболеваемости по бруцеллезу.

Прогноз развития эпидемической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации в 2014 г. будет определяться, с одной стороны, сохраняющейся на территории некоторых субъектов СКФО, ЮФО и СФО негативной динамикой эпизоотического процесса среди сельскохозяйственных животных, вследствие неконтролируемого завоза на данные и сопредельные территории большого поголовья КРС и МРС, осуществляющегося с нарушением санитарно-ветеринарных правил. С другой стороны, продолжение реализации в 2014 г. комплексных программ («Борьба с бруцеллезом людей и сельскохозяйственных животных в Республике Дагестан на 2013–2016 годы», «Профилактика, лечение и предупреждение болезней животных на территории Ставропольского края на 2013–2015 годы») и комплексных планов по профилактике и борьбе с бруцеллезом КРС и МРС в неблагополучных по бруцеллезу субъектах СКФО, ЮФО и СФО Российской Федерации позволит замедлить темпы прироста большого поголовья и количество неблагополучных по бруцеллезу пунктов на их территории. Ситуация в этих субъектах существенно влияет на общую эпизоотическую обстановку в Российской Федерации.

На основании изложенного можно прогнозировать стабилизацию заболеваемости людей бруцеллезом в 2014 г. на уровне 320–370 случаев.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бруцеллез животных. ФГУ «Центр ветеринарии» Минсельхоза России (официальный сайт). URL: [http://www.vet-](http://www.vet-center.ru/page5.php)

[center.ru/page5.php](http://www.vet-center.ru/page5.php) (дата обращения 28.02.2014 г.).

2. Инфекционная заболеваемость в Российской Федерации за 2013 г. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (официальный сайт). URL: http://www.rosпотребнадзор.ru/epidemiologic_situation (дата обращения 28.02.2014 г.).

3. Лямкин Г.И., Манин Е.А., Головнева С.И., Тихенко Н.И., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в Российской Федерации в 2012 г. и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1(115):21–4.

4. Лямкин Г.И., Тихенко Н.И., Манин Е.А., Вилинская С.В., Головнева С.И., Русанова Д.В., Куличенко А.Н. Эпизоотолого-эпидемиологическая обстановка по бруцеллезу в Российской Федерации в 2010 г. и прогноз на 2011 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 1(107):20–3.

5. Лямкин Г.И., Тихенко Н.И., Манин Е.А., Русанова Д.В., Головнева С.И., Вилинская С.В., Куличенко А.Н. Об эпидемической ситуации и заболеваемости бруцеллезом в Российской Федерации в 2011 году и прогноз на 2012 год. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):26–9.

6. Производство продуктов животноводства и поголовье скота и птицы. Федеральная служба государственной статистики (официальный сайт). URL: http://www.gks.ru/free_doc/new_site/business/sx/tab-sx-oper.htm (дата обращения 28.02.2014 г.).

7. Эпизоотологическая ситуация. Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (официальный сайт). URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps/iac/rf/disease-russia.html> (дата обращения 28.02.2014 г.).

References

1. [Brucellosis in animals]. Federal State Institution “Veterinary Center” at the Ministry of Agriculture of the Russian Federation (official site) [cited 28 Feb 2014]. Available from: <http://www.vet-center.ru/page5.php>.

2. [Infectious disease incidence in the territory of the Russian Federation over the period of 2013]. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare (official site) [cited 28.02.2014]. Available from: http://www.rosпотребнадзор.ru/epidemiologic_situation.

3. Lyamkin G.I., Manin E.A., Golovneva S.I., Tikhenco N.I., Kulichenko A.N. [Epidemiologic situation on brucellosis in the Russian Federation in 2012 and prognosis for 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1(115):21–4.

4. Lyamkin G.I., Tikhenco N.I., Manin E.A., Vilinskaya S.V., Golovneva S.I., Rusanova D.V., Kulichenko A.N. [Epizootiological and epidemiological situation on brucellosis in the Russian Federation in 2010 and prognosis for 2011]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 1(107):20–3.

5. Lyamkin G.I., Tikhenco N.I., Manin E.A., Rusanova D.V., Golovneva S.I., Vilinskaya S.V., Kulichenko A.N. [Brucellosis epidemiological situation and its morbidity in the Russian Federation in 2011, and prognosis for 2012]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):26–9.

6. [Manufacturing of livestock farming products and cattle and poultry stock]. Federal Service for National Statistics (official site) [cited 28.02.2014]. Available from: http://www.gks.ru/free_doc/new_site/business/sx/tab-sx-oper.htm.

7. [Epizootiological situation]. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Veterinary and Phyto-Sanitary (official site) [cited 28.02.2014]. Available from: <http://www.fsvps.ru/fsvps/iac/rf/disease-russia.html>.

Authors:

Lyamkin G.I., Golovneva S.I., Khudoleev A.A., Chebotareva E.N., Shakirova L.I., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Об авторах:

Лямкин Г.И., Головнева С.И., Худолеев А.А., Чеботарева Е.Н., Шакирова Л.И., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Поступила 07.04.14.

Е.В.Путинцева¹, В.А.Антонов¹, В.П.Смелянский¹, Н.Д.Пакскина², О.Н.Скударева², Д.В.Викторов¹,
Г.А.Ткаченко¹, В.А.Пак¹, К.В.Жуков¹, М.В.Монастырский³, Н.В.Бородай¹, В.В.Мананков¹,
Н.И.Погасий¹, И.М.Шпак¹, С.С.Савченко¹, Л.В.Лемасова¹, О.С.Бондарева¹, Т.В.Замарина¹,
И.А.Баркова¹

ОСОБЕННОСТИ ЭПИДЕМИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО ЛИХОРАДКЕ ЗАПАДНОГО НИЛА В 2013 г. В МИРЕ И НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И ПРОГНОЗ ЕЕ РАЗВИТИЯ В 2014 г.

¹ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация; ²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация; ³ФБУН «Научно-исследовательский институт дезинфектологии», Москва, Российская Федерация

Эпидемическая ситуация по лихорадке Западного Нила в странах Европы в 2013 г. характеризовалась заметным подъемом заболеваемости, обусловленным, прежде всего, вспышкой ЛЗН в Сербии (302 случая). На североамериканском континенте – в США и Канаде, проявления ЛЗН в 2013 г. характеризовались более низкой интенсивностью, чем в предыдущем эпидемическом сезоне. В 2013 г. в России всего зарегистрировано 192 случая заболевания населения в 16 субъектах РФ, что значительно ниже предыдущего года (2012 г. – 455 случаев). Установлено, что в эпидемический сезон 2013 г. на территории Волгоградской и Саратовской областей циркулировал 2-й генотип ВЗН, как и в Сербии, Греции, Италии, а в Астраханской области – генотип 1. За период наблюдения за эпидемической ситуацией на территории Российской Федерации в 1999–2013 гг., маркеры вируса ЗН выявлены в 61 субъекте РФ, что подтверждает потенциальную опасность инфицирования населения ЛЗН в эпидемический сезон на большей части территории страны. По данным Росгидромета, климатические условия на территории России в ближайшие 5–10 лет будут сохранять тенденцию к потеплению, что будет способствовать дальнейшему распространению ЛЗН на более северные территории.

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила, вирус Западного Нила, эпидемическая ситуация.

E.V.Putintseva¹, V.A.Antonov¹, V.P.Smelyanskiy¹, N.D.Pakskina², O.N.Skudareva², D.V.Viktorov¹,
G.A.Tkachenko¹, V.A.Pak¹, K.V.Zhukov¹, M.V.Monastirskiy³, N.V.Boroday¹, V.V.Manankov¹, N.I.Pogasiy¹,
I.M.Shpak¹, S.S.Savchenko¹, L.V.Lemasova¹, O.S.Bondareva¹, T.V.Zamarina¹, I.A.Barkova¹

The Features of West Nile Fever Epidemiological Situation in the World and Russia in 2013 and Prognosis of Its Development in 2014

¹Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation; ²Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russian Federation; ³Research Institute of Disinfectology, Moscow, Russian Federation

Epidemiological situation on West Nile Fever (WNF) in Europe in 2013 was characterized by a notable rise of morbidity rate primarily due to the outbreak of WNF in Serbia (302 cases registered). In the North America, in the United States and Canada, WNF manifestations in 2013 were characterized by the lower intensity compared to previous epidemic season. 192 cases were registered in 16 constituent entities of the Russian Federation in 2013. It was revealed, that genotype 2 West Nile Virus (WNV) circulated in the territory of the Volgograd and Saratov regions, the same as in Serbia, Greece and Italy, and genotype 1 WNV in the Astrakhan region. According to the data obtained from the Reference Center for monitoring over WNV pathogen, WNV markers were detected in the territory of 61 constituent entities of the Russian Federation throughout the period of observation in 1999–2013 which testified to the existence of potential risk of human exposure during epidemic season in most of the parts of country. According to Federal Service for Hydrometeorology and Environmental Monitoring forecast, climatic conditions in Russia for the next 5–10 years will stick to global warming trend which will contribute to further spread of WNV onto the northern areas.

Key words: West Nile fever, West Nile virus, epidemic situation.

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН) – природно-очаговая арбовирусная инфекция с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя широко распространена по всему миру.

По данным Европейского центра по профилактике и контролю за заболеваниями (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC), в 2013 г. интенсивность эпидемического процесса по ЛЗН в странах Европы в целом была выше, чем в 2012 г. К началу ноября 2013 г. было зарегистрировано 606 случаев заболевания (в 2012 г. – 452), в том числе в

странах Европейского Союза (ЕС) – 226 (в Хорватии – 16, Греции – 86, Венгрии – 31, Италии – 69, Румынии – 24), сопредельных странах – 380 (Боснии и Герцеговине – 3, Македонии – 1, Черногории – 4, Сербии – 302, Украине – 1, Израиле – 63, Тунисе – 6). В сезон 2013 г. доля нейроинвазивных форм болезни составила 2,5 %, а летальность – 0,7 % (в 2012 г. – 3,8 %). Подъем заболеваемости ЛЗН в сезон 2013 г. обусловлен, в основном, вспышкой в Сербии (302 случая – 49,8 % от всей заболеваемости, в 2012 г. – 71 случай). Особенности эпидемической ситуации

Количество зарегистрированных случаев заболевания ЛЗН в субъектах Российской Федерации в 2013 г.

Наименование субъекта: области, края, республики	Регистрация случаев заболевания по месяцам 2013 г.										Всего в 2013 г.
	январь	февраль	март	апрель	май	июнь	июль	август	сентябрь	октябрь	
Астраханская						1	20	42	7		70
Белгородская					1	1					2
Волгоградская						1	15	30	3		49
Воронежская							1	4	1		6
Калужская							1		1		2
Липецкая						1	1		2		4
Москва							1				1
Новосибирская	1				1						2
Омская							1				1
Оренбургская								1			1
Пензенская								1			1
Ростовская							4	4	2		10
Республика Карелия							1				1
Самарская				1	3	2	2	1			9
Саратовская							8	19	3	1	31
Челябинская	1										1
<i>Итого</i>	2	0	0	1	5	6	55	102	19	1	191

по ЛЗН в Сербии, в отличие от других территорий Европы, явились выраженное преобладание нейрoинвазивных форм болезни (96 % всех выявленных случаев) и высокая летальность – 11,7 % [10, 11].

На североамериканском континенте эпидемическая ситуация по ЛЗН складывалась несколько иначе. Так, в США, по данным Центра по контролю и профилактике заболеваний (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), в 2013 г. (на 09.11.2013 г.) было зарегистрировано 2374 случая заболевания населения ЛЗН, что в 2,4 раза меньше, чем в 2012 г. (5674 случая), при этом летальным исходом закончилось 4,0 % заболеваний (в 2012 г. – 5,0 %). Доля нейрoинвазивных форм ЛЗН составила 51 % от всех выявленных случаев (в 2012 г. – 50,6 %) [12], что характерно для последних 10 лет наблюдений.

Сходная ситуация наблюдалась и в Канаде, где в сезон 2013 г., по данным Агентства общественного здравоохранения (Public Health Agency of Canada, PHAC), было выявлено в 4 раза меньше случаев заболевания ЛЗН, чем в сезон 2012 г. (2013 г. – 108, в 2012 г. – 428). Нейрoинвазивные формы болезни составили 42,0 % (в 2012 г. – 43,2 %), летальность – 3,6 % (2012 г. – 2,65) [13].

На территории РФ эпидемическая ситуация в 2013 г. также характеризовалась более низкой интенсивностью, чем в предыдущий сезон. Всего был зарегистрирован 191 случай заболевания населения лихорадкой Западного Нила (в 2012 г. – 455) в 16 субъектах РФ (в 2012 г. – в 21, за период 1997–2011 гг. – в 10 субъектах). Сведения о числе зарегистрированных случаев ЛЗН в субъектах РФ приведены в таблице.

В 2013 г. впервые лихорадка Западного Нила зарегистрирована в Пензенской, Оренбургской, Калужской областях и республике Карелия, где зарегистрировано 4 завозных случая среди местных жителей (с заражением на очаговых территориях РФ) и 1 случай

заражения жителя Калужской области на собственной территории. Приведенные данные подтверждают продолжающееся распространение эпидемического процесса ЛЗН на более северные территории.

Следует отметить возросшую в 2013 г. частоту завозов ЛЗН из одних очагов России в другие. Так, завозные случаи были зарегистрированы: в Волгоградской области (из Астраханской – 1), Астраханской (из Краснодарского края – 1), Ростовской (из Саратовской – 1), Белгородской (из Курской – 1), Самарской (из Волгоградской – 2, Астраханской – 1), Саратовской (из Московской области, Солнечногорска – 1, Воронежской – 1), Москве (из Астраханской области – 1). По данным эпидемиологического расследования Центра гигиены и эпидемиологии в Саратовской области, на территории Саратова был зарегистрирован случай заболевания ЛЗН с заражением в Московской области, однако информация о наличии риска заражения на этой территории отсутствует. В эпидемический сезон 2013 г. заражение ЛЗН жителей России в зарубежных странах было зарегистрировано в Астраханской и Волгоградской областях (завоз из Украины, п-ов Крым), а также в Новосибирской и Челябинской областях (завоз из Таиланда).

Эпидемический процесс лихорадки Западного Нила в 2013 г. в Российской Федерации характеризовался снижением общего количества случаев заболевания почти в 2,4 раза (с 455 в 2012 г. до 191 случая в 2013 г.), в основном за счет меньшей интенсивности эпидемического процесса в очагах Волгоградской, Ростовской, Воронежской и Липецкой областей, а также меньшего числа субъектов РФ, в которых реализовался эпидемический процесс (с 21 в 2012 г. до 16 в 2013 г.). Интенсивность проявлений ЛЗН заметно возросла в Саратовской области (31 случай в 2013 г., 19 – в 2012 г.) и практически не изменилась

в природном очаге Астраханской области (70 – в 2013 г. и 72 – в 2012 г.) и очаге Самарской области (6 – в 2012 г. и 9 – в 2013 г.).

Длительность эпидемического сезона 2013 г. соответствовала среднесезонным показателям. Последний случай заболевания был зарегистрирован в октябре (как и в 2012 г.). Первые случаи заболевания, как и в предыдущий сезон, зарегистрированы в мае. Наряду с этим, наблюдалось смещение пика заболеваемости населения на июль–август (82,9 % заболевших), тогда как в сезон 2012 г. пик заболеваемости был зафиксирован в августе–сентябре (83,4 %).

Очевидно, что данным проявлением эпидемического процесса способствовали климатические особенности весеннего и летнего периодов 2013 г. Практически на всей территории России весна и лето были значительно более прохладными и короткими; осеннее похолодание на большей части территории страны наступило раньше, чем в 2012 г. В северных и восточных регионах России среднесезонные показатели численности кровососущих членистоногих не превышали или незначительно превышали среднесезонные показатели, а в регионах средней полосы России, Поволжья и юга России среднесезонные показатели численности комаров рр. *Culex* и *Anopheles* были ниже среднесезонных. Так, среднесезонный показатель численности (ССП) комаров р. *Culex* в Омске составил в 2013 г. 7,7 экз. за 20 мин, а среднесезонный СПП – 6,7; в Хабаровске в 2013 г. СПП – 4,9, среднесезонный – 4,6; в Приморском крае (в городских биотопах) СПП 2013 г. – 0,7, среднесезонный – 0,7; в Воронеже СПП 2013 г. – 0,9, среднесезонный – 1,0; в Волгограде СПП 2013 г. – 1,0, среднесезонный – 6,5; в Пензе СПП 2013 г. – 17, среднесезонный – 20,2.

В эпидемический сезон 2013 г. наметилась тенденция в изменении тактики диагностики ЛЗН в лечебно-профилактических учреждениях регионов России (особенно на территории «старых очагов»), выразившаяся в проведении лабораторных исследований на ЛЗН преимущественно пациентам с более тяжелыми проявлениями болезни. Данное обстоятельство закономерно привело к уменьшению выявления легких форм заболевания и увеличению доли больных со среднетяжелыми формами ЛЗН. Так, в 2013 г. в среднем по России доля больных с легкими формами ЛЗН составила 14 %, а в 2012 г. – 20 %, в т.ч. в Волгоградской области 16 % (2012 г. – 23 %), Воронежской – 33 % (2012 г. – 55 %), Липецкой – 0 (2012 г. – 77 %).

Нейроинвазивные формы ЛЗН в 2013 г. составили 18,5 % от общего числа зарегистрированных случаев (в 2012 г. – 17,2 %). Летальность от ЛЗН по России составила 1,5 % (в 2012 г. – 1 %) и зарегистрирована, как и в прежние годы, в наиболее уязвимой группе населения с ослабленным иммунитетом: в Астраханской области – 2 случая (больные старше 60 и 70 лет), Волгоградской – 1 (больной старше 80 лет).

Наметившаяся с 2010 г. тенденция роста выявления заболевших ЛЗН сельских жителей (и увеличения их доли в общей структуре заболеваемости) сохранилась и в 2013 г. [1, 2, 6, 7]. Так, средний показатель выявленных больных ЛЗН среди сельских жителей по Российской Федерации в 2013 г. составил 34 % (в 2010 г. – 19 %). При этом данный показатель не изменился в Волгоградской области, где в 2013 г. доля выявления ЛЗН среди жителей сельской местности составила 12 %, в Ростовской области – 20 %, тогда как в Астраханской области доля больных ЛЗН сельских жителей составила 61 %, Липецкой – 66,6 %, Самарской – 55,5 %, Воронежской – 50 %. К числу причин формирования данной ситуации, очевидно, следует относить и повышение качества диагностики ЛЗН в лечебно-профилактических учреждениях сельской местности.

Возрастная структура заболевших ЛЗН в 2013 г. характеризовалась постепенным уравниванием долей возрастных контингентов, участвующих в эпидемическом процессе. Возрастные категории населения, ведущего наиболее активный образ жизни (с 20 до 49 лет) составляли по Российской Федерации до половины заболевших (48,2 %), а доля доминирующей в прежних эпидемических сезонах возрастной категории 60 лет и старше уменьшилась и составляла в 2013 г. 24 %. В ряде субъектов России доля заболевших возрастной группы 20–49 лет значительно превышала среднероссийский показатель: в Белгородской и Липецкой областях их число составляло 100 %, в Воронежской – 83 %, Саратовской – 66 %, Ростовской – 50 %. В наиболее «старых» очагах этот показатель составил: в Астраханской области – 43 %, в Волгоградской – 47 %.

Доля детей среди заболевших ЛЗН в сезон 2013 г. – наименьшая, по России этот показатель составил 6,2 % (в 2012 г. – 10,5 %). Заболевания детей до 14 лет зарегистрированы в Самарской области в 44 % от общего числа случаев, Саратовской области – в 9,3 %, в Калужской – в 1 случае из 2 зарегистрированных, Омской – в единственном зарегистрированном случае. В наиболее «старых» очагах, Астраханской и Волгоградской областях, доля выявленных случаев ЛЗН у детей составляла 0,4 и 2 % соответственно.

Эпидемический процесс ЛЗН на территории РФ меняет свою характеристику и по местам и факторам заражения. По результатам эпидемиологического расследования случаев заболевания ЛЗН в 2013 г. установлено, что наиболее массовыми местами заражения населения являлись загородные природные места отдыха, включая территории уже сформировавшихся природных очагов ЛЗН на территории России (природные парки, пойменные и околосельские территории для отдыха и рыбалки и другие территории Астраханской, Волгоградской, Саратовской, Воронежской областей и Краснодарского края). Этот показатель в 2013 г. составил по Российской Федерации 37 % (в 2012 г. – 29 %, в 2010 г. – 13 %).

Если в 2010 г. население преимущественно заражалось при выезде на дачи, садово-огородные участки (42 % заболевших), то к 2012 г. данный показатель снизился до 20 %, а в 2013 г. эта часть населения составила только 17 % от общего числа заболевших. В 0,3 % случаев в 2013 г. (1,2 % – в 2012 г.) заражение жителей РФ происходило в зарубежных странах, эндемичных по ЛЗН (Таиланд, Украина).

Ежегодно увеличивается перечень субъектов РФ, включающихся в работу по изучению эндемичности территории по ЛЗН, обследованию лихорадящих больных, имеющих сходную с ЛЗН симптоматику. Так, в 2013 г. обследование лихорадящих больных проводилось в 77 субъектах РФ (в 2012 г. – в 51, в 2010 г. – в 11), при этом объемы исследований на большинстве территорий соответствовали степени их эндемичности (от 7 больных в Забайкальском крае до 1194 – в Волгоградской области).

Сложная ситуация складывается в Северо-Кавказском федеральном округе. Учреждения Роспотребнадзора большинства республик либо совсем не проводят обследования лихорадящих больных на ЛЗН (Кабардино-Балкарская, Чеченская, Ингушская, Карачаево-Черкесская, Северная Осетия), либо проводят в крайне недостаточных объемах (Дагестан), что не позволяет выявить больных ЛЗН среди населения этого региона. Однако, по данным исследований, проведенных ФКУЗ «Дагестанская ПЧС», в регионе Кавказа в значительной части переносчиков найдены антигены ВЗН, позволяющие считать, что вероятность массовой заболеваемости населения высока. Антигены ВЗН были найдены в комарах и клещах в 5–48 % исследованных проб в Ингушетии и Дагестане. Антитела к ВЗН найдены у здорового населения (доноров) этого региона, что может свидетельствовать об их инфицировании ВЗН. Природно-климатические условия равнинной и предгорной части этих территорий являются благоприятными для формирования природных очагов ЛЗН.

Наибольшая выявляемость ЛЗН в эпидемический сезон 2013 г. в РФ отмечена среди больных, имеющих симптоматику менингитов, менингоэнцефалитов. Практически в равных долях ЛЗН диагностирована у больных с лихорадками неясного генеза, тяжелым гриппоподобным синдромом, а также больных, отнесенных к группе «прочие», в т.ч. и имеющих аллергическую симптоматику в виде кожных высыпаний (экзантема).

Все выявленные в 2013 г. случаи ЛЗН были лабораторно подтверждены детекцией антител IgM в диагностическом титре или IgG с 4-кратным нарастанием титра в парных сыворотках. Подтверждение диагноза ЛЗН выявлением вирусной РНК было проведено в Белгородской, Калужской, Оренбургской, Пензенской областях в 100 % случаев, в Саратовской области – в 83 %, Волгоградской – в 49 %, Астраханской – 10 %, Ростовской – 1 %.

Первичным звеном в диагностике ЛЗН на подавляющей части территорий РФ являлись лаборато-

рии лечебно-профилактических учреждений, откуда материал, положительный на ЛЗН по результатам ТИФА, направлялся в лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте и далее, при подтверждении первоначального диагноза, в прикрепленные к субъектам Региональные центры по мониторингу возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности (территориальные противочумные учреждения и НИИ Роспотребнадзора). В Референс-центр положительный на ЛЗН биоматериал для дальнейшего молекулярно-генетического изучения представили 17 субъектов РФ. РНК ВЗН была выделена из сывороток больных 7 субъектов РФ (Астраханской, Волгоградской, Ростовской, Калужской, Оренбургской, Пензенской, Саратовской областей). Сотрудниками Референс-центра проведено генотипирование изолятов ВЗН, выделенных от больных и патолого-анатомического материала из Астраханской, Волгоградской и Саратовской областей, путем секвенирования участка 5'UTR-ProtC и фрагментов генов ProtE и NS3 вируса. В результате проведенного исследования было установлено, что вирус лихорадки Западного Нила, циркулирующий на территории Волгоградской и Саратовской областей в эпидемический сезон 2013 г. принадлежит ко второму генотипу (lineage 2) и имеет высокую степень генетического сходства с волгоградскими изолятами ВЗН 2007, 2010, 2011, 2012 гг., тогда как изолят ВЗН из Астраханской области принадлежит к первому генотипу (lineage 1) и имеет высокую степень генетического сходства с астраханскими изолятами 2012 г.

Маркеры ВЗН в источниках и переносчиках в 2013 г. были обнаружены на территории 8 субъектов РФ (в 2012 г. – 9). В Астраханской области РНК ВЗН была обнаружена в комарах *Anopheles hyrcanus*, *Culiseta annulata*; в Волгоградской – РНК ВЗН в комарах *Aedes vexans*, *Culex pipiens*, *C. modestus*, *Anopheles claviger*, *A. maculipennis*, антигены ВЗН – в комарах *Ae. vexans*, лесной мыши, клещах *Rhipicephalus rossicus*, *Dermacentor marginatus*. В республике Дагестан антиген ВЗН детектирован в клещах *R. bursa*, комарах *C. pipiens*; в республике Ингушетия антиген ВЗН выявлен в комарах *C. pipiens*, клещах *R. bursa*, *D. marginatus*, *Boophilus calcaratus*, *Hyalomma marginatum*, *Ixodes ricinus*; в Ростовской области антиген ВЗН обнаружен в скворце обыкновенном, крачке речной, комарах *A. maculipennis*; в Самарской области – антиген ВЗН в клещах *D. marginatus*; в Ставропольском крае – антиген ВЗН в крачке чайконосой, клещах *B. annulatus*; в Саратовской области выявлена РНК ВЗН в птицах (ворона серая, скворец, грач), комарах *C. pipiens*.

В эпидемический сезон 2013 г. антитела IgG к ВЗН найдены при обследовании доноров крови в Астраханской (26,5 %), Волгоградской (14 %), Ивановской (2 %), Нижегородской (4,6 %), Новосибирской (6,9 %), Омской (3,3 %), Смоленской (6 %), Ульяновской (3 %) областях, республиках

Адыгея (1,5 %), Бурятия (1,2 %), Коми (2 %); при скрининговых обследованиях населения в Волгоградской (10,5 %), Кемеровской (19,5 %), Курской (1,6 %), Мурманской (2,3 %), Орловской (3,1 %), Ростовской (6,9 %), Тверской (1,3 %), Тюменской (8 %), Челябинской (32 %) областях, Красноярском крае (18 %), республиках Дагестан (2,1 %) и Удмуртия (16 %); при обследовании животноводов в Самарской области (12,5 %), других групп населения – в республиках Адыгея (9,2 %) и Калмыкия (6,5 %).

В результате анализа данных мониторинга возбудителей ЛЗН на территории РФ в период 1999–2013 гг. установлено, что маркеры ВЗН выявлены в 61 субъекте России. Ареал распространения ВЗН на территории России представлен на рисунке.

Как известно, эпидемический процесс ЛЗН в различных регионах мира обусловлен циркуляцией нескольких геновариантов ВЗН.

На североамериканском континенте, в США, заболеваемость населения в 1999 г. была связана с вирусом линии 1а; данный генотип ВЗН также был неоднократно выделен на территории Израиля в 1997–2000 гг. [2, 8]. На сегодняшний день геноварианты вируса линии 1а продолжают господствовать на территории США и распространяются в Южную и Центральную Америку. Генотип ВЗН 1а зарегистрирован в нескольких странах этого региона, включая Колумбию, Аргентину, Венесуэлу и Бразилию [8, 10].

Вирусы генотипа 2 в основном были изолированы к югу от пустыни Сахара в Африке, где они параллельно циркулируют с вирусами генотипа 1 в не-

которых регионах [10]. В странах Средиземноморья в настоящее время выявляются геноварианты ВЗН как 1, так и 2 типа [10].

На территории России заболеваемость населения ЛЗН в 2010–2011 г. в Волгоградской, Ростовской и Воронежской областях была вызвана генотипом 2, так же, как и в отдельных странах Европы (Греция (2010–2011 гг.), Румыния (2010–2011 гг.), Албания (2011 г.)) [1, 2, 6, 10]. Генотипирование изолятов ВЗН 2012 г., выделенных в Волгоградской области, также продемонстрировало их принадлежность к генотипу 2 [7], аналогично штаммам ВЗН, изолированным в 2012 г. в Греции и Сербии [10]. Вместе с тем заболеваемость населения ЛЗН на территории Астраханской области и Ставропольского края в 2012 г. была вызвана вирусом генотипа 1а; в европейском регионе ВЗН данного генотипа в 2012 г. был выявлен на территории Испании и Турции [7, 10].

Важно подчеркнуть, что на территории Астраханской области в комарах видов *C. richardii* и *A. hyrcanus* в единичных случаях был выявлен ВЗН генотипа 2 [1]. Сведения об одновременной циркуляции вирусов 1 и 2 генотипов в 2010, 2011 и 2012 гг. были приведены для Италии и Израиля [10].

В эпидсезон 2013 г. заболеваемость населения ЛЗН в Волгоградской и Саратовской областях вновь была обусловлена генотипом 2 вируса, как и в Сербии и Италии, а в Астраханской области – ВЗН генотипа 1а. В 2013 г. у РНК возбудителя ЛЗН генотипа 2 выявлена сотрудниками Референс-центра по мониторингу за возбудителем ЛЗН в комарах *C. pipiens* из Волгоградской области, а Международным эпизоо-



Распространение вируса Западного Нила или его маркеров на территории Российской Федерации в 2013 г.

тическим бюро Всемирной организации по охране здоровья животных – в пулах комаров из Сербии. По данным Центра по изучению экзотических болезней, Италия (Centro Studi Malattie Ecsotiche (CESME)), в 2013 г. ВЗН генотипа 2 выявлен у лошадей, синантропных (сорока, серая ворона, сойка) и перелетных птиц, в комарах *C. pipiens* на всей территории Италии, кроме провинции Венето, где в комарах *C. pipiens* был выявлен вирус генотипа 1 [11]. Согласно опубликованным данным, на территории Западной Сибири Российской Федерации до настоящего времени циркулирует один геновариант возбудителя ЛЗН. В 1963–1993 гг. несколько штаммов ВЗН 1а генотипа были выделены от клещей, птиц и комаров. В 2002–2004 гг. была впервые установлена циркуляция ВЗН генотипа 1а, сходного с астраханским и волгоградским геновариантом как среди мигрирующих, так и среди оседлых видов птиц на юге Западной Сибири, в Красноярском и Приморском краях [4, 9]. Филогенетический анализ изолятов вируса от диких перелетных и оседлых птиц, мелких млекопитающих и иксодовых клещей, выделенных в Новосибирской области в 2003–2006 гг., показал их принадлежность к генотипу 1а [4]. В 2008 г. в Томске и его пригородах у клещей *I. pavlovskyi* и *I. persulcatus* также обнаружена РНК ВЗН 1а генотипа, сходного со штаммом, циркулирующим в Волгоградской области в 1999–2006 гг. [5]. Согласно сведениям учреждений Роспотребнадзора по серомониторингу ЛЗН, частота выявления антител класса IgG среди доноров и других здоровых групп населения различных регионов Сибири (например, Омская область – 26,5 % в 2011 г., Забайкальский край – 5,8 % в 2011 г., Новосибирская область – 6,9 % в 2013 г., Кемеровская область – 19,5 % в 2013 г.) соизмерима с показателями очаговых территорий европейской части России (в 2013 г. этот показатель на европейской территории составлял в Астраханской области – 26,5 %, в Ростовской – 6,9 %, в Волгоградской – 10,5 %, в Воронежской – 4,3 %), что может свидетельствовать об эпидемической напряженности очагов ЛЗН западносибирского региона и части восточных территорий России.

Вопросы циркуляции других генотипов ВЗН на территории РФ и их эпидемической значимости требуют дальнейших исследований. Так, генотип 4 ВЗН был выделен в России от клещей *D. marginatus* в Краснодарском крае, комаров *Uranotaenia unguiculata* и озерных лягушек *Rana ridibunda* в Волгоградской области [1, 8], однако на сегодняшний день нет ясного представления об энзоотическом и эпидемическом потенциале данного геноварианта вируса.

Говоря о прогнозе развития эпидемической ситуации по ЛЗН в 2014 г., необходимо иметь в виду потенциальную опасность инфицирования населения ЛЗН в эпидемический сезон на большей части территории страны, что подтверждается неоднократным выявлением РНК ВЗН или его антигенов в источниках и переносчиках практически во всех климатических зонах РФ.

По данным Росгидромета, климатические условия на территории России в ближайшие 5–10 лет будут сохранять тенденцию к потеплению, что будет способствовать дальнейшему распространению ЛЗН на более северные территории.

В связи с изменением экологии на территориях Дальнего Востока, временно затопленных в сезон 2013 г., возможен рост численности комаров, в том числе эффективных переносчиков ВЗН, что может привести к заболеваемости ЛЗН населения в этом регионе.

В кавказском регионе, на юге Западной Сибири и Забайкальском крае имеются оптимальные природно-климатические условия для накопления эпидемического потенциала ЛЗН, способного при благоприятных температурах сезона 2014 г. вызвать заболевания людей.

Повышение среднесезонных показателей температуры окружающей среды и увеличение численности эффективных переносчиков является, по мнению отечественных и зарубежных ученых, основополагающим прогностическим признаком повышения заболеваемости ЛЗН населения на эндемичных территориях [8]. Предвестником повышения заболеваемости населения может служить массовый падеж птиц, а также заболевания лошадей. В силу этого слежение за эпизоотиями животных остается важным звеном прогнозирования развития эпидемической ситуации по ЛЗН на эндемичных территориях [4, 8].

Наличие в Российской Федерации устойчивых природных очагов 1 и 2 геновариантов вируса ЗН в географически соседствующих регионах определяет потенциальную возможность переключения эпидемической активности между генотипами возбудителя ЛЗН на таких территориях России в последующие годы.

Референс-центр по мониторингу за возбудителем ЛЗН благодарит руководителей и сотрудников Управлений Роспотребнадзора, Центров гигиены и эпидемиологии субъектов Российской Федерации, а также противочумных институтов и противочумных станций России, предоставивших данные для проведения эпидемиологического анализа, результаты которого изложены в настоящей работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антонов В.А., Смоленский В.Ю., Путинцева Е.В., Липницкий А.В., Смелянский В.П., Яковлев А.Т., Мананков В.В., Погасий Н.И., Красовская Т.Ю. Эпидемиологическая ситуация по лихорадке Западного Нила в 2011 году на территории Российской Федерации и прогноз ее развития. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):17–21.
2. Алексеев В.В., Смелянский В.П., Путинцева Е.В., Злепко А.В., Чайка А.Н. Лихорадка Западного Нила в Волгоградской области в 2010 г. *ЗНИО.* 2012; 4(224):22–4.
3. Батулин А.А., Антонов В.А., Смелянский В.П., Жуков К.В., Чернобай В.Ф., Колякина Н.Н. Роль птиц как потенциальных резервуаров вируса Западного Нила на территории Российской Федерации. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 4(114):18–21.
4. Кононова Ю.В., Мирзаева А.Г., Смирнова Ю.А., Протопопова Е.В., Дуал Т.А., Терновой В.А., Юрченко Ю.А., Шестопалова А.М., Локтев В.Б. Видовой состав кровососущих комаров (*Diptera, Culicidae*) и возможность формирования очагов циркуляции вируса Западного Нила на юге Западной Сибири. *Паразитология.* 2007; 41(6):459–70.

5. Москвитина Н.С., Романенко В.Н., Терновой В.А., Иванова Н.В., Протопопова Е.В., Кравченко Л.Б., Кононова Ю.В., Куранова В.Н., Чаусов Е.В., Москвитин С.С., Першикова Н.Л., Гашков С.И., Коновалова С.Н., Большакова Н.П., Локтев В.Б. Выявление вируса Западного Нила и его генотипирование в иксодовых клещах в Томске и его пригородах. *Паразитология*. 2008; 42(3):210–25.
6. Путинцева Е.В., Липницкий А.В., Алексеев В.В., Смелянский В.П., Антонов В.А., Мананков В.В., Погасий Н.И., Злепко А.В., Чайка А.Н., Снатенков Е.А. Особенности эпидемической ситуации по лихорадке Западного Нила в 2012 г. на территории Российской Федерации. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 1(107):38–41.
7. Путинцева Е.В., Антонов В.А., Викторов Д.В., Смелянский В.П., Жуков К.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Ткаченко Г.А., Шпак И.М., Снатенков Е.А. Особенности эпидемической ситуации по лихорадке Западного Нила в 2012 г. на территории Российской Федерации. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:25–9.
8. Онищенко Г.Г., редактор. Сборник материалов по вспышке лихорадки Западного Нила в Российской Федерации в 2010 г. Волгоград: Волга-Паблицер; 2011. 244 с.
9. Терновой В.А., Протопопова Е.В., Сурмач С.Г., Газетдинов М.В., Золотых С.И., Шестопалов А.М., Павленко Е.В., Леонова Г.Н., Локтев В.Б. Генотипирование вируса западного Нила, выявленного у птицы юге Приморского края в течение 2003–2004 гг. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2006; 4:30–5.
10. West Nile Virus Circulation in the EpiSouth Countries and Neighbouring Areas Seasons 2010, 2011 and 2012 [Update 20 Jun 2013; cited 24 Jun 2013]. Network for the Control of Public Health Threats in the Mediterranean Region and South East Europe [Internet]. Available from: http://www.episouthnetwork.org/sites/default/files/bulletin_file/west_nile_virus_circulation_in_the_episouth_countries_and_neighbouring_areas_2010_2011_and_2012_seasons.pdf
11. West Nile Disease in Italy in 2013 [Internet]. Epidemiological Report WND. Dec 5, 2013; no. 17 [cited 09 Dec 2013]. 15 p. Available from: http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/pdf/Bollettino%205_12_2013_EN.pdf
12. West Nile virus - Multistate (Europe) - Monitoring season 2013 [Internet]. Communicable Disease Threats Report (CDTR), Week 45, 3–9 November 2013 [cited 12 Nov 2013]. P. 4–6. The European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC). Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Communicable-disease-threats-report-8-nov-2013.pdf>
13. West Nile virus National Surveillance Report, Weeks 44 & 45, 2013 [Internet]. The Public Health Agency of Canada (PHAC); [cited 21 Nov 2013]. Available from: http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/nsr-rns_2013/w44-45/pdf/w44-45-eng.pdf
14. S.N., Bol'shakova N.P., Loktev V.B. [Detection of the West Nile Virus and its genetic typing in ixodid ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Tomsk City and its suburbs]. *Parazitologiya*. 2008; 42(3):210–25.
15. Putintseva E.V., Lipnitsky A.V., Alekseev V.V., Smelyansky V.P., Antonov V.A., Manankov V.V., Pogasy N.I., Tkachenko G.A., Shpak I.M., Kryuchkova T.P., Savchenko S.T., Zhukov K.V. [Dissemination of the West Nile fever in the Russian Federation and in the world in 2010]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 1(107):38–41.
16. Putintseva E.V., Antonov V.A., Viktorov D.V., Smelyansky V.P., Zhukov K.V., Manankov V.V., Pogasy N.I., Tkachenko G.A., Shpak I.M., Snatnikov E.A. [Peculiarities of epidemiological situation on the West Nile fever in 2012 in the territory of the Russian Federation]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1(107):25–9.
17. Onishchenko G.G., editor. [Collection of materials on the West Nile fever outbreak in the Russian Federation in 2010]. Volgograd: Volga-Publisher; 2011. 244 p.
18. Ternovoy V.A., Protopopova E.V., Surmach S.G., Gazetdinov M.V., Zolotykh S.I., Shestopalov A.M., Pavlenko E.V., Leonova G.N., Loktev V.B. [The genotyping of the West Nile virus in birds in the far eastern region of Russia in 2002–2004]. *Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol.* 2006; (4):30–5.
19. West Nile Virus Circulation in the EpiSouth Countries and Neighbouring Areas Seasons 2010, 2011 and 2012 [Update 20 Jun 2013; cited 24 Jun 2013]. Network for the Control of Public Health Threats in the Mediterranean Region and South East Europe [Internet]. Available from: http://www.episouthnetwork.org/sites/default/files/bulletin_file/west_nile_virus_circulation_in_the_episouth_countries_and_neighbouring_areas_2010_2011_and_2012_seasons.pdf
20. West Nile Disease in Italy in 2013 [Internet]. Epidemiological Report WND. Dec 5, 2013; no. 17 [cited 09 Dec 2013]. 15 p. Available from: http://sorveglianza.izs.it/emergenze/west_nile/pdf/Bollettino%205_12_2013_EN.pdf
21. West Nile virus - Multistate (Europe) - Monitoring season 2013 [Internet]. Communicable Disease Threats Report (CDTR), Week 45, 3–9 November 2013 [cited 12 Nov 2013]. P. 4–6. The European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC). Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Communicable-disease-threats-report-8-nov-2013.pdf>
22. West Nile virus National Surveillance Report, Weeks 44 & 45, 2013 [Internet]. The Public Health Agency of Canada (PHAC); [cited 21 Nov 2013]. Available from: http://www.phac-aspc.gc.ca/wnv-vwn/nsr-rns_2013/w44-45/pdf/w44-45-eng.pdf

References

1. Antonov V.A., Smolensky V.Yu., Putintseva E.V., Lipnitsky A.V., Smelyansky V.P., Yakovlev A.T., Manankov V.V., Pogasy N.I., Krasovskaya T.Yu. [West Nile fever epidemic situation in the Russian Federation territory in 2011 and prognosis of its development]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):17–21.
2. Alekseev V.V., Smelyansky V.P., Putintseva E.V., Zlepko A.V., Chaika A.N. [West Nile Fever in the Volgograd Region in 2010]. *ZNISO*. 2012; 4(224):22–4.
3. Baturin A.A., Antonov V.A., Smelyansky V.P., Zhukov K.V., Chernobay V.F., Kolyakina N.N. [The role of birds as potential reservoirs of West Nile virus in the territory of the Russian Federation]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 4(114):18–21.
4. Kononova Iu.V., Mirzaeva A.G., Smirnova Iu.A., Protopopova E.V., Dupal T.A., Ternovoy V.A., Iurchenko Iu.A., Shestopalova A.M., Loktev V.B. [Species composition of mosquitoes (Diptera, Culicidae) and possibility of the West Nile virus natural foci formation in the South of Western Siberia]. *Parazitologiya*. 2007; 41(6):459–70.
5. Moskvitina N.S., Romanenko V.N., Ternovoy V.A., Ivanova N.V., Protopopova E.V., Kravchenko L.B., Kononova Iu.V., Kuranova V.N., Chaurov E.V., Moskvitin S.S., Pershikova N.L., Gashkov S.I., Konovalova

Authors:

Putintseva E.V., Antonov V.A., Smelyansky V.P., Viktorov D.V., Tkachenko G.A., Pak V.A., Zhukov K.V., Boroday N.V., Manankov V.V., Pogasy N.I., Shpak I.M., Savchenko S.S., Lemasova L.V., Bondareva O.S., Zamarina T.V., Barkova I.A. Volgograd Research Anti-Plague Institute, 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Pakskina N.D., Skudareva O.N. Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Pereulok, Moscow, 127994, Russian Federation.

Monastirskiy M.V. Research Institute of Disinfectology, 18, Nauchny proezd, Moscow, 117246, Russia. E-mail: info@niid.ru

Об авторах:

Путинцева Е.В., Антонов В.А., Смелянский В.П., Викторов Д.В., Ткаченко Г.А., Пак В.А., Жуков К.В., Бородай Н.В., Мананков В.В., Погасий Н.И., Шпак И.М., Савченко С.С., Лемасова Л.В., Бондарева О.С., Замарина Т.В., Баркова И.А. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Пакскина Н.Д., Скударева О.Н. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.

Монастырский М.В. Научно-исследовательский институт дезинфектологии. Российская Федерация, 117246, Москва, ул. Научный проезд, 18. E-mail: info@niid.ru

Поступила 16.01.14.

А.С.Волинкина¹, Н.Д.Пакскина², Е.В.Яценко², Е.С.Котенев¹, Я.В.Леванцова¹, О.В.Малецкая¹,
Л.И.Шапошникова¹, Ю.М.Тохов¹, А.Н.Куличенко¹

АНАЛИЗ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО КРЫМСКОЙ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКЕ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2013 г. И ПРОГНОЗ НА 2014 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

Крымская геморрагическая лихорадка остается одной из наиболее актуальных инфекций для юга России. В течение последних пяти лет в ряде регионов сохраняется стабильно высокий уровень заболеваемости, уровень летальности в среднем составляет 4,4 %. В 2013 г. в субъектах ЮФО и СКФО зарегистрировано 79 случаев заболевания КГЛ. В работе представлен анализ эпидемиологической ситуации по Крымской геморрагической лихорадке (КГЛ) в России в 2013 г., обобщены результаты эпизоотологического обследования территории природного очага КГЛ на юге европейской части России, приведены результаты генетического типирования вируса ККГЛ, выявленного в 2011–2013 гг. на юге России. На основании данных эпизоотологического мониторинга составлен прогноз развития эпидемиологической ситуации по КГЛ на 2014 г.

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

A.S.Volynkina¹, N.D.Pakskina², E.V.Yatsmenko², E.S.Kotenev¹, Ya.V.Levantzova¹, O.V.Maletskaya¹,
L.I.Shaposhnikova¹, Yu.M.Tokhov¹, A.N.Kulichenko¹

Analysis of Epidemiological Situation on Crimean Hemorrhagic Fever in the Russian Federation in 2013 and Prognosis for 2014

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

Crimean hemorrhagic fever remains one of the priority infections in the South of Russia. Within the past five years morbidity rates are retained consistently high in a number of regions; mortality rates are on average 4.4 %. In 2013 registered were 79 cases of CHF in the Southern and North-Caucasian Federal Districts. Therewith performed has been analysis of epidemiological situation on CHF in the Russian Federation for 2013, summarized have been the results of epizootiological surveillance of the natural CHF focus area in the South of European Russia, discussed are the results of genetic CCHF virus typing, identified in 2011–2013 in the South of Russia. Based on epizootiological surveillance data made has been the forecast of epidemiological situation development as regards CHF for 2014.

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

Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ) – зоонозная природно-очаговая инфекционная болезнь (код по МКБ-10 – А 98.0), вызываемая вирусом Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ).

Ареал распространения вируса ККГЛ практически совпадает с ареалом распространения иксодовых клещей рода *Hyalomma*, являющихся основным переносчиком вируса, и охватывает Африку и южную часть Евразии (южнее 50° с.ш.). Более чем в 30 странах этого региона выявлена заболеваемость КГЛ или доказана циркуляция вируса ККГЛ [3, 4].

Спорадические случаи заболевания людей КГЛ и эпидемические вспышки в 2013 г. регистрировались в странах Африки (ЮАР – 4 случая, Уганда – 7 летальных случаев), южной Европы: (Турция – 1 летальный случай, Болгария – 2 случая, Косово – 5 летальных случаев), Азии (Пакистан – 19 случаев, из них 9 летальных, Афганистан – 4 летальных случая, Индия – 10 случаев, из них 7 летальных).

В Российской Федерации сохраняется эпидеми-

ологически неблагоприятная обстановка по КГЛ. На юге России регистрируются случаи заболевания КГЛ в течение последних 15 лет (с 1999 г.) Эпидемически активная территория природного очага КГЛ к настоящему времени составляет 49,4 % территории Южного и Северо-Кавказского федеральных округов (ЮФО и СКФО), имеется тенденция к дальнейшему расширению границ природного очага. По эпидемическим проявлениям Крымская геморрагическая лихорадка остается одной из наиболее актуальных инфекций для данного региона [3, 4].

Материалы и методы

Проанализированы данные о 79 лабораторно подтвержденных случаях заболевания КГЛ и результатах эпизоотологического обследования территории на основании еженедельной и ежеквартальной информации о мониторинге возбудителя КГЛ, предоставляемой Управлениями Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и бла-

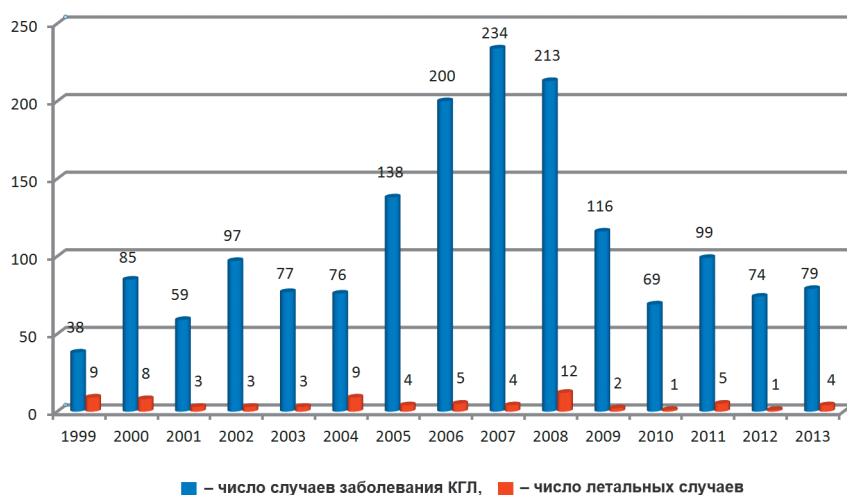


Рис. 1 Динамика заболеваемости КГЛ 1999–2013 гг.

гополучия человека по субъектам ЮФО и СКФО и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в данных субъектах.

Результаты и обсуждение

В течение 15 лет (1999–2013 гг.) в ЮФО и СКФО выявлены 1654 больных, у 73 из них (4,4 %) заболевание закончилось летальным исходом. Наибольшее количество заболевших зарегистрировано в Ставропольском крае – 604 (36,5 % от общего числа больных, выявленных в ЮФО и СКФО), из них 23 летальных, в Ростовской области – 432 (26,1 %), из них 19 летальных, в Республике Калмыкия – 301 (18,2 %), в т.ч. 8 летальных. Наибольшее число больных КГЛ выявлено в 2006–2008 гг. С 2009 г. уровень заболеваемости снизился, однако ежегодно регистрировалось 69 и более случаев заболевания этой инфекцией в год, а также летальные случаи, что свидетельствует о сохранении эпидемиологически неблагоприятной обстановки по КГЛ в регионе [1, 2] (рис. 1, таблица).

В 2013 г. эпидемические проявления КГЛ отмечались в пяти субъектах ЮФО и СКФО. Зарегистрировано 79 случаев заболевания этой инфекцией (из них 4 летальных), что на 6,8 % больше, чем в 2012 г. (74 больных, 1 летальный). Наибольшее число заболевших выявлено в Ростовской области – 38 случаев, из которых 2 летальных, это на 7,31 % меньше чем в предыдущем году (41 случай, 1 летальный).

В Ставропольском крае выявлено 32 случая КГЛ, здесь количество заболевших возросло на 33,3 % по сравнению с 2012 г. (24 случая), но летальных случаев заболевания не выявлено. Следует отметить, что в Ставропольском крае летальные случаи заболевания отсутствуют с 2009 г. В Волгоградской области в 2013 г. было зарегистрировано 6 случаев заболевания КГЛ, из них 1 летальный, в Республике Дагестан зарегистрировано 2 случая (1 летальный) и 1 случай в Астраханской области. В Республике Калмыкия в 2013 г. заболеваемость КГЛ не регистрировалась (3 случая в 2012 г.). Летальные исходы КГЛ практически ежегодно регистрируются в Ростовской и Волгоградской областях, а также в Республике Дагестан.

Сезонность заболевания во всех субъектах ЮФО и СКФО, эндемичных по КГЛ, соответствовала многолетней. Первый больной (по дате заболевания) был зарегистрирован во второй декаде апреля в с. Архангельском Ставропольского края. Заболеваемость нарастала с апреля, пик пришелся на май–июнь (38,1 и 39,2 % от всех больных), спад – на август. Последний случай заболевания отмечен во второй декаде августа в Каменск-Шахтинском Ростовской области.

Заболеваемость регистрировали во всех возрастных группах, наиболее высокий уровень заболеваемости отмечался в возрастной группе 50–59 лет (27,8 % от всех случаев заболевания), в Ростовской

Заболеваемость КГЛ на Юге России 2009–2013 гг.

Субъект ЮФО/СКФО	Количество больных/летальных						Итого	
	2009 г.	2010 г.	2011 г.	2012 г.	2013 г.		2009–2013 гг.	1999–2013 гг.
Ставропольский край	66	30	26	24	32		178/0	604/17
Ростовская область	27/1	16	48/3	41/1	38/2		170/7	432/16
Республика Калмыкия	17	10	11	3	0		41	301/7
Астраханская область	3	7/1	10	6	1		27/1	148/5
Волгоградская область	2/1	3	2/1	0	6/1		13/3	115/8
Республика Дагестан	1	3	2/1	0	2/1		8/2	46/5
Республика Ингушетия	0	0	0	0	0		0	6/4
Карачаево-Черкесская республика	0	0	0	0	0		0	2/0
Итого	116/2	69/1	99/5	74/1	79/4		437/13	1654/73

области и Ставропольском крае выявлено по 1 случаю заболевания детей до 14 лет.

Жители сельской местности, трудовая деятельность которых связана с животноводством и полевыми работами, составляли большую часть больных КГЛ (85,3 %). Среди заболевших преобладали мужчины (64,5 %).

В профессиональном составе больных КГЛ, как и в прошлые годы, преобладали неработающие лица (41,8 %) и пенсионеры (13,9 %), как правило, являющиеся владельцами индивидуального поголовья сельскохозяйственных животных, а также работники фермерских хозяйств: разнорабочие (5,1 %), механизаторы (3,8 %), фермеры (5,1 %).

Инфицирование людей происходило инокуляционным (укус клещами) – 50,6 %, и контаминационным (при снятии клещей незащищенными руками, при контакте с клещами и нападении клещей) путями передачи возбудителя инфекции – 34,2 %. В 15,2 % случаев путь заражения не был установлен. Инфицирование людей происходило с реализацией трансмиссивного механизма заражения, случаев заражения с контактным механизмом передачи возбудителя инфекции в 2013 г. не выявлено.

В большинстве случаев (40,5 %) заражение происходило при уходе за сельскохозяйственными животными, в 17,7 % – при выполнении полевых работ и в 5,1 % – при нахождении в природных биотопах. В 36,7 % случаев условия заражения не установлены.

Анализ клинических проявлений КГЛ показал, что у 83,5 % больных наблюдалась клиническая форма без геморрагических проявлений. Преобладающей являлась среднетяжелая форма течения болезни (88,6 %), доля случаев тяжелого течения болезни составила 7,6 % (в 2012 г. – 13,5 %), в 3,8 % случаев отмечалась легкая форма течения заболевания.

Количество лиц, обратившихся в лечебно-профилактические организации по поводу укусов клещами, в 2013 г. возросло на 5,5 % (до 22000), в т.ч. детей на 4,1 % (7534) по сравнению с 2012 г. (20845, в т.ч. 7236 детей), что связано с более ранней активизацией клещей.

На базе лабораторий особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах ЮФО и СКФО и лабораторий противочумных станций в регионе в 2013 г. методом ПЦР и ИФА на нали-

чие антигена и РНК вируса КГЛ было исследовано 6079 пулов иксодовых клещей, выявлено 230 положительных проб (5,8 %), в 2012 г. – исследовано 7500 пулов иксодовых клещей, выявлено 450 положительных проб (6,0 %). Доля зараженных иксодовых клещей в 2013 г. возросла в Волгоградской области до 1,4 % (в 2012 г. – 0,15 %), снизилась в Ростовской области до 11,7 % (в 2012 г. – 20,4 %), в Ставропольском крае – до 5,8 % (в 2012 г. – 6,8 %) и в Астраханской области – до 0,65 % (в 2012 г. – 6,1 %).

Антиген вируса КГЛ в иксодовых клещах, кроме того, был выявлен в Краснодарском крае (6,8 %), Кабардино-Балкарской (0,7 %) и Карачаево-Черкесской республиках (6,5 %), хотя случаи заболевания здесь не регистрировались.

На базе Референс-центра по мониторингу за возбудителем КГЛ проведено генетическое типирование вируса КГЛ, выявленного в образцах клинического материала больных КГЛ и суспензий клещей. По результатам исследований, проведенных в 2011–2013 гг., показано, что 100 % случаев заболевания людей вызвано вирусом КГЛ, относящимся к генотипу «Европа-1», типичным для территории юга европейской части России. Генотип «Европа-1» разделяется на три подгруппы: «Ставрополь-Ростов-Астрахань-1», преобладающий в Ставропольском крае и Астраханской области, «Волгоград-Ростов-Ставрополь», преобладающий на территории Ростовской области, и «Астрахань-2», выявленный только в Астраханской области. В 2013 г. из суспензий клещей, собранных на территории Республики Калмыкия, выявлен вирус, генотип которого значительно отличается как от генотипа Европа-1, так и от остальных известных генотипов вируса КГЛ, что показывает не только генетическую гетерогенность популяции вируса КГЛ на юге России, но и существование не известного до настоящего времени геноварианта вируса (рис. 2).

В системе эпиднадзора за КГЛ важное значение принадлежит эпизоотологическому мониторингу территории природного очага инфекционной болезни. Основной задачей его является наблюдение за динамикой численности и распространения основного резервуара и переносчика вируса КГЛ – клещей *Hyalomma marginatum*. При этом основным прогностическим показателем активности очага являются

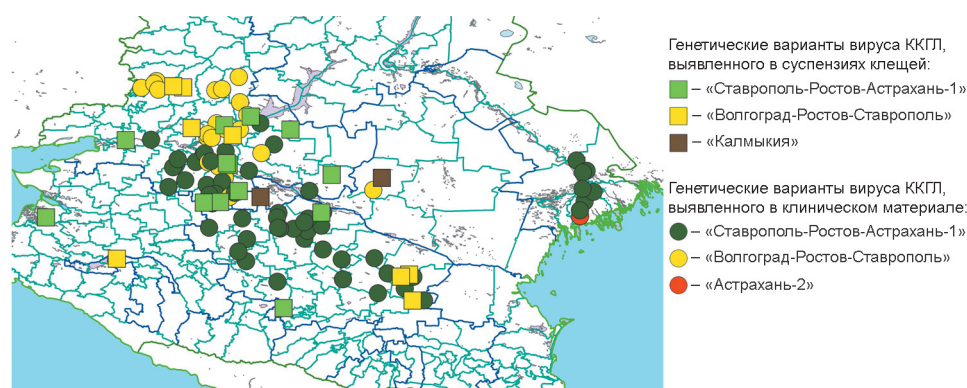


Рис. 2. Географическое распределение генетических вариантов вируса КГЛ на юге России

показатели численности его преимагинальных фаз.

Погодно-климатические условия зимы 2012–2013 г. были благоприятными для перезимовки иксодовых клещей. Активизация основного переносчика вируса ККГЛ *H. marginatum* на большей части территории ЮФО и СКФО в 2013 г. произошла во II–III декадах марта, что на одну–две недели раньше, чем в 2012 г. Пик активности клещей пришелся на май. В полупустынной ландшафтно-географической зоне индекс обилия имаго *H. marginatum* на сельскохозяйственных животных варьировал от 3,5 до 21,7 при индексе доминирования 100 %.

В 2013 г. в целом численность клещей *H. marginatum* соответствовала показателям 2012 г. Отмечено незначительное увеличение численности иксодид и заклещевленности крупного и мелкого рогатого скота по сравнению с предыдущим годом в Ростовской области (средний сезонный индекс встречаемости на КРС был в 1,5 раза выше, чем в 2012 г.), в Ставропольском крае, Волгоградской области – в 1,2 раза выше, чем в 2012 г., в Республике Дагестан – в 1,1 раза выше, чем в 2012 г. В Астраханской области и в Республике Калмыкия индекс встречаемости иксодид на крупном и мелком рогатом скоте снизился в 1,5 и 13,6 раз соответственно.

Паразитирование преимагинальных фаз *H. marginatum* на птицах семейства врановых (грачах) установлено во II декаде июля 2013 г. Индекс обилия личинок *H. marginatum* на грачах достигал 53,0 экз., что в 35,3 раза выше, чем в 2012 г., на индейках – 27,8 экз., что в 11,1 раза выше, чем в 2012 г. Индекс обилия нимф *H. marginatum* на грачах составлял 30,5 экз. (в 2,3 раза выше, чем в 2012 г.), на индейках – 15,1 экз. (в 2,4 раза выше, чем в 2012 г.).

На основании результатов эпизоотологического мониторинга с учетом показателей численности преимагинальных фаз можно прогнозировать увеличение численности имаго *H. marginatum* в ранневесенний период 2014 г. Благоприятным фактором для перезимовки иксодид и увеличения численности их имаго являются мягкие погодные условия зимы 2013–2014 г. В связи с увеличением численности основного резервуара и переносчика вируса ККГЛ следует ожидать и повышения заболеваемости людей КГЛ по сравнению с 2013 г.

Перед началом эпидсезона КГЛ 2014 г. и в течение его необходимо обратить особое внимание на организацию и выполнение мероприятий по специфической профилактике данной инфекционной болезни и, прежде всего, на своевременность проведения в должном объеме с марта по июнь акарицидных

обработок природных биотопов и сельскохозяйственных животных. В случае недостаточности и несвоевременности их проведения показатели численности иксодовых клещей превысят эпидзначимый индекс обилия, что приведет к осложнению эпидемиологической обстановки по КГЛ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Василенко Н.Ф., Смоленский В.Ю., Волынкина А.С., Варфоломеева Н.Г., Заикина И.Н., Малецкая О.В., Ашибиков У.М., Тохов Ю.М., Ермаков А.В., Куличенко А.Н. Особенности эпидемиологической обстановки по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2011 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):22–5.
2. Волынкина А.С., Котенев Е.С., Малецкая О.В., Заикина И.Н., Шапошникова Л.И., Куличенко А.Н. Эпидемиологическая ситуация по Крымской геморрагической лихорадке в Российской Федерации в 2012 г. и прогноз на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:30–3.
3. 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. *Эпидемиол. и инф. бол. Актуальные вопр.* 2012; 3:42–53.
4. Малецкая О.В., Куличенко А.Н., Бейер А.П., Харченко Т.В., Исмаилова Г.К., Чумакова И.В. Современные особенности эпиднадзора за Крымской геморрагической лихорадкой. *Дез. дело.* 2009; 2:40–4.

References

1. Vasilenko N.F., Smolensky V.Yu., Volynkina A.S., Varfolomeeva N.G., Zaikina I.N., Maletskaya O.V., Ashibikov U.M., Tokhov Yu.M., Ermakov A.V., Kulichenko A.N. [Peculiar aspects of epidemiological situation on Crimean hemorrhagic fever in the Russian Federation in 2011]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):22–5.
2. Volynkina A.S., Kotenev E.S., Maletskaya O.V., Zaikina I.N., Shaposhnikova L.I., Kulichenko A.N. [Epidemiological situation on Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Russian Federation in 2012 and prognosis for 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:30–3.
3. 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-Congo hemorrhagic fever in Eurasia in the XXI century: epidemiological aspects]. *Epidemiol. Infek. Bol. Aktual. Vopr.* 2012; 3:42–53.
4. Maletskaya O.V., Kulichenko A.N., Beyer A.P., Kharchenko T.V., Ismailova G.K., Chumakova I.V. [Current peculiarities of epidemiological surveillance over Crimean-Congo hemorrhagic fever]. *Dez. Delo.* 2009; 2:40–4.

Authors:

Volynkina A.S., Kotenev E.S., Levantzova Ya.V., Maletskaya O.V., Shaposhnikova L.I., Tokhov Yu.M., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

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

Об авторах:

Волынкина А.С., Котенев Е.С., Леванцова Я.В., Малецкая О.В., Шапошникова Л.И., Тохов Ю.М., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Пакскина Н.Д., Яценко Е.В. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.

Поступила 21.01.14.

А.Г.Бачинский, Л.Ф.Низоленько

УНИВЕРСАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ЛОКАЛЬНЫХ ЭПИДЕМИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

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

Целью нашей работы является демонстрация некоторых особенностей разрабатываемой в ГНЦ ВБ «Вектор» модели эпидемий. Предполагается, что данная модель универсальна и способна описывать развитие любой эпидемии острого инфекционного заболевания, где основными путями передачи инфекции является инфицирование из некоторого внешнего источника или при случайных контактах между людьми независимо от пола, возраста и других социально-демографических особенностей групп населения. В модели задается спектр основных мер противодействия: профилактическая вакцинация и вакцинация, проводимая уже в ходе эпидемии, поиск и изоляция (наблюдение) больных, контактных и лиц, подозрительных на заболевание, карантин. Модель доступна по адресу <http://vector-epimod.ru>. Исследуется влияние различных ресурсных ограничений на развитие эпидемии натуральной оспы в населенном пункте – городе-миллионнике.

Ключевые слова: эпидемия, математическая модель, особо опасные инфекции, меры противодействия.

A.G.Bachinsky, L.F.Nizolenko

Universal Model of Local Epidemics Development, Caused by Particularly Dangerous Infection Agents

State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector", Kol'tsovo, Russian Federation

Objective of the work is to demonstrate some peculiarities of functioning of the software model of epidemics designed at the premises of SSC VB "Vector". This model is supposed to be a universal one and appropriate for prediction of any acute infectious disease epidemics development. Basic routes of infection are either an unspecified external source or random contacts between people irrespective of gender, age, and other socio-demographic characteristics of cohorts. The model assumes presetting the spectrum of key anti-epidemic measures such as preventive vaccination and the one carried out in situ, as well as allocating and isolation (observation) of the infection cases, contact persons, and those suspected for a disease, and quarantine. The software model is available from <http://vector-epimod.ru>. Investigated is the impact of various resource limitations on the development of smallpox epidemics in a residential area – a city with a million-plus population.

Key words: epidemics, mathematical model, particularly dangerous infections, countermeasures.

Материалы и методы

В ГНЦ ВБ «Вектор» разрабатывается модель локальных, то есть развивающихся в замкнутой популяции, эпидемий/высыпек, адаптированная к возбудителям таких инфекций, как натуральная оспа, сибирская язва, чума (легочная и бубонная формы), геморрагические лихорадки Эбола, Марбург, Ласса, Крымская-Конго, грипп. Структура модели и схема перехода между переменными опубликованы ранее [7].

Для адаптации модели к выбранному возбудителю собираются все доступные данные о патогенезе, эпидемиологии, профилактике и лечении заболевания. На их основании задаются параметры моделирования, такие как продолжительность стадий заболевания, относительная инфекционность и смертность больных, продолжительность вакцинального периода и др. Если доступны более или менее качественные данные о динамике вспышек [5, 7, 8], они используются, с одной стороны, для подбора параметров, а с другой, для верификации модели по отношению к данному возбудителю, то есть адекватного описания вспышек с учетом мер противодействия. Для перехо-

да от одной инфекции к другой достаточно задать соответствующий набор параметров. Предполагается, что такого рода относительно простая структура модели достаточна для описания основных особенностей развития эпидемий, учитывая то обстоятельство, что данные для адаптации более сложных структурированных моделей, как правило, отсутствуют.

Основные положения модели базируются на концепции моделирования эпидемий, предложенной Б.В.Боевым [4], которая, в свою очередь, основывается на работах О.В.Барояна и Л.А.Рвачева [1–3]. Принципиальное положение ее состоит в том, что инфицированный человек проходит последовательно ряд стадий заболевания, например, скрытый (латентный, инкубационный) период, стадия продромы, инфекционная стадия. Для каждой из стадий, в зависимости от времени пребывания в ней, задаются функции, определяющие вероятность (долю) ежедневного перехода в следующую стадию, выздоровления, смертности, интенсивности выделения инфицирующего агента (инфекционности) и ряд других.

Разрабатываемая модель относится к классу SEIRF, то есть в популяции некоторого населенного

пункта или региона выделяются следующие группы населения:

- не инфицированные лица, чувствительные к инфекции (иммунные и без иммунитета; находящиеся в стадии формирования иммунитета после вакцинации; лица, бывшие в контакте с уже инфицированными, в том числе выявленные и наблюдаемые/изолированные; лица, имеющие первичные неспецифические симптомы заболевания – подозрительные – наблюдаемые или изолированные);

- инфицированные лица, находящиеся в латентной стадии, кластеризованные так же;

- инфицированные лица, находящиеся во второй стадии заболевания, обычно продромы;

- инфицированные лица, находящиеся в «финальной» стадии развития заболевания, имеющие легкую или тяжелую форму заболевания;

- поправившиеся, имеющие стойкий иммунитет на период моделируемой вспышки;

- лица, умершие в результате заболевания.

Моделируются следующие процессы:

- формирование «инфекционной напряженности» за счет возможного внешнего источника инфекции и/или инфекционности не изолированных больных, находящихся во второй/третьей стадии развития заболевания;

- естественное снижение (повышение) активности внешнего источника инфекции;

- инфицирование чувствительных лиц в зависимости от инфекционной напряженности и состояния их иммунитета;

- формирование класса контактных пропорционально числу вновь инфицированных чувствительных лиц;

- инфицирование контактных с повышенной по сравнению с остальными скоростью;

- вероятностный переход из одной стадии развития заболевания в другую;

- выздоровление;

- смерть больных. Смертность снижается, если больные подвергаются лечению.

В модели предусматривается реализация трех режимов противоэпидемических мероприятий (ПЭМ), определяющих, в основном, скорость выявления и изоляции (наблюдения) инфицированных, контактных и подозрительных лиц:

- «Мягкий» режим (ПЭМ1), при котором изолируются больные, самостоятельно обратившиеся к врачу, реализуется пока нет сведений о начавшейся эпидемии (вспышке);

- «Умеренный» режим (ПЭМ2), при котором увеличивается скорость изоляции больных, а также происходит изоляция (наблюдение) контактных и подозрительных лиц. Этот режим реализуется, например, когда подтвердились сведения о начавшейся вспышке/эпидемии, но еще не прошла мобилизация резервов;

- «Жесткий» режим (ПЭМ3), при котором еще увеличивается скорость изоляции больных, а также происходит активный поиск и изоляция (наблюдение) контактных и подозрительных лиц, включая

подворный обход. Обычно при реализации этого режима снимаются ресурсные ограничения, т.к. предполагается мобилизация необходимых ресурсов из других регионов.

Кроме этих трех режимов для некоторых инфекций задается массовая вакцинация, характеризующаяся охватом и периодом ее проведения, профилактический прием лекарственных препаратов, а также карантин, характеризующийся степенью активности, снижающей скорость инфицирования.

Все указанные меры противодействия реализуются при наличии соответствующих ресурсов, к которым относятся квалифицированный медперсонал, места для изоляции/наблюдения больных, контактных и подозрительных на заболевание лиц, запасы профилактических и лекарственных средств. При исчерпании ресурсов, уровни активности соответствующих мер могут быть снижены вплоть до полного прекращения.

Модель доступна по адресу <http://vector-epimod.ru>, снабжена Web-интерфейсом и Руководством пользователя, в котором описан порядок выполнения всех операций.

Проведена верификация модели путем аппроксимации реальных данных о вспышках оспы в городах Европы расчетными данными. Ретроспективные данные включают описания вспышек оспы: Югославия в 1972 г., Брайтон в 1950–1951 гг., Билстон в 1947 г., Москва в 1959–1960 гг., Стокгольм в 1963 г., Кардифф в 1962 г. [6]. При верификации варьируемыми параметрами были только среднее число инфицированных от одного больного до и после начала проведения противоэпидемических мероприятий и параметры скорости изоляции больных и контактных [5]. Примерно таким же образом верифицировалась модель по данным о вспышках геморрагической лихорадки Эбола [7, 8] и пандемии гриппа H1N1 2009–2010 гг. (по данным официального сайта ВОЗ).

Результаты и обсуждение

Для каждой из моделируемых инфекций определен набор параметров «по умолчанию». Этот набор соответствует некоторому умеренно-оптимистическому сценарию, для «модельного» населенного пункта – города-миллионника. Для натуральной оспы, например, предполагается, что среднее число инфицируемых от одного больного в полностью чувствительной популяции равно восьми. Значение этого параметра определено на основе анализа вспышек оспы в европейских городах в прошлом веке [5, 6] и адаптировано к условиям современных мегаполисов. Уровень коллективного иммунитета задается равным 10 %, что, фактически, соответствует естественному фону пониженной восприимчивости отдельных индивидов к относительно небольшим инфицирующим дозам при случайных контактах больных со здоровыми. Внешний источник инфекции отсутствует. В начальный момент времени в популяции оказываются 500 инфицированных человек в латентной стадии.

Задаются параметры этого города:

- число мед. работников, занятых в ликвидации эпидемии – 2000;
- запас доз вакцины для массовой вакцинации – 100000;
- запасы лекарства (на один курс лечения) – 1000;
- число мест строгой изоляции больных – 300, в провизорных госпиталях – 2500, в изоляторах для контактных – 1000.

Основные параметры, управляющие включением контрмер ПЭМ, имеют следующие значения: условие включения «мягкого» режима ПЭМ – по достижении критического числа больных в стадии сыпи (30) или через 20 сут после начала вспышки, запаздывание включения ПЭМ2 по отношению к ПЭМ1 – 5 сут, запаздывание ПЭМ3 по отношению к ПЭМ2 – 5 сут, время запаздывания начала вакцинации после ПЭМ1 – 5 сут, объем массовой вакцинации – 80 %, введение карантина после ПЭМ2 через 5 сут, интенсивность карантина 50 %. Этот набор параметров обозначен как «нулевой» вариант.

Основные моменты вспышки отображаются в протоколе расчетов: день 17 – включены ПЭМ1, день 22 – включается ПЭМ2, день 22 – начинается массовая вакцинация, день 22 – нехватка пунктов вакцинации, день 22 – нехватка мест изоляции контактных, день 22 – нехватка медбригад, день 23 – нехватка мест изоляции, день 23 – нехватка мест изоляции подозрительных, день 25 – недостаток вакцины, день 27 – включается ПЭМ3 ресурсные ограничения сняты, день 27 – введен карантин.

Кроме текущих и накопленных значений переменных модели, выдаются некоторые сводные характеристики, включающие общее число инфицированных, изолированных больных, изолированных контактных, изолированных подозрительных, человеко-дней изолированных контактных, человеко-дней изолированных подозрительных, человеко-дней изолированных больных, дней карантина, число умерших.

Для «нулевого» варианта к 50-у дню расчетов

вспышка не закончилась, но, в силу снятия ресурсных ограничений, фактически купирована, так как почти все больные к этому моменту изолированы, новых инфицированных нет. Надо заметить, что число лиц, инфицированных за сутки, снижается уже после двадцатого дня, отчасти из-за того, что «первично-инфицированные» 500 человек уже начинают выздоравливать, отчасти же из-за эффективных мер противодействия.

Если ресурсные ограничения сохраняются и во время ПЭМ3, картина резко меняется. Вспышка к 50-у дню далеко не закончилась: более 1400 человек инфицируются в сутки. Суммарное число инфицированных за это время составит более 23000 человек (и это число увеличивается) против примерно 4700 в «нулевом» сценарии. Сравнение динамики вспышки в этом случае и при «нулевом» наборе параметров приведено на рис. 1.

Для проверки влияния тех или иных ограничений на динамику вспышки, наличие каждого из ресурсов по отдельности было увеличено десятикратно. Данные по суммарному числу инфицированных приведены на рис. 2, вариант 1.

Результаты приведенных расчетов показывают, что снятие любого из ресурсных ограничений по отдельности не приводит к кардинальному улучшению ситуации. Только увеличение запаса вакцины снижает число инфицированных в два раза на промежутке в 50 дней. Некоторое улучшение ситуации дает также увеличение числа мест изоляции больных или контактных лиц. Все остальные факторы влияния не оказывают.

На фоне десятикратного увеличения запасов вакцины, снимались ограничения по одному из тех остальных ресурсов, по которым наступал дефицит. В этом случае к наилучшему результату логично приводило отсутствие дефицита пунктов вакцинации, т.е. возможность проводить ее достаточно оперативно. Немного меньший эффект давало увеличение числа мест изоляции больных или контактных лиц (рис. 2, вариант 2).

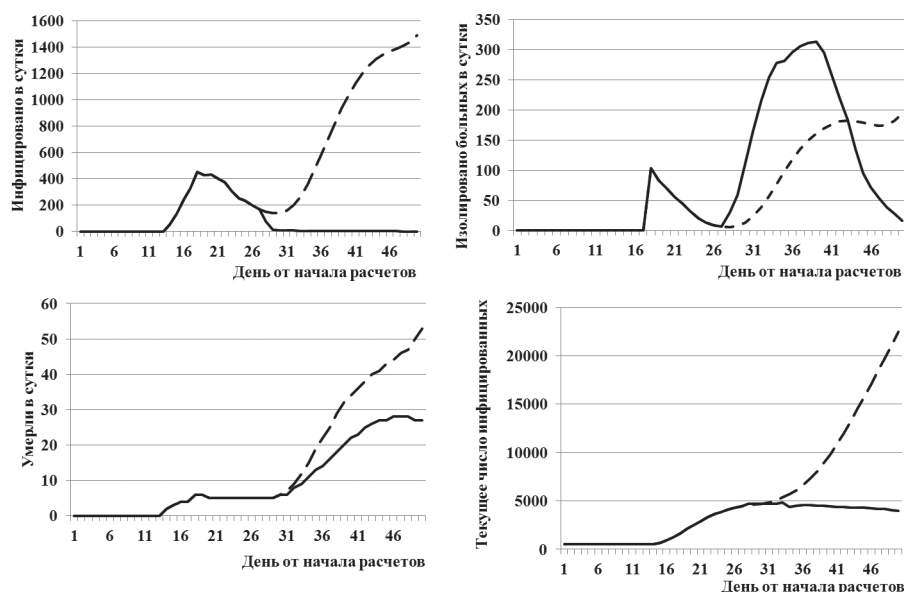


Рис. 1. Сравнение динамики вспышки натуральной оспы при «нулевом» наборе параметров и при условии, что ресурсные ограничения сохраняются при ПЭМ3:

— «нулевой» набор параметров, - - - - - ресурсные ограничения сохраняются при ПЭМ3

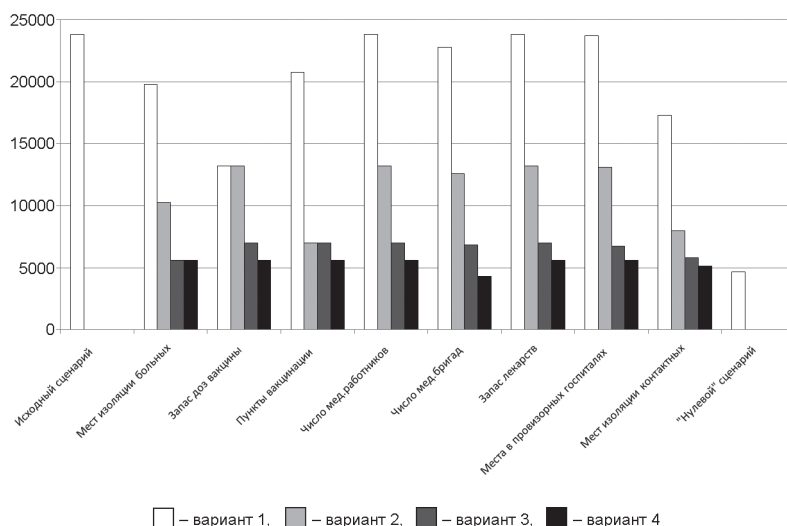


Рис. 2. Влияние ресурсных ограничений на последствия эпидемии натуральной оспы:

«Исходный» сценарий – сценарий, при котором ресурсные ограничения сохраняются при ПЭМЗ. «Нулевой» сценарий – сценарий с набором параметров, принятых по умолчанию. *Вариант 1* – наличие каждого из ресурсов по отдельности увеличено десятикратно по сравнению с «исходным» сценарием. *Вариант 2* – на фоне десятикратного увеличения запасов вакцины сняты ограничения по одному из остальных ресурсов. *Вариант 3* – при отсутствии дефицита пунктов вакцинации и запасов вакцины сняты ограничения по одному из остальных ресурсов. *Вариант 4* – снятие ограничений по одному из остальных ресурсов при отсутствии дефицита мест изоляции больных и осуществлении полномасштабной вакцинации

Сняв дефицит доз вакцины и пунктов вакцинации, опять увеличивали количество других ресурсов по отдельности. В этом случае максимальный эффект дает увеличение числа мест изоляции больных, чуть меньше – контактных (рис. 2, вариант 3).

Вариант 4 на рис. 2 представляет влияние оставшихся ресурсов на результаты моделирования при отсутствии серьезного дефицита вакцинации и мест изоляции больных. Обеспечив достаточное количество медбригад, получаем общее число инфицированных даже меньше, чем в «нулевом» варианте.

Таким образом, расчеты показывают, что только комплекс эффективных мер противодействия способен ликвидировать вспышку в приемлемые сроки и с минимальными потерями.

Следует отметить, что возможность беспрепятственной изоляции больных и контактных лиц (одновременное отсутствие дефицита мест и медбригад для ее осуществления) даже при полном отсутствии вакцинации дает заметно лучший результат, чем вакцинация 80 % населения, если имеются проблемы с изоляцией (4190 инфицированных лиц против 6986). Но, учитывая разницу в материальных затратах на содержание мест изоляции и вакцинацию, именно массовая вакцинация по-прежнему остается оптимальной мерой противодействия эпидемии натуральной оспы.

Все расчеты были проведены на сервере ГНЦ ВБ «Вектор».

В ГНЦ ВБ «Вектор» разрабатывается универсальная модель, описывающая динамику эпидемий (вспышек), вызываемых возбудителями особо опасных и социально значимых инфекций. В модели задается спектр основных мер противодействия, включающих вакцинацию, поиск и изоляцию/наблюдение больных лиц, контактных и лиц, подозрительных на заболевание, профилактический прием лекарственных средств, карантин. При расчетах могут задаваться параметры, определяющие специфичные для города (региона) ресурсы, ограниченность которых может влиять на интенсивность мер противодействия.

Проведенные расчеты с использованием модели эпидемии натуральной оспы позволяют ранжировать ресурсы по степени их «важности» для снижения

потерь от эпидемий: запас вакцины, скорость вакцинации, определяемая числом пунктов вакцинации, число мест изоляции больных, число медбригад для поиска больных и контактных и т.д.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бароян О.В., Рвачев Л.А. Математика и эпидемиология. М.: «Знание»; 1977. 63 с.
2. Бароян О.В., Рвачев Л.А., Иванников Ю.Г. Моделирование и прогнозирование эпидемий гриппа для территории СССР. М.: ИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи; 1977. 546 с.
3. Бароян О.В., Рвачев Л.А. Прогнозирование эпидемий гриппа в условиях СССР. *Вопр. вирусол.* 1978; 2:131–7.
4. Боев Б.В., Макаров В.В. Компьютерное моделирование и прогнозирование эпидемий птичьего гриппа. *Ветеринарная патол.* 2005; 3:49–58.
5. Бачинский А.Г. Математическая модель локальной эпидемии натуральной оспы с учетом мер противодействия и ресурсных ограничений. 30 лет после ликвидации оспы: исследования продолжаются. Кольцово: Информ-Экспресс; 2010. С. 253–80.
6. Серенко А.Ф. Заносные вспышки натуральной оспы. М.: «Медгиз»; 1962. 120 с.
7. Bachinsky A.G., Nizolenko L.Ph. A Universal Model for Predicting Dynamics of the Epidemics Caused by Special Pathogens. *BioMed Res. Int.* 2013; 2013:467078. doi:10.1155/2013/467078.
8. Outbreak of Ebola haemorrhagic fever, Uganda, August 2000 – January 2001. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2001; 76(6):41–8.

References

1. Baroyan O.V., Rvachev L.A. [Mathematics and Epidemiology]. M.: “Znanie”; 1977. 63 p.
2. Baroyan O.V., Rvachev L.A., Ivannikov Yu.G. [Modeling and Forecasting of the Flu Epidemics in the Territory of USSR]. M.; 1977. 546 p.
3. Baroyan O.V., Rvachev L.A. [Prognostication of flu epidemics in the environments of USSR]. *Vopr. Virusol.* 1978; 2:131–7.
4. Boev B.V., Makarov V.V. [Computer modeling and forecasting of avian flu epidemics]. *Veterinar. Patol.* 2005; 3:49–58.
5. Bachinsky A.G. [Computer model of local smallpox epidemics taking into account countermeasures and resource limitations. 30 years after smallpox eradication: investigations continue]. Koltsovo: Inform-Express; 2010. P. 253–80.
6. Serenko A.F. [Imported Onsets of Smallpox]. M.: “Medgiz”; 1962. 120 p.
7. Bachinsky A.G., Nizolenko L.Ph. A Universal Model for Predicting Dynamics of the Epidemics Caused by Special Pathogens. *BioMed Res. Int.* 2013; 2013:467078. doi:10.1155/2013/467078.
8. Outbreak of Ebola haemorrhagic fever, Uganda, August 2000 – January 2001. *Wkly Epidemiol. Rec.* 2001; 76(6):41–8.

Authors:

Bachinsky A.G., Nizolenko L.F. State Research Centre of Virology and Biotechnology “Vector”. Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: bachin@vector.nsc.ru

Об авторах:

Бачинский А.Г., Низоленто Л.Ф. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., п. Кольцово. E-mail: bachin@vector.nsc.ru

Поступила 20.01.14.

В.П.Ильин¹, Е.И.Андаев¹, С.В.Балахонов¹, Н.Д.Пакскина²

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ КЛЕЩЕВЫМ ВИРУСНЫМ ЭНЦЕФАЛИТОМ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2014 г., ОСНОВАННОЕ НА МНОГОФАКТОРНЫХ РЕГРЕССИОННЫХ МОДЕЛЯХ

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ²Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Прогнозирование заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом выполнено тремя методами. Показано, что в логарифмической модели согласованность вариабельности реальных значений обращаемости по поводу присасывания клещей и прогнозных в текущем квазицикле составляет 31,4 %. Построены многофакторные регрессионные модели обращаемости по поводу присасывания клещей и заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом. Выявлены наиболее значимые факторы, описывающие специфическую профилактику, акарицидные обработки, вирусофорность клещей, и оценен их вклад в прогноз. Максимальный вклад комплекса показателей при прогнозировании обращаемости по поводу присасывания клещей составил величину до 78 %, показателей: серопрофилактика – до 64 %, вакцинация – 11,5 %, акарицидные обработки – 4 %, вирусофорность клещей – 3 %. Показано, что увеличение площадей акарицидных обработок на 20 % может привести к снижению обращаемости на 5 %, в то время как снижение обработок на 20 % – к увеличению обращаемости почти на 7 %. Полученные оценки значимости лечебно-профилактических мероприятий необходимо учитывать при разработке территориальных профилактических программ на фоне обязательного применения акарицидных обработок.

Ключевые слова: заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом, логарифмическая и многофакторная регрессионные модели, наиболее информативные показатели, прогноз, профилактические мероприятия.

V.P.Ilin¹, E.I.Andaev¹, S.V.Balakhonov¹, N.D.Pakskina²

Morbidity Rate Forecasting for 2014 as Regards Tick-Borne Viral Encephalitis in the Territory of the Russian Federation Based on Multi-Factor Regression Models

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

Morbidity forecasting as regards tick-borne viral encephalitis has been carried out using three various methods. Demonstrated is the fact that variability consistency among the actual values accounting the numbers of seeking medical aid because of tick bites and estimated values within the current quasi-cycle is 31.4 %. Developed have been multi-factor regression models for medical aid encounters on the occasion of tick bites and for tick-borne viral encephalitis morbidity. Identified are the most significant factors which characterize specific prophylaxis, acaricide treatment, and abundance of infected ticks; estimated is the impact of the factors on the forecasting. Maximum level of interdependency has reached 78 %: in case with seroprevention it has come up to 64 %, vaccination – 11.5 %, acaricide treatments – 4 %, and abundance of infected ticks – 3%. It has been outlined that a 20 % extension of areas for acaricide treatments leads to a 5% decrement in medical aid encounters, while a 20% reduction – to an almost 7 % rise, respectively. Thus evaluation of the significance of the preventive and curative interventions is of a crucial importance while developing Territorial prevention programmes if undertaken along with consistent application of acaricide treatments.

Key words: tick-borne viral encephalitis morbidity, logarithmical and multi-factor regression models, most reporting values, forecasting, preventive interventions.

В серии работ по анализу и прогнозу заболеваемости населения клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ), выполненных сотрудниками Иркутского научно-исследовательского противочумного института, показано, что интенсивность эпидемического процесса КВЭ сохраняется на протяжении многих лет. Выявлены макроциклическая составляющая эпидемического процесса и наличие квазициклов, связанных с рядом причин, в числе которых увеличение численности переносчиков вируса КЭ в ранее существовавших очагах, а также расширение ареала обитания клещей и образование новых природных и антропоургических очагов [1, 4, 5].

Основная цель работы заключается в разработке многофакторных моделей развития заболеваемости

КВЭ и ее краткосрочном прогнозе на территории РФ в 2014 г. на основе данных сезонного мониторинга, действующего в системе Роспотребнадзора. Для обоснованности необходимо выявить ключевые факторы эпидемического процесса КВЭ и показать возможности их использования для прогноза заболеваемости на последующий год.

Материалы и методы

Изучение основных параметров эпидемического процесса КВЭ проводили по официальным данным, представленным в системе мониторинга природно-очаговых инфекций бактериальной и вирусной этиологии Роспотребнадзора. Статистический анализ,

моделирование и прогнозирование выполняли с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.1 (StatSoft inc., Russia) и Excel. Проверку нулевой статистической гипотезы о принадлежности сравниваемых групп одной генеральной совокупности проводили с применением модуля основных статистик параметрическими критериями t-Стьюдента и F-Фишера с учетом особенностей их применения и проблемы Фишера-Беренса. Уровень доверительной вероятности – 95 %. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Регрессионные модели строили с применением модуля многофакторной регрессии, используя пошаговый алгоритм (stepwise regression) выбора наиболее информативных показателей [2, 3, 6].

Результаты и обсуждение

В письме Роспотребнадзора «Об итогах надзора за КВЭ в эпидемический сезон 2013 года» № 10/14650-13-32 от 20.12.2013 г. дан подробный анализ обращаемости по поводу присасывания клеща (далее обращаемости) и заболеваемости КВЭ в сезоне 2013 г. Описаны показатели обращаемости, заболеваемости, летальности взрослого и детского населения. Приведено их сравнение с предыдущим годом. Однако сравнения носят описательный характер и требуют интервальных дополнений о тенденциях, статистической значимости показателей эпидемического процесса КВЭ. Так, обращаемость в 2011 г. по поводу присасывания клещей выросла на 26,6 % по отношению к 2010 г., в 2012 г. – снизилась на 23,7 % по отношению к 2011 г., в 2013 г. – снизилась на 5,5 % по отношению к 2012 г., т.е. два года относительного снижения следуют за повышением обращаемости. Статистически значимыми на 95 % уровне доверительной вероятности являются различия показателей обращаемости ($p < 0,05$), в то время как показатели заболеваемости не имеют статистически существенных различий ($p > 0,05$).

Для прогнозирования заболеваемости КВЭ необходимо изучение явления в динамике. Классическое представление динамического процесса основано на таких компонентах как: тренд, макроцикл, квазицикл и «случайная величина», характеризующие соответ-

ственно направление изменений, длительные и кратковременные циклы, а также текущие «случайные» колебания заболеваемости, как правило, описываемые неучтенными факторами. Для обоснованного выявления тренда необходимо использовать временные периоды, соизмеримые с биологическими циклами основных хранителей и переносчиков – иксодовых клещей как пусковых моментов заболевания КВЭ. По литературным данным и требованиям, предъявляемым к объему выборки, таким сроком является период не менее шести лет [4, 6].

Проведенный нами анализ динамики среднегодовых показателей обращаемости по поводу присасывания клещей на территории России за последние 6 лет показал следующие тенденции, представленные на рисунке. Среднегодовой показатель обращаемости составляет величину 454833 ± 6300 . Линейная экстраполяция значения среднегодового числа случаев обращений по поводу присасывания клещей на 2014 г. на территории РФ с 95 % доверительной вероятностью показывает попадание в интервал от 422000 до 487500.

Тренд обращаемости не является линейной функцией, и отклонения значений показателей в отдельные годы от линии тренда также носят нелинейный характер. Анализ закона распределения показал, что более адекватной является логарифмическая по сравнению с традиционно применяемыми линейной или второго порядка кривой оценки тренда [5]. Сам тренд, выраженный в логарифмической шкале за шестилетний промежуток времени, имеет тенденцию к возрастанию, т.е. увеличению числа обращений. Построенная логарифмическая модель в виде регрессионного уравнения приведена на рисунке. Прогнозное значение числа обращений с удаленным «максимально выскакивающим» значением в 2011 г. составляет величину 440800 ± 26700 . Коэффициент R^2 равен 31,4 %, что характеризует значимость временного тренда, описывающего годовой вклад в вариативность числа обращений по поводу присасывания клещей без учета каких-либо дополнительных факторов. Остальные 68,6 % изменчивости числа обращений могут определяться другими факторами, такими как численность имаго таежного клеща, их прокор-

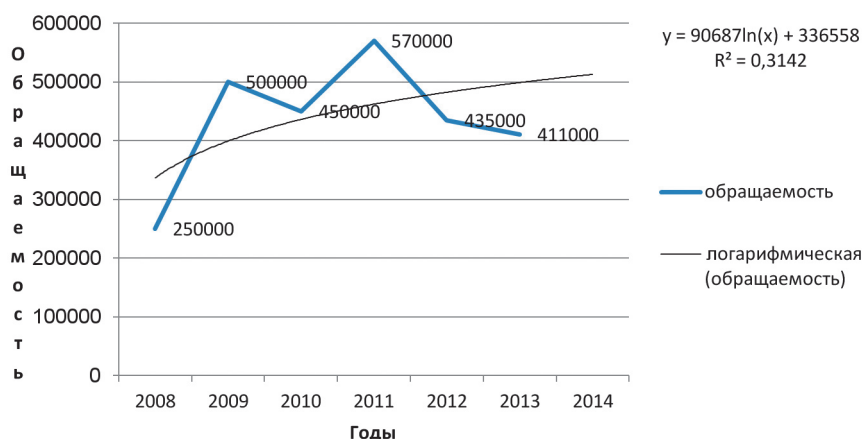


Рис. 1. Наблюдаемые и прогнозные (по логарифмическому закону) случаи обращений по поводу присасывания клещей

мителей, природно-климатическими условиями, масштабами акарицидных обработок, соблюдением мер индивидуальной профилактики при посещении среды обитания клещей и другими факторами, в том числе и неучтенными. Следует обратить внимание на то, чтобы среди неучтенных случайных факторов не было преобладающего, резко выделяющегося из всех неучтенных.

Итак, динамика эпидемического процесса в текущем квазицикле описывается логарифмической кривой, имеющей тенденцию незначительного роста. Если условия развития эпидемического процесса в 2014 г. останутся статистически эквивалентными (без значимых различий) условиям 2013 г., то наиболее вероятно, что число обращений попадет по методу экстраполяции средних значений в интервал от 422000 до 487500 или в интервал от 387500 до 495000 на основе построенной логарифмической кривой. Согласованность логарифмического прогноза за 6-летний период составляет 31,4 %.

Приведенные две прогнозные величины ожидаемой обращаемости не требуют знания сути явления, основаны только на центральных тенденциях показателей и не имеют статистически значимых различий. Построение многофакторной регрессионной модели, учитывающей особенности развития эпидемического процесса, требует дополнительных обоснований и сведений.

Обоснованием применения данных предыдущего года для прогнозирования в следующем году уровней обращаемости (либо заболеваемости) является доказательство отсутствия статистических различий у показателей эпидемического процесса. Проведенный сравнительный анализ показателей эпидемического процесса КВЭ в 2013 г. по сравнению с предыдущим годом в РФ показал, что существенно различается только один показатель – среднее число обращений по поводу присасывания клеща (Критерий Стьюдента $t=2,02$; $p<0,05$). Остальные показатели не имеют статистически значимых различий средних значений. Однако выявлены существенные различия вариабельности числа прививок у заболевших КВЭ (Критерий Фишера $F=9,1$; $p<0,05$), числа лиц, получивших серопротекцию из заболевших КВЭ ($F=3,8$; $p<0,05$), а также объемов акарицидных обработок ($F=4,4$; $p<0,05$).

С целью понимания роли отдельных факторов и

их комплексов, а также количественной оценки вклада в формирование заболеваемости КВЭ построили семейство многофакторных регрессионных моделей. Исходными данными служили сведения, представленные в базах мониторинга за последние три года по каждому из субъектов РФ. Условием включения субъекта в построение моделей явилось наличие данных об обращаемости по поводу присасывания клещей на территории субъекта федерации, сведений о вирусофорности, акарицидных обработках, вакцинации и серопротекции. Число наблюдений по сочетаниям различных показателей составило от 118 до 201 единицы. В табл. 1 приведены дескриптивные характеристики показателей, вошедшие в регрессионные модели заболеваемости КВЭ населения РФ. Из множества построенных моделей выбраны четыре, приведенные в табл. 2 многофакторные регрессионные модели с их оценками. Две из них описывают обращаемость по поводу присасывания клещей и две – заболеваемость КВЭ в абсолютных и относительных показателях соответственно.

На основании первой модели можно с обоснованностью в 78 % прогнозировать число случаев обращений по поводу присасывания клещей (критерий множественной детерминации $R^2=0,78$) по значениям трех выявленных наиболее информативных показателей: серопротекция и вакцинация из числа обратившихся (их вклад – 74 %), площади акарицидных обработок (вклад – 4 %). На основании третьей модели можно с обоснованностью в 68,1 % прогнозировать относительное число обращений по показателям прививок и серопротекции (вклад – 67 %) и показателям акарицидных обработок и вирусофорности клещей (вклад – 1,1 %). Вторая модель предназначена для прогнозирования числа больных КВЭ, построена на показателях числа обращений по поводу присасывания клещей (вклад – 35 %), акарицидные обработки (вклад – 6 %) и числа прививок (вклад – 1 %) с суммарной обоснованностью прогнозирования в 42 %. Прогнозирование относительного показателя заболеваемости КВЭ на основании четвертой модели, приведенной в табл. 2, можно выполнить с обоснованностью в 49 % по значениям прививок (вклад – 38 %), серопротекции (вклад – 8 %), вирусофорности (вклад – 2 %) и площадей акарицидных обработок (вклад – 1 %). Отметим, что обоснованность прогнозирования показателей забо-

Таблица 1

Дескриптивные характеристики показателей

Переменная	Среднее	Минимум	Максимум	Стандартное отклонение	Стандартная ошибка
Число случаев обращений	6781,86	1,00	56595,00	8348,55	565,44
Число больных КВЭ	54,24	1,00	538,00	80,94	6,89
Относительный показатель обращаемости	397,16	0,64	2114,01	392,56	26,59
Относительный показатель серопротекции	60,70	0,03	344,86	76,50	6,76
Относительный показатель вакцинации	182,35	0,04	1412,38	228,52	18,36
Относительный показатель заболеваемости	3,52	0,01	19,02	4,23	0,36
Площадь акарицидных обработок, га	1398,510	1398,510	17633,02	2142,781	151,1401
Вирусофорность	3,922	0,02	33,53	4,707	0,3745

Регрессионные модели обращаемости по поводу присасывания клещей и заболеваемости КВЭ

Зависимая переменная		Независимые переменные (предикторы)			
Наименование	Итоги регрессии	Наименование	Коэффициент регрессии	Множественный R ²	Вклад
Число обратившихся по поводу присасывания клещей	R ² = 0,78 F = 139,12 p < 0,05 Ст.ош. = 39381	Свободный член	2830,740		
		Серопрофилактика	0,816	0,60	0,60
		Вакцинация	2,911	0,74	0,13
		Площадь акарицидных обработок	-1,197	0,78	0,04
Число больных КВЭ	R ² = 0,42 F = 27,79 p < 0,05 Ст.ош. = 62,46	Свободный член	6,8029		
		Число обращений	0,0054	0,35	0,35
		Площадь акарицидных обработок	0,0139	0,41	0,06
		Вакцинация	-0,0091	0,42	0,01
Относительный показатель обращаемости по поводу присасывания клеща	R ² = 0,68 F = 61,16 p < 0,05 Ст.ош. = 227,4	Свободный член	92,2537		
		Относительный показатель прививок	2,9877	0,55	0,550
		Относительный показатель серопрофилактики	0,6894	0,67	0,115
		Площадь акарицидных обработок	-0,0159	0,67	0,007
		Вирусиформность	5,1162	0,68	0,004
Относительный показатель заболеваемости КВЭ	R ² = 0,49 F = 26,94 p < 0,05 Ст.ош. = 3,09	Свободный член	0,6517		
		Вакцинация	0,0265	0,38	0,38
		Относительный показатель серопрофилактики	0,0064	0,46	0,08
		Вирусиформность	0,1125	0,47	0,02
		Площадь акарицидных обработок	-0,0002	0,49	0,01

леваемости КВЭ несколько ниже обращаемости и составляет 42 и 49 % против 78 и 68 % соответственно. Разница составляет 36 и 19 %, что является весьма значимым.

Построенные модели предназначены для прогнозирования обращаемости и заболеваемости КВЭ в субъектах РФ по значениям наиболее информативных факторов и ориентированы на принятие управленческих решений в выборе стратегии применения профилактических мероприятий, имитируя различные варианты изменения факторов. Рекомендуем применять следующий алгоритм вычисления прогнозных значений заболеваемости КВЭ на основании известных значений факторов предыдущего года. Вначале выбрать средние значения всех факторов в модели, затем, изменяя один из управляемых факторов (вакцинация, серопрофилактика, акарицидные обработки, вирусиформность), вычислить прогнозное значение обращаемости (либо заболеваемости КВЭ в зависимости от выбранной модели). При проведении вычислений необходимо выбирать значения факторов, не выходящие за границы их доверительного интервала, что означает соблюдение условий построения моделей.

Приведем четыре примера, выполненные средствами Statistica 6.1, применения построенной модели 1 и прогнозирования числа обращений при различных значениях показателя площади акарицидных обработок и фиксированных средних значениях показателей серопрофилактики и вакцинации. Прогнозное значение среднего числа обращений, вычисленное по средним значениям параметров модели 1, совпадает с наблюдаемым значением – 6782 случая. При увеличении средних площадей обработки в субъектах РФ на 10 % обращаемость снизится на 2,52 % в доверительном интервале от 5900 до 7320.

Увеличение обработок на 20 % приведет к снижению обращаемости до 6443 случаев в интервале от 5725 до 7162. Снижение обработок на 10 % приведет к росту обращаемости на 2,42 % и составит 6946 случаев в интервале от 6240 до 7655 случаев. Снижение обработок на 20 % приведет к росту обращаемости на 6,66 % и составит 7234 случая в интервале от 7234 до 7960.

Прогноз обращаемости или заболеваемости КВЭ не может быть безусловным, ибо формируется под воздействием и в зависимости от многих факторов. Приведенные примеры являются вариантами прогноза на 2014 г. обращаемости при условиях, что значения вакцинации и серопрофилактики останутся на прежнем уровне, а площади акарицидных обработок будут изменяться: либо увеличиваясь, либо уменьшаясь от 10 до 20 %.

Итак, в общем случае, по данным авторов [1, 4, 5], для прогноза обращаемости по поводу присасывания клещей или заболеваемости КВЭ необходимо учитывать много факторов, которые могут сформироваться в будущем году на конкретной территории субъекта РФ. Однако, как показало моделирование, выполненное в наших исследованиях, из всего множества факторов можно выбрать от трех до четырех наиболее значимых и с обоснованностью от 68 до 78 % осуществить прогнозирование на 2014 г. обращаемости по поводу присасывания клещей, либо с обоснованностью от 42 до 49 % – заболеваемости КВЭ. Такими для прогнозирования наиболее информативными факторами из числа многих, представленных в базах данных мониторинга, являются сведения о вакцинации, серопрофилактике, акарицидных обработках и вирусиформности клещей. Так, если значения показателей останутся в доверительных границах 2013 г., то средняя обращаемость в субъекте РФ с зарегистрированной обращаемостью

по поводу присасывания клеща будет в интервале от 6611 до 7960 случаев. Реальные изменения каждого из показателей, влияющих на эпидемический процесс КВЭ в 2014 г., приведут к различным значениям показателей обращаемости и заболеваемости населения субъектов РФ. И если данные изменения не выйдут за границы доверительного интервала, то применение моделей будет корректно для прогнозирования обращаемости и заболеваемости КВЭ. Отметим, что наиболее значимыми для прогноза обращаемости по поводу присасывания клещей и заболеваемости КВЭ являются показатели вакцино- и серопротекции (до 74 %). Вклад неспецифических профилактических мероприятий при прогнозе значительно меньше и составляет величину до 4 %, но их проведение является объективно необходимым, ибо они входят в комплексную статистическую оценку значимости факторов.

Таким образом, использование построенного семейства моделей предоставляет возможность не просто вычислять прогнозные значения показателей заболеваемости, а прорабатывать различные прогнозные варианты профилактических мероприятий с оценкой последствий их применения и выбором наиболее рационального. Тем самым становится возможным создание системы оптимального распределения ограниченных ресурсов с оценкой их значимости для обращаемости по поводу присасывания клещей и заболеваемости КВЭ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балахонов С.В., Косилко С.А., Бренева Н.В., Мазепа А.В., Окунев Л.П., Климов В.Т., Никитин А.Я., Сидорова Е.А., Севостьянова А.В., Трушина Ю.Н., Мельникова О.В., Ярыгина М.Б., Худченко С.Э., Чеснокова М.В., Андаев Е.И. Эпидемическая ситуация по природно-очаговым инфекционным болезням бактериальной и вирусной этиологии в 2012 г. в Сибири и на Дальнем Востоке и прогноз ее развития на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:38–43.
2. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976. 598 с.
3. Ильин В.П. Методические особенности применения

t-критерия Стьюдента в медико-биологических исследованиях. *Бюл. ВСНЦ СО РАМН.* 2011; 5(81):157–60.

4. Никитин А.Я., Балахонов С.В., Андаев Е.И., Хазова Т.Г., Евтушок Г.А., Козловский Л.И., Иванова Е.В. Эпидемиологическая обстановка по клещевому энцефалиту, ее прогноз и основные направления профилактических мероприятий в регионах Сибири. *Пробл. особо опасных инф.* 2008; 4(98):21–4.

5. Носков А.К., Никитин А.Я., Пакскина Н.Д., Сидорова Е.А., Чеснокова М.В., Андаев Е.И. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации (2009–2011 гг.) и прогноз на 2012 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 1(111):30–3.

6. Халафян А.А. Statistica 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. М.: ООО «Бином-пресс»; 2008. 512 с.

References

1. Balakhonov S.V., Kosilko S.A., Breneva N.V., Mazepa A.V., Okunev L.P., Klimov V.T., Nikitin A.Ya., Sidorova E.A., Sevost'yanova A.V., Trushina Yu.N., Mel'nikova O.V., Yarygina M.B., Khudchenko S.E., Chesnokova M.V., Andae E.I. [Epidemiological situation on natural focal infectious diseases of bacterial and viral etiology in 2012 in the territory of Siberia and Far East, and prognosis for 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:38–43.
2. Zaks L. [Statistical Evaluation]. M.: 1976. 598 p.
3. Il'in V.P. [Methodological peculiarities of application of the Student's t-test in microbiological investigations]. *Bulletin of the East-Siberian Scientific Center, RAMS Siberian Branch.* 2011; 5(81):157–60.
4. Nikitin A.Ya., Balakhonov S.V., Andae E.I., Khazova T.G., Evtushok G.A., Kozlovsky L.I., Ivanova E.V. [Tick-borne encephalitis epidemiological situation, its prognostication and main trends of preventive measures in Siberian regions]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2008; 4(98):21–4.
5. Noskov A.K., Nikitin A.Ya., Pakskina N.D., Sidorova E.A., Chesnokova M.V., Andae E.I. [Epidemiological situation on the tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2009–2011 and prognosis for 2012]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 1(111):30–3.
6. Khalafyan A.A. [Statistica 6. Statistical analysis of data]. 3rd edition. M.; 2008. 512 p.

Authors:

Il'in V.P., Andae E.I., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russia. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

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

Об авторах:

Ильин В.П., Андаев Е.И., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Триллсера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Пакскина Н.Д. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, дом 18, строение 5 и 7.

Поступила 17.01.14.

С.А.Косилко, С.В.Балахонов, Н.В.Бренёва, М.В.Чеснокова, Е.И.Андаев, А.К.Носков, А.В.Мазепа,
З.Ф.Дугаржапова, Л.М.Михайлов, М.Б.Шаракшанов

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ЗООНОЗНЫМ, ПРИРОДНО-ОЧАГОВЫМ ИНФЕКЦИОННЫМ БОЛЕЗНЯМ В СИБИРИ И НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ В 2013 г. И ПРОГНОЗ НА 2014 г.

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

На основании информации, поступившей в Референс-центр по мониторингу природно-очаговых инфекций Иркутского научно-исследовательского противочумного института из учреждений Роспотребнадзора двенадцати субъектов Сибирского, девяти – Дальневосточного и трех – Уральского федеральных округов, представлен анализ заболеваемости природно-очаговыми и зоонозными болезнями в Сибири и на Дальнем Востоке за 9 месяцев 2013 г., отражен объем лабораторных исследований в регионе на сибирскую язву, бруцеллез, туляремию, иерсиниозы, лептоспирозы, боррелиозы, риккетсиозы и ряд вирусных инфекций. Паводок в Приамурье не оказал значимого влияния на эпидемиологическую ситуацию в 2013 г., однако в 2014 г. возможны эпизоотические и эпидемические осложнения, для предотвращения которых проводится усиленный комплекс профилактических мер. Сохраняется напряженная обстановка по туляремии в Ханты-Мансийском АО, по бруцеллезу в Республике Тыва и Забайкальском крае.

Ключевые слова: эпидемиологическая ситуация, природно-очаговые болезни, зоонозы, Сибирь, Дальний Восток.

S.A.Kosilko, S.V.Balakhonov, N.V.Breneva, M.V.Chesnokova, E.I.Andaev, A.K.Noskov, A.V.Mazepa,
Z.F.Dugarzhapova, L.M.Mikhailov, M.B.Sharakshanov

Epidemiological Situation on Zoonotic and Natural-Focal Infectious Diseases in Siberia and Far East in 2013; Prognosis for 2014

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

Based on the reference data on monitoring of natural-focal infections, collected from the institutions of the Federal service for surveillance in the sphere of consumers rights protection and human welfare, estimated are the morbidity rates for natural-focal and zoonotic diseases in Siberia and Far East Region within a period of 9 months, 2013. Established is the scope of laboratory investigations as regards anthrax, brucellosis, tularemia, yersiniosis, leptospirosis, borreliosis, rickettsiosis, and a number of viral infections. It is determined that high waters in the Amur River region did not have any considerable impact on the epidemiological situation in 2013, however in 2014 epizootic and epidemic complications are expected to take place, for the prevention of which enhanced package plan is being implemented. The situation on tularemia in the Khanty-Mansi Autonomous District, and brucellosis – in the Republic of Tyva and Trans-Baikal Region is still tense.

Key words: epidemiological situation, natural-focal infections, zoonotic infections, Siberia, Far East Region.

Природно-очаговые и зоонозные инфекционные болезни в Российской Федерации сохраняют свою актуальность, ежегодно выявляется более 20 тыс. больных. Анализ представленных данных проведен в рамках функционирования Референс-центра по мониторингу за природно-очаговыми болезнями и Регионального центра по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I–II групп патогенности [1]. Деятельность центров распространяется на 12 субъектов Сибирского (СФО), девять – Дальневосточного (ДФО) и три – Уральского федеральных округов (УФО). Зона ответственности составляет более 12 млн кв. км (74,8 % площади РФ), где проживают около 29 млн человек. За девять месяцев 2013 г. на курируемой территории выявлено 7696 больных зоонозными и природно-очаговыми инфекционными болезнями (таблица) с преобладанием «клещевых» инфекций (58,4 %) и туляремии (13,2 %).

Сибирская язва. В 2013 г. заболеваний животных и людей сибирской язвой не зарегистрировано. В 11 субъектах Сибири и Дальнего Востока учреждениями Роспотребнадзора выполнено 2416 лабораторных исследований клинического материала, смывов, почвы, других объектов окружающей среды, из них 50,7 % – в испытательном лабораторном центре (ИЛЦ) Иркутского противочумного института (494 пробы, 1253 исследования). Как и в предыдущие годы, преобладающим объектом исследования оставалась почва из СНП и сибиреязвенных скотомогильников (92,2 %). Следует отметить положительную тенденцию внедрения в деятельность практических учреждений молекулярно-генетического метода, удельный вес которого в структуре лабораторных исследований увеличился до 36,9 %. В одной пробе почвы сибиреязвенного захоронения с. Астраханка Ханкайского района Приморского края обнаружены ДНК и антиген возбудителя методами ПЦР и МФА, а затем изолирован

Территориальная приуроченность заболеваний людей зоонозными и природно-очаговыми инфекциями в 2013 г. в Сибири и на Дальнем Востоке

Нозологические формы	Количество случаев	Территории
Бруцеллез	38	Республика Тыва, Забайкальский край
Туляремия	761	Новосибирская, Кемеровская, Сахалинская области; Ханты-Мансийский АО, Еврейская АО
Лептоспироз	8	Алтайский, Забайкальский, Приморский, Хабаровский края; Кемеровская область
Псевдотуберкулез	624	Алтайский, Красноярский, Хабаровский, Забайкальский, Приморский, Камчатский края; Амурская, Иркутская, Тюменская, Кемеровская, Сахалинская, Томская, Новосибирская области; республики Бурятия, Хакасия; Ямало-Ненецкий АО, Ханты-Мансийский АО
Кишечный иерсиниоз	525	Алтайский, Хабаровский, Камчатский, Красноярский, Приморский края; Амурская, Магаданская, Кемеровская, Тюменская, Новосибирская, Сахалинская, Томская области; Республика Хакасия; Ханты-Мансийский АО, Ямало-Ненецкий АО
ГЛПС	64	Приморский, Хабаровский края; Амурская область; Ямало-Ненецкий АО, Ханты-Мансийский АО
Клещевой вирусный энцефалит	1289	Алтайский, Красноярский, Хабаровский, Забайкальский, Приморский края; Иркутская, Кемеровская, Сахалинская, Омская, Томская, Новосибирская, Тюменская области; республики Алтай, Бурятия, Хакасия, Тыва; Ханты-Мансийский АО; Еврейская автономная область
Иксодовый клещевой боррелиоз	1619	Алтайский, Красноярский, Хабаровский, Забайкальский, Приморский края; Иркутская, Кемеровская, Сахалинская, Омская, Томская, Новосибирская, Тюменская, Амурская области; республики Алтай, Бурятия, Хакасия, Тыва, Саха; Ханты-Мансийский АО, Еврейская АО
Клещевой риккетсиоз	1522	Алтайский, Красноярский, Хабаровский, Забайкальский, Приморский края; Иркутская, Кемеровская, Томская, Новосибирская, Тюменская, Амурская области; республики Алтай, Бурятия, Хакасия, Тыва; Ханты-Мансийский АО, Еврейская АО
ГАЧ	13	Тюменская область, Ханты-Мансийский АО
МЭЧ	4	Приморский край, Тюменская область

атипичный штамм *Bacillus anthracis*.

Несмотря на отрицательные результаты эпизоотолого-эпидемиологических обследований зоны паводка Приамурья, не исключается возможность возникновения осложнений по сибирской язве в весенне-летний период 2014 г., что диктует необходимость усиления надзора на пострадавших территориях Амурской области, Хабаровского края и Еврейской АО. Также сохраняется потенциально высокий риск возникновения заболеваний скота и людей в центральных и южных районах Республики Тыва, где отмечается высокая плотность стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов.

Бруцеллез. В 2013 г. зарегистрировано 38 случаев бруцеллеза у людей, что ниже 2012 г. в 1,97 раза. Неблагополучными остаются Республика Тыва и Забайкальский край (7 и 13 случаев, соответственно, из которых два среди детей до 14 лет). В Забайкальском крае зарегистрировано шесть неблагополучных пунктов по бруцеллезу, из них пять – крупного рогатого скота и один – мелкого рогатого скота. Ухудшение эпидемиологической ситуации по бруцеллезу в Забайкальском крае началось в 2011 г., когда было зарегистрировано 10 случаев впервые выявленного бруцеллеза, в 2012 г. число заболеваний увеличилось до 17. Несанкционированный ввоз больного бруцеллезом скота из сопредельных неблагоприятных по бруцеллезу территорий, отсутствие

учета и маркировки скота, дарение скота без обследования, развитие частной и фермерской форм ведения хозяйства способствуют формированию условий для возникновения эпидемических осложнений в этом регионе. В Республике Тыва, несмотря на превышение общероссийского показателя заболеваемости, с 2011 г. отмечается уменьшение количества случаев впервые выявленного бруцеллеза, но наличие очагов бруцеллеза МРС в республике сохраняет высокий эпидемический потенциал этой территории.

Туляремия. На 8 октября 2013 г. в регионе официально зарегистрировано 1023 случая туляремии: 1014 случаев в Ханты-Мансийском АО (47,41 ‰), четыре в Кемеровской (0,15 ‰), один в Новосибирской (0,04 ‰) областях, по два случая в Сахалинской области (0,4 ‰) и Еврейской АО (1,1 ‰).

В сибирском и дальневосточном регионах бактериологическими и серологическими методами исследовано 12129 мелких млекопитающих, выделено девять культур возбудителя (Республика Алтай – шесть, Ханты-Мансийский АО – три), 1822 пробы воды из открытых водоемов (0,2 % положительных). Исследованы серологическими методами 27288 экз. (550 проб) иксодовых клещей – 11,3 % положительных, 13829 экз. (276 проб) кровососу-

щих членистоногих – 4,3 % положительных, 1739 погадок птиц – 4,2 % положительных, 256 гнезд грызунов – 2,0 % положительных и 407 проб ила с отрицательным результатом.

Эпидемическое осложнение в виде язвенно-бубонной формы туляремии в Ханты-Мансийске и Ханты-Мансийском районе возникло среди городских жителей в конце августа 2013 г. в результате реализации трансмиссивного пути передачи. Диагноз подтвержден выделением от больных шести культур *Francisella tularensis* и обнаружением туляреминого антигена в РПГА у 49 заболевших. Причинами, обусловившими возникновение вспышки, послужил комплекс климатических, природных, антропогенных и социальных факторов, сложившихся в 2013 г. Следует отметить, что на протяжении последних лет в регионе наблюдались предпосылки к возникновению неблагополучия по этой инфекции [1]. Высокий процент (53,6 %) серопозитивных мелких млекопитающих, отловленных осенью в Ханты-Мансийском АО, свидетельствует о продолжающейся эпизоотии и требует дальнейшего мониторинга эпидемиологической ситуации с привлечением дополнительных методов лабораторной диагностики и усилением профилактических мероприятий.

Лептоспирозы. Выявлено восемь больных, из них три в Кемеровской области, два в Приморском крае и по одному в Алтайском, Забайкальском, Хабаровском краях. Общий показатель заболеваемости составил 0,03 ‰, что в пять раз ниже общероссийского уровня. Лабораторные исследования на лептоспироз выполняются преимущественно серологическими методами (59,81 %), по сравнению с 2012 г. есть тенденция к увеличению применения ПЦР (29,98 %) и бактериологического анализа (9,51 %). Всего выполнено 7381 исследование, из них с положительным результатом 8,75 %. При обследовании территории Еврейской АО выявлена высокая инфицированность мелких млекопитающих патогенными лептоспирами (79,2 %), что требует углубленного эпизоотолого-эпидемиологического обследования, организованного на постоянной основе.

Псевдотуберкулез и кишечный иерсиниоз. В 2013 г. зарегистрировано 624 случая псевдотуберкулеза в 17 субъектах Сибирского, Дальневосточного и Уральского федеральных округов с преобладанием заболевших среди городского населения (65,1 %) и детей до 14 лет (54,4 %). Кишечный иерсиниоз зарегистрирован у 525 больных в 15 субъектах, заболеваемость городского населения составила 82,5 %, детей – 46,1 %.

Учреждениями Роспотребнадзора бактериологическим методом из испражнений больных людей выделено 16 культур *Yersinia pseudotuberculosis* (0,53 %) и пять *Yersinia enterocolitica* (0,19 %). Серологическим методом получено 3,1 и 3,54 % положительных результатов, при исследовании генодиагностическим (ПЦР) методом специфический фрагмент ДНК псевдотуберкулеза обнаружен в

одном случае (0,63 %) и кишечного иерсиниоза – в 10 (6,4 %). Положительные результаты бактериологических исследований мелких млекопитающих и объектов окружающей среды на псевдотуберкулез составили 0,17 и 0,044 %, на кишечный иерсиниоз – 0,94 и 0,49 %. ДНК возбудителя псевдотуберкулеза обнаружена в двух пробах (0,55 %) от мелких млекопитающих и в двух (0,8 %) объектах окружающей среды, кишечного иерсиниоза – в 104 (30,5 %) и 142 (38,6 %) пробах.

В 2014 г. значительного ухудшения эпидемиологической ситуации не ожидается, заболеваемость сохранится в пределах многолетних показателей, не исключается возникновение локальных эпидемических вспышек в детских организованных коллективах.

Бешенство. В 2013 г. в Омской области из 110 проб от диких млекопитающих, исследованных на наличие антигена вируса бешенства, четыре оказались положительными. В Республике Тыва бешенство выявлено у двух диких (лисицы) и двух домашних (собаки) животных.

Иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ). В 2013 г. наблюдается снижение заболеваемости ИКБ на 11,6 % по сравнению с 2012 г., кроме республик Бурятия и Тыва, где заболеваемость увеличилась в 2,3 и 1,7 раза соответственно. Всего зарегистрировано 1619 случаев (дети до 14 лет – 161), показатель заболеваемости 5,9 ‰. В основном поражалось городское население (73 %). В СФО заболело 1355 человек, диагноз лабораторно подтвержден в 62 %. Заболеваемость в Республике Тыва – 33,27 ‰, Новосибирской – 12,13 ‰, Томской областях – 13,61 ‰, Красноярском крае – 9,49 ‰. В ДФО выявлено 203 случая ИКБ, 45 % лабораторно подтверждены. На фоне общего снижения заболеваемости по ДФО в Амурской области заболеваемость возросла в 4,5 раза (1,1 ‰). На курируемых территориях УФО выявлен 61 случай ИКБ, 78 % подтверждены лабораторно. Эпидемиологическую обстановку в округе определяет Тюменская область – 52 случая (3,82 ‰).

Серологическими методами исследовано 10487 сывороток крови людей, 421 проба от мелких млекопитающих и 3954 пробы от кровососущих членистоногих, антитела выявлены в 20 % проб от людей, 0,9 % – от млекопитающих, антиген – в 19 % проб от членистоногих. Методом ПЦР исследованы 13550 проб от клещей и 2706 от людей, из них ДНК патогенных боррелий выявлена в 20,0 и 5,0 % соответственно.

В целом в 2014 г. увеличения заболеваемости ИКБ не ожидается, однако не исключается осложнение эпидемиологической ситуации на отдельных административных территориях, обусловленных благоприятными природно-биотическими условиями (Республика Тыва, Новосибирская, Томская области, Красноярский край).

Клещевой риккетсиоз (КР). Зарегистрировано 1522 случая в 17 субъектах из 24, что на 111 забо-

левших меньше, чем за аналогичный период 2012 г. В структуре заболевших 25 % составляют дети до 14 лет. Среди больных доминируют сельские жители – 62 %. В СФО выявлено 1250 (12,0 ‰) больных в 11 субъектах. Неблагополучными территориями являются республики Алтай (64,5 ‰), Тыва (25,3 ‰) и Алтайский край (22,27 ‰). В четырех субъектах ДФО выявлено 255 больных (5,9 ‰). Традиционно большая часть заболевших приходится на Хабаровский (11,84 ‰) и Приморский (3,6 ‰) края. В трех субъектах УФО выявлено 17 больных.

Серологическими методами на наличие антигена возбудителя КР исследовано 258 проб членистоногих с отрицательным результатом (Алтайский край, Республика Алтай), 317 проб от грызунов, из них 4,4 % положительных (Алтайский край, Хабаровская ПЧС) и 1781 проба на антитела от людей (13,4 % положительных). Методом ПЦР исследовано 1525 клещей, ДНК возбудителя КР обнаружена в 270 образцах (17,7 %), в 424 сыворотках крови людей, из них 6 (1,4 %) положительных, в 849 пробах от мелких млекопитающих, из них 31 положительная (3,6 %) (Хабаровский край, Камчатский край, Тюменская область). Кроме того, в Хабаровской ПЧС проведено бактериологическое исследование 37 образцов мелких млекопитающих, из них 1 (2,7 %) с положительным результатом.

В 2014 г. сохранится напряженная ситуация в республиках Алтай и Тыва, а также в Алтайском крае, на остальных ухудшения эпидемиологической ситуации по КР не ожидается.

Моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ). Всего на территории Сибири и Дальнего Востока в течение 2013 г. зарегистрировано четыре случая заболевания МЭЧ: один в Приморском крае (0,05 ‰) и три в Тюменской области (0,22 ‰). В СФО методом ПЦР исследован 2131 экз. клещей индивидуально и 2529 – пулами, из них ДНК эрлихий обнаружена в 5 и 3 % случаев соответственно, а также 230 проб от людей с отрицательным результатом. Антитела к возбудителю эрлихиоза обнаружены в 13 (1,09 %) из 1184 сывороток крови людей. В ДФО методом ПЦР исследовано 1659 клещей пулами (всего 400 проб), 8 % из них положительные и 710 – индивидуально, два (0,2 %) из которых положительные. ДНК эрлихий обнаружены в 12 из 235 проб мелких млекопитающих (Хабаровская ПЧС). В Тюменской области исследовано ПЦР 383 клеща, три (0,7 %) с положительным результатом.

Гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ). Всего в 2013 г. зарегистрировано 13 случаев заболевания, в том числе 11 в Тюменской области (0,8 ‰) и два в Ханты-Мансийском АО (0,1 ‰). В СФО серологическими методами исследовано 1668 сывороток крови людей, антитела обнаружены в 171 (10,2 %), методом ПЦР изучен 2151 экземпляр клещей индивидуально (2,8 % положительных) и 2529 пулами (3,0 % положительных). Клинический материал методом ПЦР исследовался в Республике

Хакасия (209 проб, из них две положительные), в Красноярском крае – 22 пробы с отрицательным результатом. В ДФО методом ПЦР исследовано 404 пула членистоногих (1659 экземпляров) – ДНК анаплазм выявлена в 7,9 % (Приморский край) и 710 клещей индивидуально (Амурская область, Еврейская АО) – 3,6 % положительных. Методом ИФА исследовано 28 сывороток крови людей (Хабаровский край), из них 0,7 % положительных. На Хабаровской ПЧС методом ПЦР исследовано 14 проб от людей, положительных не обнаружено и 185 проб от мелких млекопитающих, 7 % из которых с положительным результатом. В Тюменской области УФО молекулярно-генетическими методами исследовано 383 клеща с одним положительным результатом (0,2 %) и две пробы от людей, ДНК анаплазм не выявлена.

Заболеваемость МЭЧ и ГАЧ в настоящее время имеет спорадический характер проявления, однако в связи с расширением лабораторных исследований клинического материала возможен статистический рост уровня пораженности населения.

Клещевой вирусный энцефалит (КВЭ). Всего в 2013 г. зарегистрировано 1289 (5,1 ‰) случаев. В СФО зарегистрировано 1199 случаев заболеваний во всех субъектах со средним показателем 7,02 ‰. Как и в прошлом году, отмечается снижение уровня заболеваемости, кроме Республики Хакасия, где она возросла в 1,5 раза. Неблагополучными по КВЭ остаются Красноярский край (15,14 ‰), Томская область (13,52 ‰), республики Хакасия (10,9 ‰), Алтай (10,4 ‰) и Тыва (9,82 ‰). В ДФО зарегистрировано 29 случаев заболевания (0,68 ‰) на четырех территориях: Приморский край (1,35 ‰), Еврейская АО (1,1 ‰), Сахалинская область (0,2 ‰) и Хабаровский край (0,07 ‰). Показатель заболеваемости на курируемых территориях УФО составил 2,18 ‰.

Серологическими методами на обнаружение антигена и антител к вирусу КЭ исследовано 38642 пробы, из них от людей – 13540, кровососущих членистоногих – 24343 (4635 – пулов и 19708 – индивидуально), мелких млекопитающих – 679, сельскохозяйственных животных – 80. Антиген вируса обнаружен в 10,8 % проб от людей и в 3,9 % от клещей, исследованных индивидуально, и 2,8 % – исследованных пулами. Антитела к вирусу КВЭ обнаружены в 32,1 % проб от людей и 3,1 % проб от мелких млекопитающих. Методом ПЦР исследовано 8022 пробы, РНК вируса обнаружена в 7,9 % проб от людей и 2,8 % проб от кровососущих членистоногих. Вирусологическими методами исследовано 9 (3 положительные) проб от людей и 169 (20 положительных) от членистоногих в Омской и Новосибирской областях, Хабаровском крае (Хабаровская ПЧС).

Пораженность населения КВЭ в 2014 г. сохранится на уровне среднесезонного значения, но при благоприятных абиотических и биотических факторах и снижении объема профилактических мероприятий возможен подъем заболеваемости населения.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС). Зарегистрировано 64 случая ГЛПС, из них 61 выявлен в ДФО и три на территории УФО в Ханты-Мансийском (один случай – 0,06 ‰) и Ямало-Ненецком АО (два случая – 0,37 ‰). Несмотря на сложную эпизоотическую ситуацию в зоне паводка в Приамурье роста заболеваемости в регионе не отмечалось. Наибольшее количество заболевших выявлено в Приморском крае – 43 (2,32 ‰), в Хабаровском крае – 16 больных (1,19 ‰), среди них один ребенок до 14 лет, два – в Амурской области (0,24 ‰). В основном болеют городские жители (81 %).

Всего выполнено 10159 лабораторных исследований на хантавирусную инфекцию, из которых 628 положительных (6,2 %), преобладает серологический метод – 81 %. Антиген хантавирусов обнаруживался в 0,5 % из 1903 проб диких млекопитающих. В 829 пробах кровососущих членистоногих антиген хантавирусов не обнаружен. Из 3769 проб от мелких млекопитающих антитела к хантавирусам обнаружены в 10 % (321 в Хабаровском крае, 24 – Омской области, 35 – Приморском крае). Из 1446 проб от людей антитела к хантавирусам обнаружены в 6 % (49 в Приморском, 32 – Хабаровском крае, 2 – Кемеровской области, по 1 в Тюменской области и Республике Хакасия). РНК хантавирусов обнаружена в 7,7 % (Хабаровский край) из 971 пробы от мелких млекопитающих. Вирусологический метод применялся только на территории Хабаровского края, результат отрицательный.

Заболеваемость ГЛПС останется в 2014 г. на среднемноголетнем уровне.

Таким образом, ситуация в 2013 г. по зоонозным, природно-очаговым инфекционным болезням в зоне ответственности Референс-центра оставалась напряженной и соответствовала прогнозу по данным мони-

торинга 2012 г. [1]. Объем лабораторных исследований в 2013 г. существенно возрос с увеличением доли экспрессных, в том числе молекулярно-генетических методов. Последствия паводка в Приамурье могут привести к ухудшению ситуации по природно-очаговым и зоонозным инфекциям в 2014 г. как непосредственно в районах, подвергшихся затоплению, так и на прилегающих территориях. Это диктует необходимость усиления эпизоотолого-эпидемиологического надзора на курируемой институтом территории и расширения лабораторного мониторинга.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балахонов С.В., Косилко С.А., Бренёва Н.В., Мазепа А.В., Окунев Л.П., Климов В.Т., Никитин А.Я., Сидорова Е.А., Севостьянова А.В., Трушина Ю.Н., Мельникова О.В., Ярыгина М.Б., Худченко С.Э., Чеснокова М.В., Андаев Е.И. Эпидемиологическая ситуация по природно-очаговым инфекционным болезням бактериальной и вирусной этиологии в 2012 г. в Сибири и на Дальнем Востоке и прогноз ее развития на 2013 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 1:38–43.

References

1. Balakhonov S.V., Kosilko S.A., Breneva N.V., Mazepa A.V., Okunev L.P., Klimov V.T., Nikitin A.Ya., Sidorova E.A., Sevost'yanova A.V., Trushina Yu.N., Mel'nikova O.V., Yarygina M.B., Khudchenko S.E., Chesnokova M.V., Andaev E.I. [Epidemiological situation on natural focal infectious diseases of bacterial and viral etiology in 2012 in the territory of Siberia and Far East, and prognosis for 2013]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 1:38–43.

Authors:

Kosilko S.A., Balakhonov S.V., Breneva N.V., Chesnokova M.V., Andaev E.I., Noskov A.K., Mazepa A.V., Dugarzhapova Z.F., Mikhailov L.M., Sharakshyanov M.B. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Об авторах:

Косилко С.А., Балахонов С.В., Бренёва Н.В., Чеснокова М.В., Андаев Е.И., Носков А.К., Мазепа А.В., Дугаржапова З.Ф., Михайлов Л.М., Шаракшианов М.Б. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Поступила 17.01.14.

Т.В.Козлова¹, Э.М.Дорофеев¹, О.Л.Смольянинова¹, В.П.Попов²**РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ЧИСЛЕННОСТЬ И ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ КЛЕЩА *IXODES RICINUS* НА ТЕРРИТОРИИ ТУЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ**¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Тульской области», Тула, Российская Федерация;²ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

На основании анализа материалов о распространении и численности иксодовых клещей на территории Тульской области в 1998–2012 гг. получены новые данные о расширении ареала *I. ricinus*. В качестве ландшафтной основы для изучения закономерностей пространственного размещения этого вида использованы результаты ботанико-географического районирования в регионе. Выявлены территории с низкими, средними и высокими показателями численности этого вида. В последнее десятилетие клещи *I. ricinus* стали встречаться не только в лесной, но и в лесостепной зоне. Наиболее благоприятные для него биотопы располагаются в смешанных лесах Приокского и широколиственных лесах Засечного районов. В лесостепи оптимальные биотопы сосредоточены в нагорных и остепненных дубравах на юге Юго-Восточного района. Причины этого явления связаны с ростом численности клещей этого вида в оптимальных для обитания ландшафтах, уменьшением площадей сельскохозяйственных угодий и зарастанием их кустарником и лесом. Средняя численность *I. ricinus* в лесной зоне составила 39,4, в лесостепной – 23,7 экз./фл.-км. Определены потенциальные участки риска по клещевым природно-очаговым инфекциям, циркуляция и передача возбудителей которых обеспечивается *I. ricinus*, что, в свою очередь, является основанием для проведения целевого эпизоотологического обследования и регламентации профилактических мероприятий.

Ключевые слова: иксодовые клещи, ареал, численность, природно-очаговые инфекции, клещевые инфекции.

T.V.Kozlova, E.M.Dorofeev, O.L.Smol'yatinova, V.P.Popov

Distribution, Abundance, and Epidemiological Significance of *Ixodes ricinus* Ticks in the Territory of the Tula Region

Center of Hygiene and Epidemiology in the Tula Region, Tula, Russian Federation; Plague-Control Center, Moscow, Russian Federation

Based on the analysis of the information concerning distribution and abundance of *Ixodidae* ticks in the territory of the Tula Region (1998–2012), obtained have been the new data on the expansion of *I. ricinus* habitat. Results of phyto-geographical zoning of the region have served as a landscape base for investigation of regularities as regards spatial distribution of the species. Specified have been the territories with low, medium, and high population density rate. Biotopes with the most favorable environmental conditions for the species are situated in the mixed woods of the Prioksky region and broad-leaved forests – of the Zasechny one. As for the forest-steppe areas, optimum biotopes are localized in the highland and steppified oakwoods in the south of South-Eastern Region. Thus it has been established that in the recent decade *I. ricinus* ticks can be found not only in the forest areas, but in the forest-steppe ones too. This may be related to the increase in their numbers under favorable environmental conditions, reduction of farming lands, and shrub invasion. Average value for *I. ricinus* numbers in the forest area reaches 39.4 specimen/flag-kilometer; in the forest-steppe zone – 23.7 specimen/flag-kilometer. Identified have been potentially hazardous territories as regards natural-focal tick-borne infections, the agent circulation and transmission of which is sustained by *I. ricinus*. The finding in its turn sets the grounds for carrying out specific epizootiological surveillance and regulation of preventive measures.

Key words: *Ixodidae* ticks, habitat area, abundance, natural-focal infections, tick-borne infections.

Изучение фауны иксодовых клещей, их распространения, численности, эпизоотологического и эпидемиологического значения в краевой инфекционной патологии на территории Тульской области началось в 1943 г. и продолжается до настоящего времени. Фоновыми видами здесь являются три вида пастбищных иксодовых клещей: *Dermacentor reticulatus* Herm., *Ixodes ricinus* L., *I. trianguliceps* Bir. и один нордовый – *I. crenulatus* Koch. Доминирующим и повсеместно распространенным является клещ *D. reticulatus*. В сборах на флаг его индекс доминирования (ИД) достигает 97,3 %, на скоте – 59,0 %, средние многолетние весенние показатели численности на флаг – 86 экз. флаго-километр (экз./фл.-км). Однако наиболее значимым в эпидемиологическом отношении видом является лесной клещ *I. ricinus*, показатели численности которого ниже и подвержены значительным колебаниям (от 0,1 до 60,0 экз./фл.-км) в зависимости от территориальной приуроченно-

сти. Данный вид является хранителем и эффективным переносчиком возбудителей целого ряда опасных инфекционных болезней: туляремии, клещевого весеннего энцефалита (КВЭ), иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ), эризипелоида, пастереллеза, гранулоцитарного анаплазмоза.

В силу приуроченности *I. ricinus* к лесной зоне в границах Тульской области располагается южная часть его ареала, где условия обитания далеки от оптимальных. В связи с этим в сравнении с другими облесенными регионами Тульская область длительное время относилась к территориям с невысокой численностью *I. ricinus*. В лесной природной зоне в 50–60-е гг. XX в., на фоне подъема численности клещей, самые высокие показатели их обилия на животных в период максимальной весенней активности отмечались в западной части области в лесах, прилегающих к засекам в границах Белевского и Суворовского районов (индекс обилия более 10),

средние – в западной и центральной частях засечных лесов (ИО 1–10), низкие – в северо-западной и восточной части области (ИО менее 1).

Лесостепная зона области до конца прошлого столетия была практически свободна от *I. ricinus* [3, 4]. Единичные его находки были зарегистрированы в лесах Богородицкого и Плавского районов, в дубравах по р. Красивая Меча Ефремовского района, около с. Волчья Дубрава Тёпло-Огарёвского и п. Сечено Киреевского районов. В соответствии с таким распределением клещей планировали и проводили работу по профилактике природно-очаговых инфекций с трансмиссивным механизмом передачи. С 1998 г., на фоне значительного роста численности *I. ricinus*, граница его ареала начала смещаться к югу. В этой связи большое внимание было уделено изучению этого важного в эпидемиологическом отношении вида. Уточнение ареала и особенностей пространственного размещения, наблюдение за динамикой численности позволили определить территории потенциального риска заболеваний клещевыми инфекциями среди населения, своевременно и целенаправленно проводить профилактические мероприятия.

Материалы и методы

Изучение ареала *I. ricinus* проводили на основании материалов акарологических сборов со скота (1949–1985 гг.) и на флаг в природных биотопах (1976–2012 гг.) в 23 административных районах Тульской области. Данные сборов дополнялись сведениями, полученными в 1998–2012 гг. при обращении населения по поводу присасывания клещей.

В качестве ландшафтной основы для анализа пространственного размещения клеща нами было использовано ботанико-географическое районирование Тульской области [2, 6]. Численность *I. ricinus* в разных ботанико-географических районах (БГР) определяли в период 1998–2004 и 2010–2012 гг. Единицей учета служило число клещей на 1 экз./фл.-км. Определяли также численность мелких млекопитающих. Постоянные учеты проводили на стационарах, расположенных в центральной и восточной частях широколиственных лесов (Засечный БГР), и пункте многолетних наблюдений (ПМН) в северо-западной части области в хвойно-широколиственном лесу (Приокский БГР). За сезон на стационаре проходили по 8–15 учетных километров. Разница во времени между учетами на разных стационарах или ПМН составляла 0,5–3 сут. Выборочные разовые исследования численности осуществляли в лесных массивах восточной части лесной зоны (Северный лесной БГР) и южной части лесостепной зоны (Юго-Восточный лесостепной БГР). Клещей учитывали в период их весенней активности (апрель–май).

Результаты и обсуждение

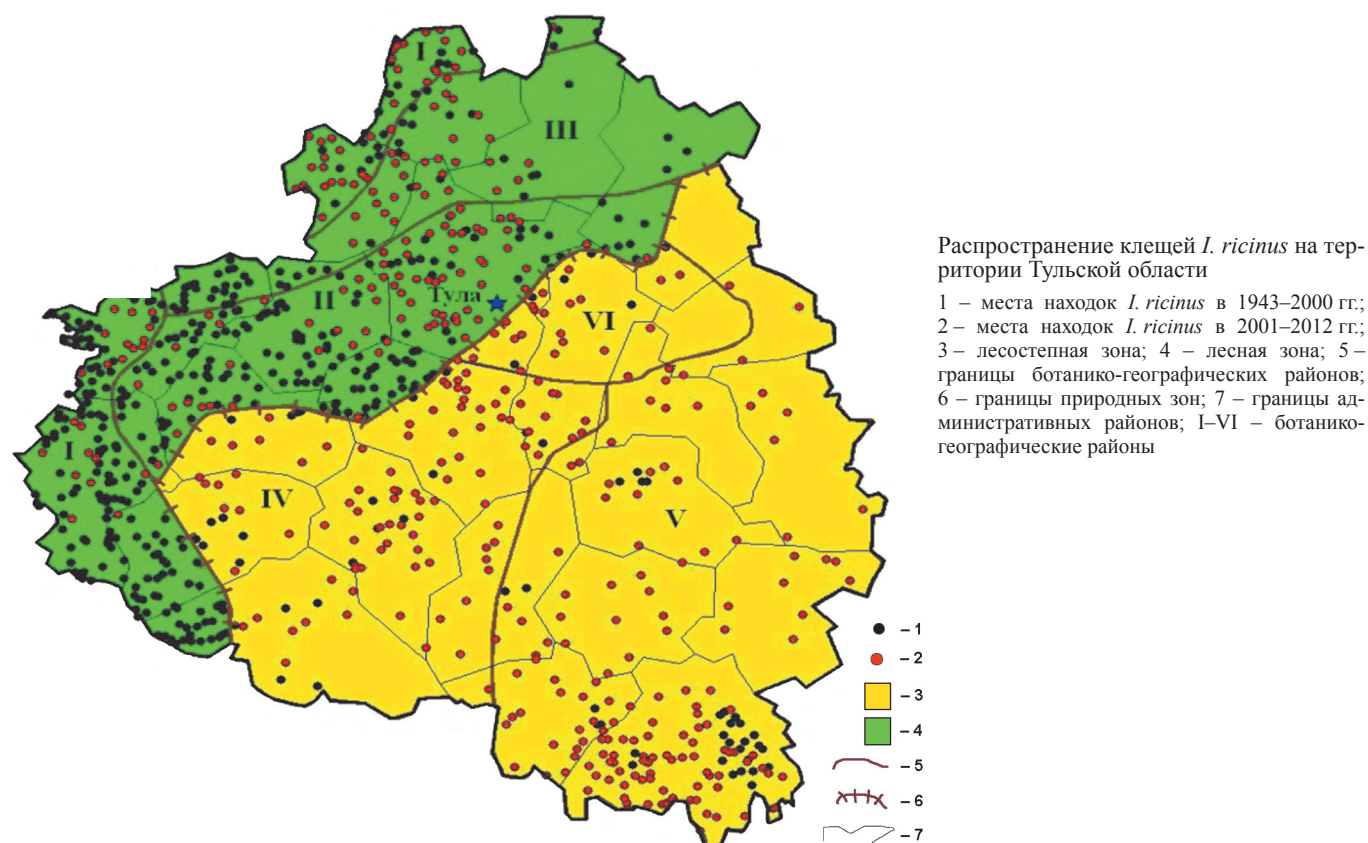
Рассматривая динамику биотопического распределения клеща *I. ricinus*, необходимо отметить,

что в прошлом широколиственные леса занимали значительно большую территорию современной Тульской области. На северо-западе они постепенно переходили в смешанные леса «таежного» вида, на юге и юго-востоке чередовались со степными сообществами, образуя лесостепь. Только на крайнем юго-востоке преобладали луговые степи. К настоящему времени, вследствие развития земледелия большая часть лесов сведена и занята землями сельскохозяйственного назначения (71 %). Лесной фонд составляет всего 14,1 % площади всей области, или 291,3 тыс. га, из которых на покрытую лесом площадь приходится 266,1 тыс. га. Большая часть этой площади (86,8 %) занята лиственными лесами вторичного происхождения и только 13,2 % – хвойными. Распределяются леса на территории области неравномерно. В северо-западных районах они занимают до 28 % площади, на юго-востоке – около 3–5 % в виде отдельных островов в долинах и по балкам [5]. Широколиственные породы представлены дубом черешчатым, липой мелколистной, кленом платановидным, вязом шершавым, ясенем обыкновенным. Мелколиственные леса состоят из осины, березы повислой и пушистой, ольхи черной и, редко, серой. В составе смешанных лесов, помимо указанных лиственных пород, произрастают ель европейская, сосна лесная. В искусственных насаждениях иногда представлена лиственница сибирская.

На территории Тульской области выделено шесть ботанико-географических районов, отличающихся друг от друга по ряду признаков: Приокский (I), Засечный (II), Северный лесной (III), Центральный лесостепной (IV), Юго-Восточный лесостепной (V), Верхнедонской антропогенный (VI) [2, 6]. В связи с ландшафтными особенностями природных зон и БГР, несущих следы длительного антропогенного воздействия [1], плотность мест находок клещей и характер их распределения значительно различаются.

Изучение причин этого процесса необходимо для выявления закономерностей в распределении и свойствах природных очагов инфекционных заболеваний, оценки потенциального риска заражения людей в различных БГР, достоверного прогнозирования эпизоотологической и эпидемиологической ситуации.

На основании результатов проведенных наблюдений показано, что в последнее десятилетие клещи *I. ricinus* распространены не только в лесной, но и в лесостепной зоне и встречаются в пределах всех ботанико-географических районов области. В лесной зоне площадью около 9,8 тыс. км² выявлено к настоящему времени 548 точек, в лесостепной зоне площадью 15,9 тыс. км² – 313 (рисунок). Однако распределение их мест обитания в пределах зон и БГР неравномерно. Наиболее широко они встречаются в лесной зоне: в Приокском БГР, западной и центральной части Засечного БГР. Заселяя в значительно меньшей степени западную часть Северного лесного, *I. ricinus* практически отсутствует в его восточной части. В лесостепной зоне наибольшее количество мест обитания клещей сосредоточено на юге Юго-



Восточного лесостепного БГР.

В лесной зоне благоприятные для обитания клещей биотопы сосредоточены в зоне смешанных лесов Приокского и широколиственных лесов Засечного БГР (западная и центральная часть). Общим для этих биотопов являются повышенная облесенность, наличие характерных растительных группировок и максимальная влажность воздуха под пологом леса. Последнее обусловлено не только сформированной ярусностью лесов, но и коррелирует с количеством выпадающих в год осадков.

В лесостепной зоне аналогичные биотопы встречаются в нагорных дубравах с искусственным внедрением хвойных пород, произрастающих в долине р. Красивая Меча и формирующих участки с более влажным микроклиматом, а также в окрестностях остепненных дубрав, занимающих небольшие ограниченные территории по всей зоне.

Таким образом, к настоящему времени ареал *I. ricinus* расширился за счет территорий, расположенных в северо-западных частях Приокского и Северного лесного, центральной части Засечного БГР лесной зоны и территорий всех БГР лесостепной зоны. Исследуя причины этого явления, можно предположить, что они связаны со стремительным ростом численности клещей этого вида и, частично, с уменьшением площадей сельскохозяйственных угодий, в частности пашен, с последующим зарастанием их кустарником и лесом [5].

Численность иксодовых клещей – переносчиков опасных трансмиссивных природно-очаговых болезней, является одним из необходимых условий циркуляции их возбудителей и используется для оценки

эпизоотической и эпидемиологической обстановки. Учеты, проведенные нами в период нарастания численности клещей (1998–2004, 2010–2012 гг.), подтвердили и дополнили данные о существенном различии численности *I. ricinus* в пределах разных БГР и даже частей этих районов. Эти различия обусловлены как естественными природными особенностями, так и антропогенным воздействием. Так, в условиях одинаковой исходной численности прокормителей на северо-западе области (Приокский БГР) и в целом в пределах всего ботанико-географического района, менее затронутом антропогенными преобразованиями, среднее многолетнее обилие клещей за этот период составило 39,4 экз./фл.-км (максимально – 100,0). В центральной части (Засечный БГР), в промышленном районе в окрестностях Тулы, этот показатель был в 5 раз ниже и составил в среднем 8,0 экз./фл.-км (максимально – 26,0). В северо-восточной части области (Северный лесной БГР), представленной мелколиственными лесами, на месте коренных широколиственных лесов и в восточной (восточная часть широколиственных лесов Засечного БГР) обилие клещей было крайне низким и составляло в среднем 0,1 экз./фл.-км, максимально не превышая 1. В лесных массивах на юге области, расположенных в пойме р. Красивая Меча, численность клещей достигала значений 23,7 экз./фл.-км.

В лесной зоне в границах Приокского БГР отмечается повышенная плотность клещевых группировок. Здесь же регистрируется самая высокая в пределах лесной зоны численность и активность нападения на людей (3/4 от общего количества их сборов в этой зоне). Следует отметить, что в Приокском

Участие клещей *I. ricinus* в циркуляции возбудителей клещевых инфекций в различных ботанико-географических и административных районах Тульской области в 1943–2012 гг.

Ботанико-географический район	Административный район	Инфекции						
		КВЭ	ИКБ	гранулоцитарный анаплазмоз	туляремия	эризипелоид	пастереллез	листериоз
Приокский лесной	Алексинский	–	+	+	–	–	–	–
	Арсеньевский	–	+	–	–	–	–	+
	Белевский	–	+	–	–	–	–	–
	Заокский	–	+	+	+	–	–	–
	Суворовский	–	+	+	–	–	+	–
	Чернский	–	+	–	–	–	–	–
Засечный лесной	Ясногорский	–	+	–	–	–	–	–
	Белевский	–	+	–	–	+	–	–
	Дубенский	–	+	+	–	–	–	–
	Ленинский	–	+	+	–	+	–	–
	Одоевский	+	+	–	–	–	–	–
	Суворовский	+	+	–	+	+	+	+
Северный лесной	Щекинский	–	+	+	+	–	–	+
	Ясногорский	–	+	–	–	–	–	–
	Алексинский	–	+	–	–	–	–	–
Центральный лесостепной	Заокский	–	+	–	–	–	–	–
	Одоевский	–	+	–	–	–	–	–
	Плавский	–	+	+	+	–	–	–
	Тёпло-Огарёвский	–	+	–	–	–	–	–
	Чернский	–	+	–	–	–	–	–
Юго-Восточный лесостепной	Щекинский	–	+	–	–	–	–	–
	Богородицкий	–	–	+	–	–	–	–
	Воловский	–	+	–	–	–	–	+
	Ефремовский	–	+	+	–	–	–	–
	Каменский	–	+	–	–	–	–	–
Верхнедонской антропогенный	Узловский	–	+	–	–	–	–	–
	Тула	–	+	–	–	–	–	–

БГР (северная часть Ясногорского, северо-западная Заокского, западная Алексинского, Суворовского, Белёвского районов) инфицированность *I. ricinus* возбудителем ИКБ достигала 27 %. В Приокском же, а также в западной и центральной частях Засечного БГР отмечалось и наибольшее количество положительных находок в клещах возбудителей других природно-очаговых инфекций (таблица). В лесостепной зоне высокая численность этого клеща отмечается в южной части Юго-Восточного БГР (Ефремовский район). Число нападений клещей на человека в этом административном районе также составляет 3/4 от общего количества сборов по зоне.

Таким образом, на территории Тульской области в лесной и лесостепной зонах к настоящему времени произошло увеличение численности и расширение ареала клеща *I. ricinus* – одного из хранителей и эффективных переносчиков возбудителей клещевых инфекций. В границах лесной и лесостепной зон выявлены участки с низкими, средними и высокими показателями численности клещей данного вида, что позволяет осуществлять целенаправленный эпидемиологический надзор за клещевыми инфекциями. Необходимо осуществлять регулярный мониторинг численности размещения иксодовых клещей *I. ricinus*, результаты которого кладутся в основу анализа и прогноза состояния природных очагов с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя, а также позволяют обосновывать содержание и объемы профилактических и противоэпидемических мероприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алюшин А.И. Растительность Тульского края. Тула;

1988. 144 с.

2. Волкова Е.М. Методическое пособие для лабораторно-практических работ по курсу «Биогеография». Часть 1. Ботаническая география. Тула; 2006. 94 с.

3. Кателина А.Ф. О распространении и биологии нового клеща *Ixodes trianguliceps* Bir. в Тульской области. Зоол. журн. 1960; XXXIX(11):1612–7.

4. Левачёва З.А., Лобковский А.Г., Тихоненко В.В., Белова М.А., Долотова М.П., Панина Т.В., Бобылкова Т.В., Корнеева С.А., Мясников Ю.А., Иванова А.А., Жуков В.И., Баранчиков В.Д., Минченко Т.В., Подъёмщикова Л.Г. Активизация природных очагов туляремии луго-полевого и степного типа на территории Тульской области в 1977–1978 гг. Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 1982; 3:36–40.

5. Овчинников Ю.И., Овчинников О.Ю. Физическая география Тульской области. Тула; 2000. 143 с.

6. Шереметьева И.С., Хорун Л.В., Щербakov А.В. Конспект флоры сосудистых растений Тульской области. Тула; 2008. 274 с.

References

1. Alyushin A.I. [Fauna of the Tula Region]. Tula; 1988. 144 p.
2. Volkova E.M. [Laboratory Operations Manual for Studies in "Biogeography". Part 1. Phytogeography]. Tula; 2006. 94 p.

3. Katelina A.F. [Concerning dissemination and biology of *Ixodes trianguliceps* Bir. ticks habitat in the Tula Region]. Zool. Zh. 1960; XXXIX(11):1612–7.

4. Levacheva Z.A., Lobkovsky A.G., Tikhonenko V.V., Belova M.A., Dolotova M.P., Panina T.V., Bobylkova T.V., Korneeva S.A., Myasnikov Yu.A., Ivanova A.A., Zhukov V.I., Baranchikov V.D., Minchenko T.V., Pod'emshchikova L.G. [Activation of natural tularemia foci, meadow-field and steppe type, in the territory of the Tula Region in 1977–1978]. Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol. 1982; 3:36–40.

5. Ovchinnikov Yu.I., Ovchinnikov O.Yu. [Physical Geography of the Tula Region]. Tula; 2000. 143 p.

6. Sheremet'eva I.S., Khorun L.V., Shcherbakov A.V. [Notes on the Fauna of Tracheophytes of the Tula Region]. Tula; 2008. 274 p.

Authors:

Kozlova T.V., Dorofeev E.M., Smol'yaninova O.L. Center of Hygiene and Epidemiology in the Tula Region. 25, Mira St., Tula, 300045, Russian Federation. E-mail: cgig@tula.net

Popov V.P. Plague Control Center. 4, Musorgskogo St., Moscow, 127490, Russian Federation. E-mail: protivochym@nlm.ru

Об авторах:

Козлова Т.В., Дорофеев Э.М., Смольянинова О.Л. Центр гигиены и эпидемиологии в Тульской области. Российская Федерация, 300045, Тула, ул. Мира, 25. E-mail: cgig@tula.net

Попов В.П. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4. E-mail: protivochym@nlm.ru

Поступила 24.04.14.

А.Л.Павленко^{1,2}, И.С.Коваленко¹, А.Б.Хайтович^{1,2}

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГИС-ТЕХНОЛОГИИ В ЭПИДНАДЗОРЕ НА ПРИМЕРЕ ЛЕПТОСПИРОЗА

¹ГУ «Украинская противочумная станция Министерства здравоохранения Украины»*, Симферополь;

²ГУ «Крымский медицинский университет имени С.И.Георгиевского», Симферополь

Для оптимизации применения ГИС-технологий в анализе лептоспироза были использованы данные эпидемиологического и эпизоотологического исследования лептоспироза в Европе, Украине и Крыму. В статье описан методологический подход, состоящий из 4 этапов, который применен для совершенствования эпиднадзора за лептоспирозом. Первый этап основан на изучении опыта ранее проведенного картографирования лептоспироза и выявлении особенностей территории. Второй этап – использование ГИС в эпидемиологическом анализе для разработки критериев районирования энзоотичных территорий, оценки динамических качественных и количественных изменений эпидемического процесса, определения влияния социально-экологических особенностей территории на эпидемический и эпизоотический процессы. Третий этап – создание баз данных (атрибутивные таблицы) с географической привязкой изучаемых явлений (природные очаги лептоспироза, точки выявления животных-хозяев, места возможного инфицирования человека, показатели заболеваемости и др.). Четвертый этап – проведение комплексного анализа полученных карт. Использование подхода позволяет не только определить значимость очагов и изучить комплексное влияние социально-экологических факторов на риск заражения людей, но и провести районирование территории, с учетом эпидемически значимых факторов, что является научно обоснованной основой для разработки адекватных профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Ключевые слова: ГИС, эпидемиологический надзор, лептоспироз.

A.L.Pavlenko^{1,2}, I.S.Kovalenko¹, A.B.Khaitovich^{1,2}

Methodological Approach to Application of GIS-Technologies for Epidemiological Surveillance by the Example of Leptospirosis

¹Ukrainian Plague Control Station at the Ministry of Health of Ukraine, Simferopol; ²Crimean S.I.Georgievsky Medical University, Simferopol

In order to optimize application of GIS-technologies for studies of leptospirosis, utilized have been the data on epidemiological and epizootiological investigations of leptospirosis cases in Europe, Ukraine, and Crimea. Described has been a methodological approach to the issue, comprising 4 phases and aimed at enhancement of epidemiological surveillance over leptospirosis. The first stage consists in learning the lessons of previously conducted leptospirosis mapping and specification of peculiarities of the territory. The second one is application of GIS-technologies for epidemiological analysis with a view to outlining the criteria for enzootic territory zoning, to assess dynamic qualitative and quantitative changes of epidemiological process, and estimate the impact of socio-ecological factors on the epidemic and epizootic processes. The third phase is databases creation, (attributive charts) compiled with information on geographically referenced phenomena under discussion (natural leptospirosis foci, sites of host-animal allocation, potentially hazardous areas, morbidity rates, etc.). The fourth one – complex analysis of the software designed maps.

Implementation of this methodology makes it possible not only to evaluate epidemiological significance of the foci, to investigate integrated impact of socio-ecological factors on the occasion of population exposure to the infection, but also to carry out zoning of the territory taking into consideration epidemically significant factors. Therewith, it forms scientifically substantiated premises for the development and implementation of prophylactic and anti-epidemic measures.

Key words: GIS, epidemiological surveillance, leptospirosis.

Современный эпидемиологический надзор, который базируется на теоретической базе, в настоящее время требует дополнительных методологических подходов для проведения анализа данных, поскольку в эпидемиологии многих заболеваний под влиянием глобализации, урбанизации, изменения климатических условий и локальных экологических факторов, интенсификации миграционных процессов, увеличения скорости передвижения и т.д. появились новые особенности. Традиционные способы оценки эпидемиологической информации трудоемки и сложны.

В последние десятилетия в эпидемиологическом

и эпизоотологическом анализе используются новые методы обработки информации, повышающие их точность и наглядность. Одним из таких методов является географическая информационная система (ГИС) – универсальный способ накопления и хранения баз данных и электронных карт, позволяющий аналитически и статистически обрабатывать показатели, отображая их пространственно. В настоящее время ГИС широко применяется для эпидемиологического анализа инфекционных заболеваний [2, 3, 4, 6, 7]. Использование ГИС позволяет одновременно визуализировать и проводить математическую обработку первичных эпидемиологических, эпизоотических и других данных, что, в свою очередь, является много-

*В настоящее время – ФГКУЗ «Противочумная станция Республики Крым» Роспотребнадзора

факторным анализом. Одновременное использование пространственной характеристики явления (процесса) и применение статистических методов создает научную основу прогнозирования и предупреждения осложнений эпидемической ситуации [4, 7].

Эпидемиологический надзор за конкретной инфекцией имеет особенности и требует определенного алгоритма, включающего использование новых информационно-аналитических инструментов.

Лептоспироз – острая природно-очаговая инфекция диких, домашних животных и человека, вызываемая различными серогруппами патогенных лептоспир и имеющая большой полиморфизм клинических проявлений. Для проведения эпидемиологического надзора за данной инфекцией эпидемический и эпизоотический процессы следует рассматривать во взаимосвязи. Анализ материалов предусматривает обработку большого объема различных данных как составных частей целостной сложной системы, имеющих функциональные зависимости.

Целью исследования является разработка модели анализа с использованием ГИС-технологий эпидемиологических (эпизоотологических) данных для совершенствования эпидемиологического надзора на примере лептоспироза.

Материалы и методы

Для исследования использованы: перечень энзоотических территорий (районов) по лептоспирозу; данные о заболеваемости лептоспирозом в странах Европы с 1985 по 2010 год [8] и Украине с 1981 по 2011 год (официальные статистические материалы Министерства здравоохранения Украины); материалы архива санитарно-эпидемиологической станции АР Крым с 1946 по 2011 год; карты эпидемиологического обследования очагов лептоспироза АР Крым и Севастополя с 1981 по 2011 год (196 карт); результаты исследования мелких млекопитающих на лептоспироз, добытых в АР Крым и Севастополе с 1980 по 2009 год. Визуальное отображение и проведение пространственного и статистического анализов выполнено с использованием географической информационной технологии, программа ArcGIS 9.2 (лицензия E300 3/02, ESRI, США).

Результаты и обсуждение

Географические информационные системы в эпидемиологии используются для визуализации и анализа географического распространения болезней в определенных временных промежутках, показывая пространственно-временные тенденции, которые сложно обнаружить в табличных или других форматах отображения данных. Наиболее значимой функцией ГИС является пространственный и статистический анализ: описание пространственных изменений динамики заболеваемости, районирование территорий по уровню заболеваемости, создание карты ри-

ска заражения в регионе [6]. Полученные результаты открывают возможность формулировать эпидемиологические гипотезы и определять направления для проведения профилактических мер [7]. Однако, как показал опыт, для полноценного использования ГИС необходимо объективно сформулировать задачи анализа конкретного заболевания, которые должны быть решены с помощью технологии.

Большинство заболеваний, имеющих одинаковые механизмы передачи инфекции и пути заражения людей и животных, обладают множеством особенностей, связанных с возбудителями, резервуаром инфекции в природе, восприимчивостью населения и т.д. Поэтому для формирования задач ГИС-анализа необходимо изучить эпидемиологические, эпизоотологические, микробиологические, экологические и другие особенности заболевания.

Для лептоспироза характерна неоднородность эпидемических и эпизоотических проявлений на различных территориях, т.к. популяции возбудителя и животных-хозяев гетерогенны и динамически изменчивы под воздействием факторов внешней среды. Преимущественные пути инфицирования людей в разных регионах определяются влиянием разных социальных факторов и могут существовать определенные местные условия, способствующие расширению или сужению ареала возбудителя.

Современные особенности эпидемического и эпизоотического процессов лептоспироза показали, что требуются дополнительные методологические подходы для проведения эпидемиологического анализа с использованием ГИС-технологий. На примере полученных материалов по лептоспирозу в Европе, Украине и Крыму показано, что одним из таких подходов является поэтапное проведение анализа.

На *первом этапе* изучается опыт проведенного картографирования лептоспироза и выявление особенностей для территории, подлежащей изучению, по литературным источникам. Для Крыма одной из первых известных публикаций, характеризующих распространение лептоспироза, является карта «Примерные границы распространения лептоспирозных заболеваний людей и животных в Крыму» (1954 г.). Эти данные были использованы в ГИС-анализе для реализации исторического подхода, предусматривающего составление картографических моделей за разные промежутки времени. Е.П.Бернасовской (1971 г.) проведено изучение территории Украины по значению ландшафтно-географических зон для распространения природных очагов лептоспироза, который может использоваться в ГИС-технологии для выявления многолетних динамических изменений в формировании и распространении природных очагов. Позднее опубликована карта «Украина. Региональные особенности риска заражения населения лептоспирозом», где территория Украины районирована на 5 категорий (2004 г.). Данные для составления карты основывались на официальной статистике и расчете количества случаев

заболевания лептоспирозом на 1000 кв.км. В соответствии с правилами общепринятого учета инфекционных заболеваний, регистрация проводится по месту выявления больного, независимо от места заражения. Поэтому данные, использованные для составления карты, не являлись информативными по отношению к возможному месту заражения (природный, антропоургический и др. очаги). Представленная карта, хотя явилась принципиально новым подходом для эпидемиологической оценки лептоспироза по риску возможного заражения, но объективно не отображала зоны риска заражения. Современные представления о заболеваемости лептоспирозом показывают, что необходимо осуществлять географическую привязку каждого случая заболевания человека к месту вероятного заражения или выделения возбудителя из окружающей среды и от животных-носителей. И только при комплексной оценке имеющихся данных можно достоверно определить территории риска и адаптировать противоэпидемические мероприятия к определенному региону или конкретной территории [5]. В конце 90-х годов создана карта энзоотичных по лептоспирозу территорий, которая отображает наличие энзоотичных территорий в Украине, но не дает количественную и качественную характеристику явления, не учитывает пространственную и функциональную структуру отдельных очагов лептоспироза на разных территориях. Проведенная оценка ранее созданных карт показала несовершенство в наглядности отображения и недостаточной информативности характеристик распространения лептоспироза среди людей и животных, что позволило определить направления для второго этапа эпидемиологического анализа.

Второй этап предусматривает использование ГИС в эпидемиологическом анализе: для разработки критериев районирования энзоотичных территорий, оценки динамических качественных и количественных изменений эпидемического процесса лептоспироза, определения влияния социально-экологических особенностей территории на эпидемический и энзоотический процессы. Реализация данного этапа может происходить по шести направлениям.

Первое направление связано с глобализацией эпидемических процессов. Эпидемический и энзоотический процессы лептоспироза на локальных территориях и их особенности, которые сложились под влиянием региональных экологических и социальных факторов, в свою очередь являются частью глобального процесса. Поэтому лептоспироз на отдельной территории не может рассматриваться изолированно от процессов, происходящих в стране, на континенте и в мире. Это определяет необходимость проведения пространственной визуализации для выявления территорий аналогичных по уровню заболеваемости лептоспирозом, например в странах Европы, Украине и Крыму. При визуальном сравнении нескольких карт данные, отображенные за определенный временной промежуток и имеющие

одинаковые атрибутивные величины, характеризующие уровень заболеваемости лептоспирозом в каждом регионе (страна, область, район), должны иметь одинаковое цветовое окрашивание в соответствии с градацией диапазона показателей.

Второе направление связано с зависимостью заболеваемости лептоспирозом в отдельных административных регионах и наличием энзоотичных территорий (на примере Украины). Реализация возможна совмещением слоев, отображающих средний многолетний уровень заболеваемости лептоспирозом по административным регионам и энзоотичным районам по лептоспирозу.

Третье направление определяет особенности распространения энзоотичных территорий. Известно, что на природные очаги лептоспироза оказывают влияние климатогеографические факторы, поэтому для анализа в масштабах больших территорий (Европа, Украины), слой с энзоотичными территориями накладывается на ГИС слой с экорегионами, который определяет комплексную характеристику ландшафтно-географических, климатических, топографических, геоботанических, гидрологических и других параметров [2]. Как показал проведенный анализ, для определения влияния экологических факторов на природные очаги лептоспироза на малых территориях (Крым) использовать ГИС-слой с экорегионами не целесообразно, т.к. информация не достаточная для выявления локальных закономерностей распространения природных очагов. Экорегионы – это комплексный параметр, который характеризует большие государственные, континентальные и межконтинентальные территории, но не отображают местных антропогенных изменений природной среды и ландшафтное разнообразие. Проведенный анализ многих факторов (отображены разными слоями), которые влияют на распространение лептоспироза в Крыму, показал, что наиболее информативными для обработки являются конкретные слои с различными климатическими и экологическими параметрами территории. Это могут быть например слой по мезоклиматическому районированию Крыма, слой по природной ландшафтной экотонизации и современных ландшафтов Крыма [1], слой с естественными и искусственными водоемами Крымского полуострова.

Четвертое направление – пространственно-временное отображение заболеваемости. Созданные карты по отдельным годам или периодам могут быть использованы для ретроспективного анализа и выявления причин роста или снижения заболеваемости. При использовании архивных материалов санитарно-эпидемиологической станции АР Крым с 1946 по 2011 год, пространственно-временные карты позволили определить 3 периода в динамике эпидемического процесса лептоспироза в Крыму, имеющие отличительные эпидемиологические особенности.

Пятое направление – характеристика природных и антропоургических очагов по разным серологическим группам лептоспир и видам мелких млекопи-

тающих. Различные серогруппы лептоспир вызывают относительно одинаковые по патогенезу заболевания, но они отличаются по патогенным свойствам (тяжесть клинических проявлений). Известно, что существует избирательность разных серогрупп к видам животных-хозяев, основным носителям инфекции, и неодинаковая устойчивость во внешней среде. Данные особенности обуславливают неодинаковую эпидемиологическую значимость природных очагов.

Шестое направление – районирование территории по риску заражения в антропоургических и природных очагах и эпидемическому проявлению очагов.

Третий этап – создание баз данных (атрибутивные таблицы) с географической привязкой изучаемых явлений (природные очаги лептоспироза, точки выявления животных-хозяев, места возможного инфицирования человека, показатели заболеваемости и др.), необходимых для реализации задач, поставленных на втором этапе и проведения картографирования. На этом этапе сведения из имеющихся баз данных импортируются в атрибутивные таблицы ГИС, на основе которых создаются ГИС-слои.

Четвертый этап – проведение комплексного анализа полученных карт. Это научная основа, которая позволяет сформировать и подтвердить гипотезы о состоянии и тенденциях развития эпидемического и эпизоотического процессов, а также определить разработку дополнительных и динамических пространственных моделей для осуществления полноценного эпидемиологического надзора за лептоспирозом, что позволяет своевременно принять решения, обеспечивающие проведение мероприятий, адекватных ситуации и региональным условиям.

Методы применения ГИС-технологий для эпидемиологического анализа должны основываться на фундаментальных знаниях выбранной нозологической формы и на современных научных исследованиях континентального, государственного и регионального уровня. Разработанные этапы и направления в анализе эпизоотического и эпидемического процессов с использованием ГИС-технологий позволяют реализовать интегративный подход для характеристики инфекционных заболеваний.

Таким образом, определен и апробирован методологический подход, состоящий из 4 этапов, для анализа эпидемиологических и эпизоотологических данных с использованием ГИС-технологий на примере лептоспироза. Использование подхода позволяет объективно сформулировать задачи анализа и определить значимость очагов, изучить комплексное влияние социально-экологических факторов на их поддержание и заражение людей, провести районирование территории по степени риска заражения, с

учетом социальных и экологических факторов, что явится основой для разработки адекватных профилактических и противоэпидемических мероприятий. Представленный подход может быть использован как алгоритм для анализа других нозоформ на различных административных территориях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лычак А.И., Бобра Т.В. Геоэкологическая ситуация и проблемы формирования экологической сети в Крыму. *Геополитика и экогеодинамика регионов*. 2009; 5(1):63–9.
2. Павленко А.Л., Хайтович А.Б., Коваленко И.С., Шварсалон Н.К. Экорегionalные особенности энзоотических территорий лептоспироза в Украине. *Профілактична медицина*. 2011; 2(14):63–9.
3. Clarke K.C., McLafferty S.L., Tempalski B.J. On Epidemiology and Geographic Information Systems: A Review and Discussion of Future Directions. *Emerg. Infect. Dis.* 1996; 2(2):85–92.
4. Jacques G. M. Spatial analysis in epidemiology: Nascent science or a failure of GIS? *J. Geograph. Syst.* 2000; 2:91–7.
5. John T.J. The prevention and control of human leptospirosis. *J. Postgrad. Med.* 2005; 51(3):205–9.
6. Ruankaew N. GIS and Epidemiology. *J. Med. Assoc. Thai.* 2005; 88(11):1735–8.
7. Rytönen M.J.P. Not all maps are equal: GIS and spatial analysis in epidemiology. *Int. J. Circumpolar. Health.* 2004; 63 (1): 9–24.
8. 6084 - Leptospirosis - Incidence (cases per 100 000 population): Computerized information system for infectious diseases (CISID) [Электронный ресурс]/World Health Organization Regional Office for Europe. URL <http://data.euro.who.int/cisid/?TabID=323781> (дата обращения 01.05.2013).

References

1. Lychak A.I., Bobra T.V. [Geo-ecological situation and issues of ecological network formation in Crimea]. *Geopolitika i Ekogeodnamika Regionov*. 2009; 5(1):63–9.
2. Pavlenko A.L., Khaitovich A.B., Kovalenko I.S., Shvarsalon N.K. [Eco-regional peculiarities of leptospirosis enzootic territories in Ukraine]. *Profilaktychna Meditsina*. 2011; 2(14):63–9.
3. Clarke K.C., McLafferty S.L., Tempalski B.J. On Epidemiology and Geographic Information Systems: A Review and Discussion of Future Directions. *Emerg. Infect. Dis.* 1996; 2(2):85–92.
4. Jacques G.M. Spatial analysis in epidemiology: Nascent science or a failure of GIS? *J. Geograph. Syst.* 2000; 2:91–7.
5. John T.J. The prevention and control of human leptospirosis. *J. Postgrad. Med.* 2005; 51(3):205–9.
6. Ruankaew N. GIS and Epidemiology. *J. Med. Assoc. Thai.* 2005; 88(11):1735–8.
7. Rytönen M.J.P. Not all maps are equal: GIS and spatial analysis in epidemiology. *Int. J. Circumpolar. Health.* 2004; 63 (1): 9–24.
8. 6084 - Leptospirosis - Incidence (cases per 100 000 population): Computerized information system for infectious diseases (CISID) [cited 01.05.2013]/World Health Organization Regional Office for Europe. Available from: <http://data.euro.who.int/cisid/?TabID=323781>.

Authors:

Pavlenko A.L., Khaitovich A.B. Ukrainian Anti-Plague Station. (42, Promyshlennaya St., Simferopol, 95023. E-mail: plaguestat@e-mail.ua); Crimean State Medical University named after S.I.Georgievsky (5/7 Lenin Avenue, Simferopol, 95006).

Kovalenko I.S. Ukrainian Anti-Plague Station. 42, Promyshlennaya St., Simferopol, 95023. E-mail: plaguestat@e-mail.ua

Об авторах:

Павленко А.Л., Хайтович А.Б. Украинская противочумная станция (95023, Симферополь, ул. Промышленная, 42. E-mail: plaguestat@e-mail.ua); Крымский медицинский университет им. С.И.Георгиевского (95006, Симферополь, бульвар Ленина, 5/7).

Коваленко И.С. Украинская противочумная станция. 95023, Симферополь, ул. Промышленная, 42. E-mail: plaguestat@e-mail.ua

Поступила 29.10.13.

А.М.Поршаков, С.А.Яковлев, К.С.Захаров, А.Н.Матросов, Т.В.Князева, А.А.Кузнецов, В.Н.Чекашов, М.М.Шилов, С.И.Толоконникова, Е.В.Казорина, Т.Ю.Красовская, Е.В.Найденова, И.Н.Шарова, С.А.Щербакова, Н.В.Попов

РОЛЬ КОМАРОВ КОМПЛЕКСА *CULEX PIPIENS* В СОХРАНЕНИИ ВИРУСА ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА В УРБАНИЗИРОВАННЫХ БИОЦЕНОЗАХ САРАТОВА

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

Исследования осуществляли осенью 2013 г. в закрытых биотопах (подвалы, подъезды многоэтажных домов) в районах эпидемических проявлений ЛЗН на территории Саратова. Проведен учет численности имаго и личинок комаров *Culex pipiens*. Установлена высокая численность переносчиков: в подвалах – от 10 до 800 экз. на 1 кв.м, в подъездах – от 1 до 30 экз. Численность личинок в затопленных подвалах составила от 600 до 3800 экз. на 1 кв.м. В пробах личинок и вновь выплывших имаго комаров выявлены маркеры вируса Западного Нила, что свидетельствует о возможности трансовариальной и трансфазовой передачи вируса в популяции комаров урбанизированных биоценозов. Обосновано, что автогенно размножающиеся самки подвальных комаров *Culex pipiens* обеспечивают сохранение вируса в межэпидемический период. Последнее подтверждает возможность формирования стойких, эпидемически активных микроочагов ЛЗН в селитебных ландшафтах, что необходимо учитывать при оценке рисков заражения городского населения.

Ключевые слова: лихорадка Западного Нила, трансовариальная передача, трансфазовая передача, урбанизированные биоценозы, популяция комаров.

A.M.Porshakov, S.A.Yakovlev, K.S.Zakharov, A.N.Matrosov, T.V.Knyazeva, A.A.Kuznetsov, V.N.Chekashov, M.M.Shilov, S.I.Tolokonnikova, E.V.Kazorina, T.Yu.Krasovskaya, E.V.Naidenova, I.N.Sharova, S.A.Shcherbakova, N.V.Popov

Role of Mosquitoes, *Culex pipiens* Complex, in West Nile Fever Virus Persistence in Urbanized Biocoenoses of Saratov

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

Epidemiological investigations were performed in autumn, 2013 in the closed biotopes in the areas of epidemiological WNF manifestations, situated in the territory of Saratov. Estimated were the numbers of *Culex pipiens* imagoes and wigglers. Registered are the high vector abundance rates: in the basements – 10–800 specimens per 1 m², and in the entrance halls and staircases of apartment buildings – 1–30 specimens per 1 m². The numbers of wigglers in the waterlogged basements is 600–3800 specimens per 1 m². In wiggler samples as well as in imago ones detected are WNF virus markers, which indicate the possibility of transovarial and trans-phase transmission of virus into mosquito populations, habitat in urbanized biocoenoses. It is substantiated that *Culex pipiens* female mosquitoes, which reproduce autogenically, provide for the persistence of the virus within the inter-epidemic period. Therewith there is a possibility of sustained, epidemically-active WNF micro-foci to be formed in the residential area landscapes, and this issue should be given proper consideration when performing assessment of the risks associated with urban population exposure to the infection.

Key words: West Nile fever, transovarial transmission, trans-phase transmission, urbanized biocoenoses, mosquito population.

В настоящее время для многих стран мира актуальной является проблема расширения нозоареала лихорадки Западного Нила (ЛЗН). На территории России заболевания ЛЗН впервые были зарегистрированы в Астраханской области в 1967 г. Эпидемические проявления вспышечного характера стали отмечаться с 1997 г. [3, 6]. На территории Саратовской области циркуляция вируса Западного Нила (ВЗН) в природных биотопах установлена в 90-х гг. прошлого века. Маркеры вируса обнаруживали при исследовании водоплавающих птиц и птиц антропогенного комплекса (большого баклана, серой цапли, сизой чайки, речной крачки, серой вороны, обыкновенного скворца, полевого воробья), а также кровососущих членистоногих (комаров *Anopheles maculipennis* и *Ochlerotatus cataphylla*, иксодовых клещей *Rhipicephalus rossicus*, *Rh. schulzei*, *Dermacentor marginatus* и *D. reticulatus*). Антиген и РНК вируса выявлены также в пробах грызунов: домового и малой лесной мышей, обыкновенной, общественной и рыжей полевых [2, 5, 10].

Кровососущие комары играют ключевую роль в трансмиссивной передаче и сохранении ВЗН [4, 8, 11, 12]. В природных ландшафтах основными биотопами для развития преимагинальных фаз и выплода комаров являются прибрежные участки различных водоемов. На территории населенных пунктов эти кровососущие насекомые обитают и размножаются в сырых подвалах, погребах, во временных водоемах лесопарковых зон, емкостях для хранения воды, глубоких лужах. В природных биотопах высокая численность комаров отмечается только в теплый период года, чего нельзя сказать о влажных или затопленных подвальных помещениях в строениях различного назначения.

В последние десятилетия при изучении популяций кровососущих комаров урбанизированных территорий особое внимание уделяется *Culex pipiens*, которые могут иметь большое эпидемиологическое значение. Подвальные комары этого вида проявляют высокую агрессивность по отношению к человеку [1]. Так, заболеваемость ЛЗН в Волгоградской и Астраханской областях была обусловлена нападением

инфицированных подвальных комаров *Cx. pipiens* [3, 4, 9]. В настоящее время именно они рассматриваются как основные переносчики и хранители ВЗН в условиях города. Выяснение возможности сохранения вируса в популяциях подвальных комаров в межэпидемический зимний период в городских условиях имеет большое теоретическое и практическое значение.

Целью исследования было наблюдение за развитием и численностью личинок и имаго комаров, обитающих в затопляемых подвалах жилых домов, а также установление их инфицированности вирусом Западного Нила.

Материалы и методы

Материал собирали в подвалах и подъездах многоэтажных домов на территории Заводского района Саратова, что диктовалось выявлением больных ЛЗН в этой части города. При проведении эпидемиологических расследований выяснилось, что часть случаев заражения связана с местами постоянного проживания людей в домах, где имеются затопленные подвалы, или в непосредственной близости от них. Объектами сбора являлись личинки и имаго подвальных комаров. Комаров со стен и потолка собирали с помощью пластиковых эксгаустеров [7], а также использовали автомобильный пылесос. Для предотвращения травмирования комаров, что происходит при попадании их внутрь пылесоса, была разработана специальная насадка. При сборе комары остаются в насадке целыми и пригодными для определения и исследования. Сбор личинок осуществляли сачком.

Для изучения вылета выплывающих комаров в затопленном подвале был установлен стационарный имагоуловитель – ловушка для отлова вылетающих амфибиотических насекомых (рисунок). Ловушка сконструирована так, что выплывшие из куколок комары остаются внутри имагоуловителя и не имеют возможности разлета и питания. Нижняя часть ловушки состоит из двух горизонтальных рамок, а ее боковые стенки выполнены из плотной ткани, препятствующей двухсторонней миграции личинок. Верхняя часть имагоуловителя сшита из синтетической (москитной) сетки в виде цилиндра, верхнее отверстие которого перевязано шнуром для последующего изъятия накопившихся комаров. Шнур служит также для подвешивания ловушки, что придает ей нужные форму и объем. Данная конструкция препятствует не только разлету выплывших комаров, но и попаданию в ловушку насекомых извне. Нижнюю рамку прижимали ко дну затопленной части подвала, изолируя боковыми стенками водную поверхность площадью 0,5 кв.м. Выплывших комаров, сидящих на внутренних стенках имагоуловителя, собирали с помощью эксгаустера или пылесоса.

При оценке численности комаров и личинок использовали общепринятый метод учета на единицу площади (1 кв.м). Для формирования проб на вирусологическое исследование насекомых иммобилизовали табачным дымом. В одну пробу в среднем помещали 50 особей комаров или личинок. Материал

был исследован методами иммуноферментного анализа (ИФА) и полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием следующих диагностических препаратов: «Набор реагентов для выявления антигенов вируса Западного Нила» (ЗАО «Биосервис», Боровск, Калужская обл.), «АмплиСенс WNV-Fl» (ООО «ИнтерЛабСервис», Москва).

При обследовании территории Саратова с сентября по ноябрь 2013 г. было собрано 11767 экз. имаго и 6800 личинок комаров *Cx. pipiens*.

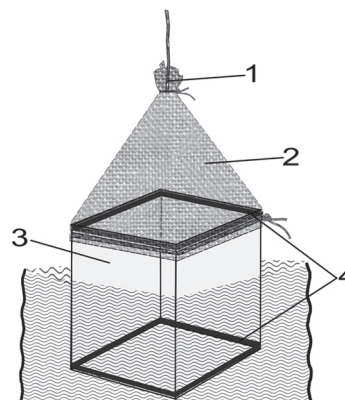
Результаты и обсуждение

В Саратове выявляется большое число объектов с затопленными подвальными помещениями: жилые дома, производственные здания. В подвалах располагаются трубопроводы с горячей и холодной водой, отопительные и канализационные трубы. Часто наблюдаются прорывы канализационных стоков, часть подвалов подтопляется грунтовыми водами. Поэтому в них могут создаваться условия для круглогодичного обитания и размножения комаров.

При проведении исследований основное внимание было обращено на затопленные теплые подвалы многоэтажных домов. В этих объектах *Cx. pipiens* обитают и размножаются круглый год. В обследованных подвалах с уровнем воды от 5 до 60 см плотность личинок по данным учетов составила от 600 до 3800 экз./кв.м. Численность комаров на стенах и потолке подвалов варьировала от 10 до 800 экз./кв.м. На стенах в разных подъездах таких домов встречалось от нескольких единиц до трех десятков экземпляров комаров на 1 кв.м.

За период работы для лабораторного исследования собрано 6800 экз. личинок, объединенных в 136 проб. Из этого количества в 5 пробах (3,7 %) были выявлены антигены ВЗН. Полученные положительные результаты доказывают существование трансвариального пути передачи вируса внутри популяции подвальных комаров в Саратове.

В одном из затопленных подвалов, где в сентябре при исследовании личинок были обнаружены маркеры ВЗН, в ноябре в отсеке с наибольшей плотностью личинок на 1 кв.м был установлен стационарный имагоуловитель. Выемку выплывших в



Стационарный имагоуловитель:

1 – шнур; 2 – конус из москитной сетки; 3 – стенки из плотной ткани; 4 – рамки

имагоуловители комаров проводили один раз в неделю. Продолжительность наблюдения составила 21 день, было сделано 3 выборки, собрано 2450 экз. комаров *Cx. pipiens*. Первая выборка была проведена на 5-й день после установки ловушки. Наиболее массовый выплод комаров (51 %) отмечался на 14-й день. Большое количество личинок и постоянно происходящий выплод имаго свидетельствуют об оптимальных условиях закрытого биотопа для развития всех стадий комаров. Среди комаров, выбранных на 21-й день (950 экз.), было обнаружено 12 самок, отложивших первую порцию яиц без кровососания (автогенения). Для исследования из выплывших имаго было сформировано 49 проб по 50 комаров в каждой. Антигены ВЗН были выявлены в 4 пробах (8,2 %). Полученные результаты свидетельствуют о наличии трансфазового механизма передачи вируса.

В подвалах и подъездах многоэтажных домов со стен и потолков было собрано 9317 экз. комаров. Для исследования было сформировано 186 проб, из них антигены ВЗН выявлены в 3 пробах (1,6 %).

При исследовании полученного материала методом ПЦР-анализа РНК ВЗН не обнаружена.

Таким образом, в результате обследования урбанизированных биоценозов Саратова установили, что в затопленных теплых подвалах многоэтажных домов складываются оптимальные микроклиматические условия для круглогодичного развития комаров. В таких условиях возможно формирование стойких микроочагов ЛЗН. В процессе проведенных исследований была выявлена трансвариальная и трансфазовая передача ВЗН в популяции комаров *Cx. pipiens*. Автогенно размножающиеся самки подвальных комаров этого вида могут обеспечивать сохранение вируса в межэпидемический период в урбанизированных биоценозах. Полученные данные служат обоснованием для проведения работ по осушению подвалов и круглогодичных дезинсекционных обработок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Виноградова Е.Б. Городские комары, или «Дети подземелья». М.—СПб.: 2004. 96 с.
2. Красовская Т.Ю., Щербакова С.А., Шарова И.Н., Найденова Е.В., Билько Е.А., Чекашов В.Н., Матросов А.Н., Яковлев С.А., Поршаков А.М., Шилов М.М., Рябова А.В., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Федорова З.П., Кресова У.А., Талаева Е.А., Миронова Н.И., Кутырев В.В. Изучение циркуляции вируса Западного Нила на территории Саратовской области в 2010 г. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 3(109):13–7.
3. Львов Д.Н., Писарев В.Б., Петров В.А., Григорьева Н.В. Лихорадка Западного Нила (по материалам вспышек в Волгоградской области в 1999–2002 гг.). Волгоград; 2004. 104 с.
4. Львов Д.Н., Щелканов М.Ю., Джаркенов А.Ф., Галкина И.В., Колобухина Л.В., Аристов В.А., Альховский С.В., Прилипов А.Г., Самохвалов Е.И., Дерябин П.Г., Воронина А.Г., Васильев А.В., Безжонова О.В., Львов Д.К. Популяционные взаимодействия вируса Западного Нила (*Flaviviridae, Flavivirus*) с членистоногими переносчиками, позвоночными животными, людьми в среднем и нижнем поясах дельты Волги, 2001–2006 гг. *Вопр. вирусол.* 2009; 2:36–43.
5. Матросов А.Н., Чекашов В.Н., Поршаков А.М., Яковлев С.А., Шилов М.М., Кузнецов А.А., Захаров К.С., Князева Т.В., Мокроусова Т.В., Толоконникова С.И., Удовиков А.И., Красовская Т.Ю., Шарова И.Н., Кресова У.А., Кедрова О.В., Попов Н.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Условия циркуляции вируса и предпосылки формирования природных очагов лихорадки Западного Нила в Саратовской области. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 3:17–22.
6. Онищенко Г.Г., Липницкий А.В., Алексеев В.В. Эпидемиологическая ситуация по лихорадке Западного Нила. *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунобиол.* 2011; 3:115–20.

7. Поршаков А.М., Удовиков А.И., Чекашов В.Н., Шилов М.М., Толоконникова С.И. Ловушка для комаров. Патент на полезную модель РФ №132316 (A01M1/10), опубл. 29.09.2013. Бюл. 26.
8. Русев И.Т., Закусило В.Н., Винник В.Д. Эколого-фаунистические предпосылки циркуляции арбовирусов в Северо-Западном Причерноморье. *Вісник Дніпропетровського університету.* 2011; 2(2):95–109.
9. Федорова М.В., Лопатина Ю.В., Безжонова О.В., Платонов А.Е. Комплекс кровососущих комаров (*Diptera, Culicidae*) в очаге лихорадки Западного Нила в Волгоградской области. 1. Видовой состав, сезонный ход численности, распределение по биотопам. *Мед. паразитол. и паразитарн. бол.* 2007; 1:41–6.
10. Щербакова С.А., Билько Е.А., Найденова Е.В., Красовская Т.Ю., Слудский А.А., Князева Т.В., Матросов А.Н., Чекашов В.Н., Шарова И.Н., Самойлова Л.В., Кутырев В.В. Выявление антигенов арбовирусов в комарах и клещах, обитающих на территории Саратовской области. *Мед. паразитол. и паразитарн. бол.* 2009; 2:38–41.
11. Hubalek Z., Rudolf I., Bakonyi T. Mosquito (*Diptera: Culicidae*) surveillance for arboviruses in an area endemic for West Nile (Lineage Rabensburg) and Tahyna viruses in Central Europe. *J. Med. Entomol.* 2010; 47:466–72.
12. Rizzo C., Vescio F., Dechich S. West Nile virus transmission with human cases in Italy, August–September 2009. *Euro Surveill.* 2009; 14(40):193.

References

1. Vinogradova E.B. [Mosquitoes Habitant in the Urban Areas, or the "Sons of the Underworld"]. M.—St. Petersburg; 2004. 96 p.
2. Krasovskaya T.Yu., Shcherbakova S.A., Sharova I.N., Naidenova E.V., Bil'ko E.A., Chekashov V.N., Matrosov A.N., Yakovlev S.A., Porshakov A.M., Shilov M.M., Ryabova A.V., Knyazeva T.V., Mokrousova T.V., Fedorova Z.P., Kresova U.A., Talaeva E.A., Mironova N.I., Kutyrev V.V. [Studies of West Nile virus circulation in the territory of the Saratov Region in 2010]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 3(109):13–7.
3. L'vov D.N., Pisarev V.B., Petrov V.A., Grigor'eva N.V. [West Nile Fever (Based on the reports on the outbreaks in Volgograd Region in 1999–2002)]. Volgograd; 2004. 104 p.
4. L'vov D.N., Shchelkanov M.Yu., Dzharkenov A.F., Galkina I.V., Kolobukhina L.V., Aristova V.A., Al'khovskiy S.V., Prilipov A.G., Samokhvalov E.I., Deryabin P.G., Voronina A.G., Vasil'ev A.V., Bezzhonova O.V., L'vov D.K. [Population interactions of the West Nile fever virus (*Flaviviridae, Flavivirus*) with arthropod vectors, vertebrate animals, and humans in the territory of the central and lower Volga river estuary, 2001–2006]. *Vopr. Virusol.* 2009; 2:36–43.
5. Matrosov A.N., Chekashov V.N., Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Shilov M.M., Kuznetsov A.A., Zakharov K.S., Knyazeva T.V., Mokrousova T.V., Tolokonnikova S.I., Udobikov A.I., Krasovskaya T.Yu., Sharova I.N., Kresova U.A., Kedrova O.V., Popov N.V., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Conditions for virus circulation and premises for natural West Nile fever foci formation in the territory of the Saratov Region]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 3:17–22.
6. Onishchenko G.G., Lipnitsky A.V., Alekseev V.V. [Epidemiological situation on West Nile fever]. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 2011; 3:115–20.
7. Porshakov A.M., Udobikov A.I., Chekashov V.N., Shilov M.M., Tolokonnikova S.I. [Mosquito-trap]. RF Utility Model Patent 132316 (A01M1/10). Dated: 29.09.2013.
8. Rusev I.T., Zakusilo V.N., Vinnik V.D. [Ecological-faunal premises for arbovirus circulation in the North-West Black Sea Region]. *Visnik Dnipropetrovskogo Universitetu.* 2011; 2(2):95–109.
9. Fedorova M.V., Lopatina Yu.V., Bezzhonova O.V., Platonov A.E. [Complex of bloodsucking mosquitoes (*Diptera, Culicidae*) in the WNF foci in Volgograd Region. 1. Species composition, seasonal fluctuations of abundance rates, dissemination in biotopes]. *Med. Parazitol. Parazitarn. Bol.* 2007; 1:41–6.
10. Shcherbakova S.A., Bil'ko E.A., Naidenova E.V., Krasovskaya T.Yu., Sludsky A.A., Knyazeva T.V., Matrosov A.N., Chekashov V.N., Sharova I.N., Samoilova L.V., Kutyrev V.V. [Identification of Arboviral antigens in mosquitoes and ticks habitan in the territory of the Saratov region]. *Med. Parazitol. Parazitarn. Bol.* 2009; 2:38–41.
11. Hubalek Z., Rudolf I., Bakonyi T. Mosquito (*Diptera: Culicidae*) surveillance for arboviruses in an area endemic for West Nile (Lineage Rabensburg) and Tahyna viruses in Central Europe. *J. Med. Entomol.* 2010; 47:466–72.
12. Rizzo C., Vescio F., Dechich S. West Nile virus transmission with human cases in Italy, August–September 2009. *Euro Surveill.* 2009; 14(40):193.

Authors:

Porshakov A.M., Yakovlev S.A., Zakharov K.S., Matrosov A.N., Knyazeva T.V., Kuznetsov A.A., Chekashov V.N., Shilov M.M., Tolokonnikova S.I., Kazorina E.V., Krasovskaya T.Yu., Naidenova E.V., Sharova I.N., Shcherbakova S.A., Popov N.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Поршаков А.М., Яковлев С.А., Захаров К.С., Матросов А.Н., Князева Т.В., Кузнецов А.А., Чекашов В.Н., Шилов М.М., Толоконникова С.И., Казорина Е.В., Красовская Т.Ю., Найденова Е.В., Шарова И.Н., Щербакова С.А., Попов Н.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 16.12.13.

С.П.Заднова, И.М.Крепостнова, Ю.В.Лозовский

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПОСОБНОСТИ К ФЕРМЕНТАЦИИ УГЛЕВОДОВ У ТИПИЧНЫХ ШТАММОВ И ГЕНОВАРИАНТОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* БИОВАРА ЭЛЬ ТОР

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

Проведено сравнительное изучение способности 6 типичных штаммов и 10 геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор, завезенных на территорию России, ферментировать различные углеводы. Выявлено, что геноварианты, как и типичные Эль Тор вибрионы, ферментируют маннозу, сахарозу, манит, но не активны в отношении к арабинозе и рамнозе. Однако показано, что у геновариантов по сравнению с типичными штаммами Эль Тор вибрионов снижена способность к ферментации глюкозы. Геноварианты, как и классические вибрионы, не растут на минимальной среде с 1 % содержанием глюкозы и не способны полностью ферментировать глюкозу до ацетилметилкарбинола в реакции Фогес-Проскауэра. Выдвигается гипотеза, что изменение метаболизма глюкозы в изученных штаммах геновариантов может быть связано с изменением механизма регуляции некоторых генов вирулентности.

Ключевые слова: холерный вибрион, генетически измененные варианты Эль Тор вибрионов, метаболизм глюкозы.

S.P.Zadnova, I.M.Krepostnova, Yu.V.Lofovsky

Comparative Analysis of the Ability to Ferment Carbohydrates in Typical Strains and Genovariants of *Vibrio cholerae* Biovar El Tor

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

Carried out is a comparative analysis of the ability to ferment various carbohydrates in the 6 typical strains and 10 genovariants of *V. cholerae* biovar El Tor, imported to the territory of the Russian Federation. It has been revealed that genovariants, as well as typical El Tor vibrios, ferment mannose, saccharose, and mannite, but are inactive against arabinose and rhamnose. However, it is demonstrated that genovariants, as compared to typical strains of El Tor vibrios, possess lowered capacity to ferment glucose. Both, genovariants and classical vibrios, do not grow on the minimal media with 1 % content of glucose, and are unable to fully ferment glucose up to acetylmetilcarbinol in Voges-Proskauer reaction test. Put forward is a hypothesis that alteration of glucose metabolism in the studied strains of genovariants is probably due to changes in regulating mechanism of some virulence genes.

Key words: cholera vibrio, genetically altered variants of El Tor vibrios, glucose metabolism.

В настоящее время пристальное внимание исследователей всего мира привлечено к изучению новых генетически измененных вариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор с повышенной вирулентностью, появившихся в 1992 г. Данные штаммы в отличие от типичных Эль Тор вибрионов, вызвавших седьмую пандемию холеры, содержат в геноме профага СТХ классический аллель гена *ctxB* и синтезируют холерный токсин классического типа. Во многих эндемичных по холере районах данные геноварианты вытеснили типичного возбудителя холеры Эль Тор и заняли доминирующее положение [2, 13, 14]. На сегодняшний день детально изучено строение генома геновариантов, выделенных в различных странах мира, проведено полногеномное секвенирование нескольких штаммов. При фенотипическом анализе выявлено, что геноварианты обладают всеми биоварспецифическими свойствами, характерными для Эль Тор вибрионов (растут на средах, содержащих 50 мкг/мл полимиксина В, агглютинируют куриные эритроциты, лизируются диагностическим фагом эльтор, дают положительную реакцию Фогеса-Проскауэра). При анализе продукции холерного токсина и вирулентности показано, что геноварианты, в отличие от типичных Эль Тор вибрионов, являются

более вирулентными, синтезируя повышенное количество холерного токсина, сопоставимое со штаммами классического биовара [5, 11, 13]. В то же время сведения об экспрессии генов жизнеобеспечения у геновариантов, в том числе о способности ферментировать углеводы, практически отсутствуют.

Как известно, углеводы играют важную роль в жизнедеятельности холерного вибриона, выполняя структурную функцию, участвуя в обеспечении клеток энергией, в процессах осморегуляции, устойчивости к стрессам и т.д. [3, 7, 12, 10]. Показано, что при отсутствии глюкозы в среде выращивания штаммы *V. cholerae* не продуцируют холерный токсин, у них снижается подвижность и способность колонизировать кишечник, а также нарушается функционирование системы «quorum sensing» [3, 7, 12]. Кроме того, углеводы используются в диагностике *V. cholerae*. Например, ферментация глюкозы до кислоты без газа – тест, дифференцирующий холерные вибрионы от представителей *Pseudomonadaceae*. Способность утилизировать сахара, составляющие триаду Хейберга – манноза, сахароза и арабиноза, положена в основу определения рода *Vibrio*. Кроме того, ферментация сахарозы является единственным дифференциальным фенотипическим тестом, отли-

чающим *V. cholerae* от *V. mimicus* [1, 8]. Установлено, что холерные вибрионы как классического, так и Эль Тор биоваров обладают большим набором ферментов и способны ферментировать глюкозу, сахарозу, мальтозу, галактозу, левулезу, маннозу, маннит, гликоген и крахмал. В то же время арабинозу, дульцит, инозит, рамнозу, сорбит, раффинозу не усваивают. Отношение к лактозе непостоянное ($\pm$) [1]. С учетом важной роли углеводов в метаболизме, вирулентности, а также диагностике холерного вибриона цель работы состояла в проведении сравнительного анализа способности типичных штаммов и геновариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор ферментировать различные сахара.

Материалы и методы

В работе использовано 6 типичных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор и 10 геновариантов, завезенных на территорию России с 1970 по 2011 год, а также три штамма *V. cholerae* классического биовара (таблица). Штаммы хранились в Государственной коллекции патогенных бактерий в лиофильно высушенном состоянии.

Исследования проведены с использованием 6 углеводов – арабинозы, рамнозы, маннозы, маннита, глюкозы и сахарозы. Способность штаммов усваивать углеводы изучали, культивируя штаммы на минимальном агаре (2 % Бакто агар, 0,1 – MgSO_4 , 0,5 – NaCl , 0,1 – K_2HPO_4 , 0,1 – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, pH 7,6) с добавлением 0,4 % различных сахаров в качестве единственного источника питания. При положительном результате наблюдали рост культуры, при отрицательном – колонии отсутствовали.

Для определения продукции ацетилметилкарбинола в реакции Фогес-Проскауэра (Ф-П) использовали методику, описанную G.Kovacicova *et al.* [9].

Для изучения белкового спектра штаммов холерного вибриона получали цельноклеточные лизаты клеток в дистиллированной воде, добавляли равный объем «буфера образца» (0,125 моль трис- HCl , pH 6,8; 4 % додецилсульфата натрия; 20 % глицерина; 2 % 2-меркаптоэтанола; 0,03 ммоль бромфенолового синего) и кипятили на водяной бане в течение 5 мин. Полученные образцы исследовали методом ПААГ-электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия. В работе использовали 12,5 % полиакриламидный гель. После электрофореза гелевую пластину фиксировали в растворе изопропанола и окрашивали 0,1 % раствором кумасси R-250 в изопропаноле. Избыток красителя из геля вымывали диффузией в 7 % растворе уксусной кислоты.

Биосинтез токсинорегулируемых пилей адгезии (ТКПА) изучали методом самоагглютинации бактерий в АКІ бульоне [6]. Ночную культуру изучаемых штаммов в количестве 10^5 КОЕ засекали в 10 мл АКІ бульона (pH 7,4–7,6) и культивировали 4 ч стационарно при температуре 37 °C. Затем 8 мл бульона выливали, а оставшиеся 2 мл культуры выращивали в условиях повышенной аэрации на шейкере при температуре 37 °C в течение 16 ч. Если штамм

продуцировал ТКПА, то за счет биосинтеза на поверхности клеток данных пилей наблюдалась самоагглютинация бактерий и выпадение их в осадок на дно пробирки. Если штамм не синтезировал пили, осадок клеток отсутствовал.

Результаты и обсуждение

На первом этапе работы нами был проведен сравнительный анализ способности взятых для исследования штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор усваивать различные углеводы. В результате проведенных исследований выявлено, что геноварианты, так же, как и типичные Эль Тор и классические вибрионы, не способны ферментировать арабинозу и рамнозу, но используют для метаболизма маннозу, сахарозу и маннит.

Далее была изучена способность геновариантов к ферментации глюкозы. Как известно, глюкоза является основным субстратом, который используется в качестве источника питания и получения энергии у большинства микроорганизмов, в том числе и у холерного вибриона. По данным зарубежных исследователей, установлено, что Эль Тор вибрионы способны хорошо расти в присутствии больших концентраций глюкозы (до 3 %), в то же время рост классических вибрионов на средах, содержащих 1 % глюкозы, отсутствует [15]. В результате проведенных нами исследований выявлено, что при концентрации глюкозы 0,4 % в среде выращивания все штаммы давали хороший рост. В то же время при увеличении концентрации глюкозы до 0,5 % у геновариантов наблюдался слабый рост, а при концентрации 1 % вырастали только типичные штаммы Эль Тор вибрионов, а геноварианты, как и классические вибрионы, не росли при данной концентрации углевода (таблица). На основе полученных результатов было высказано предположение, что у геновариантов снизилась способность к ферментации глюкозы.

Однако остается неясным способны ли геноварианты как типичные Эль Тор вибрионы ферментировать глюкозу до ацетилметилкарбинола (ацетина) в реакции Фогес-Проскауэра. Как известно, метаболизм глюкозы в штаммах классического и Эль Тор биоваров происходит по различным путям [15]. Типичные Эль Тор вибрионы полностью ферментируют глюкозу до ацетилметилкарбинола и далее до диацетила или 2,3-бутандиона, который имеет нейтральный pH [4]: глюкоза $\rightarrow$ пируват $\rightarrow$ ацетолактат $\rightarrow$ ацетонин (ацетилметилкарбинол) $\rightarrow$ 2,3-бутандион. Классические вибрионы разлагают глюкозу до органических кислот, которые сильно закисляют среду: глюкоза $\rightarrow$ пируват $\rightarrow$ органические кислоты (молочная, уксусная, муравьиная).

Поскольку холерный вибрион является кислотоустойчивым организмом, то резкое снижение pH среды при росте в богатой углеводами среде (питательные среды с 1 % глюкозы и выше, кишечник человека, хитин-содержащие поверхности ракообразных в водной среде) оказывает ингибирующее влияние на рост и размножение классических вибри-

Ферментация глюкозы, продукция белков внешней мембраны и токсинорегулируемых пилей адгезии штаммами *V. cholerae*

Штамм <i>V. cholerae</i>	Место и год выделения	Характеристика штамма по содержанию гена <i>ctxB</i>	Образование ацетона в реакции Ф-П	Рост на минимальном агаре с глюкозой*			Продукция белков внешней мембраны		Продукция ТКПА**
				0,4 %	0,5 %	1 %	OmpU	OmpT	
M818	Саратов, 1970	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	++	—	—
M713	Москва, 1970	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	++	—	—
M738	Пермь, 1970	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	+	++	—
M886	Астрахань, 1970	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	+	++	—
M1261	Пермь, 1990	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	++	—	—
M1013	Башкирия, 1972	Типичный Эль Тор	+	+	+	+	+	++	—
M1264	Краснодар, 1993	Геновариант	±	+	с.р	—	++	+	—
M1272	Краснодар, 1993	Геновариант	±	+	с.р	—	—	+	—
M1270	Татарстан, 1993	Геновариант	±	+	с.р	—	++	++	+
M1297	Дагестан, 1993	Геновариант	±	+	с.р	—	++	+	—
M1266	Пермь, 1994	Геновариант	±	+	с.р	—	++	+	—
M1293	Дагестан, 1994	Геновариант	±	+	с.р	—	+	++	—
M1269	Магнитогорск, 1994	Геновариант	±	+	с.р	—	+	+	—
P17644	Ачинск, 1997	Геновариант	±	+	с.р	—	++	—	—
P17645	Иркутск, 1997	Геновариант	±	+	с.р	—	++	—	—
M1344	Казань, 2001	Геновариант	±	+	с.р	—	+	+	+
M1345	Казань, 2001	Геновариант	±	+	с.р	—	++	+	+
M1429	Башкирия, 2004	Геновариант	±	+	с.р	—	++	+	—
M1430	Тверь, 2005	Геновариант	±	+	с.р	—	++	—	—
P18899	Мурманск, 2006	Геновариант	±	+	с.р	—	—	++	—
L3226	Москва, 2010	Геновариант	±	+	с.р	—	++	+	—
L4150	Москва, 2010	Геновариант	±	+	с.р	—	++	+	+
301	Таганрог, 2011	Геновариант	±	+	с.р	—	+	+	—
569B	Индия, 1950	Классический	—	+	с.р	—	н.о	н.о	н.о
Дакка 35	Пакистан, 1958	Классический	—	+	с.р	—	н.о	н.о	н.о
B-1307	Пакистан, 1964	Классический	—	+	с.р	—	н.о	н.о	н.о

*Рост штаммов на минимальном агаре с добавлением разных концентраций глюкозы, «+» — хороший рост, с.р. — слабый рост, «-» — рост отсутствует.

**Продукция токсинорегулируемых пилей адгезии (ТКПА) определена методом самоагглютинации бактерий в АК1 бульоне, «+» — наличие самоагглютинации (штамм синтезирует ТКПА), «-» — отсутствие самоагглютинации; н.о. — не определяли.

Примечания: Ф-П — реакция Фогес-Проскауэра; «+» — положительная (малиновое окрашивание среды); «-» — отрицательная (желтое окрашивание среды); «±» — слабо положительная реакция (темно-розовое окрашивание среды).

онов [15]. В то же время Эль Тор вибрионы достигают высокой плотности в данных условиях существования, что дает им преимущества для выживания. Высказывается предположение, что продукция 2,3-бутандиона Эль Тор вибриона была эволюционно выгодной и явилась одной из причин вытеснения ими штаммов классического биовара и быстрого распространения холеры Эль Тор по всему миру [15].

При постановке реакции Фогес-Проскауэра было выявлено, что все изученные типичные штаммы *V. cholerae* биовара Эль Тор давали положительную реакцию Ф-П (малиновое окрашивание), что указывает на их способность полностью разлагать глюкозу до ацетилметилкарбинола. Взятые для сравнения штаммы классических вибрионов не образовывали ацетилметилкарбинол и давали отрицательную реакцию Ф-П. У геновариантов наблюдалось темно-розовое окрашивание среды, что учитывается как слабо положительная реакция. Полученные нами результаты согласуются с данными зарубежных исследователей, показавших, что штаммы измененных вариантов *V. cholerae* биовара Эль Тор, выделенные в Бангладеш (Матлаб, 2001–2005 гг.) и на Гаити (2010 г.), также давали слабо положительную реакцию Ф-П [14].

Таким образом, полученные экспериментальные данные показывают, что изученные нами штам-

мы геновариантов, в отличие от типичных Эль Тор вибрионов, не способны полностью ферментировать глюкозу до ацетилметилкарбинола и занимают промежуточное положение между классическими и Эль Тор вибрионами.

Согласно данным литературы продукция ацетилметилкарбинола непосредственно контролируется белком AphA, который является одним из центральных регуляторных генов вирулентности [5]. Данный белок повышает транскрипцию генов, кодирующих биосинтез холерного токсина, подавляя при этом образование ацетилметилкарбинола (2,3-бутандиона). В штаммах холерного вибриона классического биовара, отличающихся от Эль Тор вибрионов повышенным биосинтезом холерного токсина, AphA более активно подавляет продукцию ацетилметилкарбинола [4,15]. Возможно, в результате приобретения геновариантами нового генетического материала (ген *ctxB* классических вибрионов) у них произошло изменение регуляторных механизмов, в том числе увеличилась продукция белка AphA (и соответственно биосинтез холерного токсина), но снизилась способность к ферментации глюкозы и образованию ацетилметилкарбинола. Однако для подтверждения данного предположения необходимо проведение дополнительных исследований.

На следующем этапе работы, учитывая, что координированная экспрессия генов вирулентности возбудителя холеры происходит через регуляторный каскад, в котором кроме белка AphA участвуют и другие регуляторные белки [5], нами был проведен анализ экспрессии двух других глобальных белков-регуляторов – ToxR и ToxT, непосредственно контролирующих продукцию основных факторов патогенности – холерного токсина и токсинорегулируемых пилей адгезии. При этом ToxR, независимо от других регуляторных белков, контролирует продукцию белков внешней мембраны OmpU и OmpT, активируя транскрипцию OmpU и репрессируя OmpT [5].

При анализе белкового спектра изучаемых штаммов различия между типичными изолятами и генетически измененными вариантами по биосинтезу белков OmpU/OmpT не выявлены. Все изученные типичные штаммы и 88 % геновариантов синтезировали белок OmpU, что указывает на активную экспрессию белка ToxR как в типичных изолятах, так и в штаммах геновариантов.

При анализе продукции ТКПА методом самоагглютинации было установлено, что ряд штаммов геновариантов (M1270, M1344, M1345 и L4150), в отличие от типичных изолятов, давали положительную реакцию самоагглютинации, что указывает на повышенный биосинтез ТКПА у данных штаммов и повышенную экспрессию ToxT. В то же время у большинства штаммов геновариантов изменений в продукции ТКПА не выявлено. Таким образом, для выявления изменений в экспрессии ТКПА, а также регуляторного белка ToxT в штаммах геновариантов необходимо проведение исследований по количественному определению продукции данных белков.

Итак, при сравнительном анализе способности штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор ферментировать углеводы установлено, что у генетически измененных вариантов изменился метаболизм глюкозы, что, возможно, явилось последствием изменения некоторых механизмов регуляции генов вирулентности.

Работа выполнена по государственному контракту № 53-Д от 04.06.2012 г. в рамках федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации 2009–2014 гг.» и РФФИ № 12-04-00285-а.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лабораторная диагностика холеры. МУК 4.2.2218-07. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2007.
2. Смирнова Н.И., Горяев А.А., Заднова С.П., Краснов Я.М., Лозовский Ю.В., Кутырев В.В. Генетическая характеристика клинических штаммов *Vibrio cholerae*, завезенных на территорию Российской Федерации в современный период. *Мол. генет., микробиол. и вирусол.* 2011; 3:3–10.
3. Callahan L.T., Richardson S.H. Biochemistry of *Vibrio cholerae* virulence. III. Nutritional requirements for toxin production and the effects of pH on toxin elaboration in chemically defined media. *Infect. Immun.* 1973; 7:567–72.
4. De S.N., Chatterjee D.N. Experimental study of mechanism of action of *Vibrio cholerae* on intestinal mucous membrane. *J. Path. Bacteriol.* 1953; 66:559–62.
5. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio cholerae* genomics and molecular biology. Caister Academic Press, Norfolk, UK; 2008. 218 p.
6. Iwanaga M., Yamamoto K., Higa N., Ichinose Y., Nakasone N., Tanabe M. Culture conditions for stimulating cholera toxin production by *Vibrio cholerae* O1 El Tor. *Microbiol. Immunol.* 1986;

30:1075–83.

7. Liang W., Silva A.J., Benitez J.A. The cyclic AMP receptor protein modulates colonial morphology in *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007; 73:7482–7.
8. Kaper J.B., Morris J.G., Levine M.M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8:48–86.
9. Kovacicikova G., Lin W., Skorupski K. Dual regulation of genes involved in acetoin biosynthesis and motility/biofilm formation by the virulence activator AphA and the acetate-responsive LysR-type regulator AlsR in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2005; 57:420–33.
10. Mustachio L.M., Aksit S., Mistry R.H., Scheffler R., Yamada A., Liu J.M. The *Vibrio cholerae* mannitol transporter is regulated posttranscriptionally by the MtlS small regulatory RNA. *J. Bacteriol.* 2012; 194:598–606.
11. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., Kamruzzaman M., Siddique A.K., Sack D.A. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype EL Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40:3296–9.
12. Poncet S., Milohanic E., Maze A., Nait Abdallah J., Ake F., Larribe M., Deghmane A.E., Taha M.K., Dozot M., De Bolle X., Letesson J.J., Deutscher J. Correlations between carbon metabolism and virulence in bacteria. *Infect. Immun.* 2009; 16:88–102.
13. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18(1):46–54.
14. Son M.S., Megli C.J., Kovacicikova G., Qadri F., Taylor R.K. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49:3739–49.
15. Yoon S.S., Mekalanos J.J. 2,3-butanediol synthesis and emergence of the *Vibrio cholerae* El Tor biotype. *Infect. Immun.* 2006; 74:6547–56.

References

1. [Laboratory diagnostics of cholera. Methodological recommendations]. MR 4.2.2218-07. M.: Rosptrebnadzor Federal Center of Hygiene and Epidemiology; 2007.
2. Smirnova N.I., Goryaev A.A., Zаднова S.P., Krasnov Ya.M., Lozovsky Yu.V., Kutyrev V.V. [Genetic characteristics of clinical *Vibrio cholerae* strains imported to the territory of the Russian Federation in the modern period]. *Mol. Gen. Microbiol. Virusol.* 2011; 3:3–10.
3. Callahan L.T., Richardson S.H. Biochemistry of *Vibrio cholerae* virulence. III. Nutritional requirements for toxin production and the effects of pH on toxin elaboration in chemically defined media. *Infect. Immun.* 1973; 7:567–72.
4. De S.N., Chatterjee D.N. Experimental study of mechanism of action of *Vibrio cholerae* on intestinal mucous membrane. *J. Path. Bacteriol.* 1953; 66:559–62.
5. Faruque S.M., Nair G.B. *Vibrio cholerae* genomics and molecular biology. Caister Academic Press, Norfolk, UK; 2008. 218 p.
6. Iwanaga M., Yamamoto K., Higa N., Ichinose Y., Nakasone N., Tanabe M. Culture conditions for stimulating cholera toxin production by *Vibrio cholerae* O1 El Tor. *Microbiol. Immunol.* 1986; 30:1075–83.
7. Liang W., Silva A.J., Benitez J.A. The cyclic AMP receptor protein modulates colonial morphology in *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007; 73:7482–7.
8. Kaper J.B., Morris J.G., Levine M.M. Cholera. *Clin. Microbiol. Rev.* 1995; 8:48–86.
9. Kovacicikova G., Lin W., Skorupski K. Dual regulation of genes involved in acetoin biosynthesis and motility/biofilm formation by the virulence activator AphA and the acetate-responsive LysR-type regulator AlsR in *Vibrio cholerae*. *Mol. Microbiol.* 2005; 57:420–33.
10. Mustachio L.M., Aksit S., Mistry R.H., Scheffler R., Yamada A., Liu J.M. The *Vibrio cholerae* mannitol transporter is regulated posttranscriptionally by the MtlS small regulatory RNA. *J. Bacteriol.* 2012; 194:598–606.
11. Nair G.B., Faruque S.M., Bhuiyan N.A., Kamruzzaman M., Siddique A.K., Sack D.A. New variants of *Vibrio cholerae* O1 biotype EL Tor with attributes of the classical biotype from hospitalized patients with acute diarrhea in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40:3296–9.
12. Poncet S., Milohanic E., Maze A., Nait Abdallah J., Ake F., Larribe M., Deghmane A.E., Taha M.K., Dozot M., De Bolle X., Letesson J.J., Deutscher J. Correlations between carbon metabolism and virulence in bacteria. *Infect. Immun.* 2009; 16:88–102.
13. Safa A., Nair G.B., Kong R.Y. Evolution of new variants of *Vibrio cholerae* O1. *Trends Microbiol.* 2010; 18(1):46–54.
14. Son M.S., Megli C.J., Kovacicikova G., Qadri F., Taylor R.K. Characterization of *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype variant clinical isolates from Bangladesh and Haiti, including a molecular genetic analysis of virulence genes. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49:3739–49.
15. Yoon S.S., Mekalanos J.J. 2,3-butanediol synthesis and emergence of the *Vibrio cholerae* El Tor biotype. *Infect. Immun.* 2006; 74:6547–56.

Authors:

Zаднова С.П., Крепостнова И.М., Лозовский Ю.В. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

Об авторах:

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

Поступила 02.09.13.

Я.М.Краснов, Н.П.Гусева, Н.А.Шарапова, А.В.Черкасов

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ СЕКВЕНИРОВАНИЯ ДНК (ОБЗОР)

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

Стремительно развивающиеся технологии секвенирования создали возможность определения нуклеотидной последовательности ДНК полного индивидуального генома человека всего за несколько недель. Производительность некоторых секвенаторов измеряется уже многими сотнями миллиардов пар оснований за рабочий цикл.

В обзоре рассмотрены принципы и аналитические возможности современных методов секвенирования ДНК, которые условно разделены на три основных вида: классические – секвенирование с помощью капиллярного электрофореза и пиросеквенирование; новые («второго» поколения – Next Generation Sequencing – NGS) – проводят одновременно секвенирование миллионов фрагментов ДНК, каждый из которых представлен кластером из многих тысяч или сотен тысяч своих клонов – это высокопроизводительное пиросеквенирование, циклическое лигазное и полупроводниковое секвенирование; секвенирование на молекулярных кластерах с использованием флуоресцентно меченных предшественников; новейшие («третьего» поколения – Next-Next Generation Sequencing – NNGS) методы секвенирования, которые считывают информацию с миллионов единичных фрагментов ДНК без их предварительного клонирования.

Ключевые слова: секвенирование, методы, ДНК.

Ya.M.Krasnov, N.P.Guseva, N.A.Sharapova, A.V.Cherkasov

Modern Methods of DNA Sequencing (Scientific Review)

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

Rapidly developing sequencing technologies have provided the possibility for identification of a DNA nucleotide sequence of a whole individual human genome just in a couple of weeks. Working capacity of some sequencers is already measured in thousands of millions of base pairs per an operating cycle.

Reviewed have been the basic principles and analytical potential of the modern methods for DNA sequencing which are nominally subdivided into three major types: classical – capillary electrophoresis sequencing and pyrosequencing, novel (Next Generation Sequencing – NGS) – simultaneous sequencing of millions of DNA fragments, each one of which is a cluster containing many thousands or hundreds of thousands of their clones – high-performance pyrosequencing, cyclic ligase and semiconducting sequencing, molecular-cluster-based sequencing using fluorescent-labeled precursors; and cutting-edge methods – (Next-Next Generation Sequencing – NNGS) – the ones that read millions of single DNA fragments without pre-cloning.

Key words: sequencing, methods, DNA.

Классические методы секвенирования ДНК

Классические методы секвенирования ДНК были разработаны в конце прошлого века и в настоящее время имеют самое широкое распространение в научно-исследовательских и медико-диагностических учреждениях.

Секвенирование методом терминации цепи с помощью капиллярного электрофореза. Для проведения секвенирования с помощью капиллярного электрофореза используют самый распространенный на сегодняшний день способ подготовки ДНК – «метод терминации цепи» или «дидезокси метод», разработанный в 70-х годах прошлого века F.Sanger [26]. В 1985 г. этот метод был существенно улучшен, после того как радиоактивную метку смогли заменить светящейся флуоресцентной [31].

Особенность метода «терминации цепи» заключается в использовании химически модифицированных дезоксирибонуклеотидов, составляющих нуклеотидную последовательность ДНК. Каждая разновидность нуклеотида «помечена» своей флуоресцентной молекулой-маркером. Когда один из

таких модифицированных нуклеотидов при синтезе комплементарной цепи ДНК встраивается в нее, дальнейшая достройка этой цепи прекращается. Видоизмененные разновидности нуклеотидов присутствуют в реакционной смеси в значительно меньших количествах, чем обычные нуклеотиды. В результате получается смесь, содержащая полный набор синтезированных фрагментов ДНК, каждый из которых начинается в одном и том же месте, но заканчивается во всех возможных положениях вдоль цепи ДНК-матрицы [3].

Автоматические секвенаторы разделяют эти фрагменты по величине, как ионы, движущиеся в электрическом поле от «минуса» к «плюсу», пропускающая всю смесь через тончайшие капилляры, наполненные гелем. По мере того, как появляется очередной фрагмент, он освещается лазером, что заставляет светиться меченый нуклеотид на его конце. Таким образом, друг за другом определяются разновидности меченых нуклеотидов на концах всех фрагментов и составляется полная нуклеотидная последовательность исследуемого образца ДНК [2, 3].

Относительно невысокая стоимость, точность, а также простота автоматизации делают этот метод широко используемым в лабораторной практике. В современной интерпретации данный метод позволяет за один рабочий цикл (ран) в одном капилляре с точностью до 98 % определить последовательность ДНК длиной до 1000 пар нуклеотидов (п.н.) [4, 10, 11].

В начале XXI века достигнут предел производительности секвенаторов на основе капиллярного электрофореза, в одном приборе до 384 капилляров. Самые высокопроизводительные модели капиллярных секвенаторов – «MegaBACE 4500» (384 капилляра) и «3730xl DNA Analyzer» (96 капилляров) – способны секвенировать за одни сутки тысячи фрагментов ДНК длиной до 900 п.н. с точностью 95–98 % [4, 10]. Метод терминации цепи был использован при секвенировании первого генома человека, но при таких масштабах оказался очень дорогостоящим и медленным [15].

Пиросеквенирование ДНК. Метод пиросеквенирования основан на определении пирофосфата, образующегося при синтезе комплементарной цепи ДНК. В 1988 г. Е.Нуман впервые предложил использовать этот метод для секвенирования [14]. В 1996 г. Р.Нугэн и М.Ронагхи завершили детальную разработку данного метода [24, 25].

Согласно этой технологии растворы четырех типов нуклеотидов добавляются последовательно в процессе секвенирования фрагментов ДНК и отмываются после каждой реакции. При включении очередного нуклеотида в синтезируемую комплементарную цепь на подготовленной одноцепочечной ДНК-матрице происходит детекция высвобождающегося пирофосфата путем связывания его с белком люциферазой и в итоге получением светового сигнала. В течение реакции комплементарная цепь ДНК достраивается, а последовательность нуклеотидов определяется по световым сигналам в виде пиков на пирограмме, интенсивность которых пропорциональна количеству встроенных в цепь ДНК нуклеотидов одного вида из очередной реакционной смеси [23].

Простые химические реакции и надежная система детекции исключают необходимость использования в данном методе гелей, электрофореза и специфических флуоресцентных меток. Лидирующей в этом направлении корпорацией «Biotage AB» разработан ряд систем, в частности «PyroMark Q96 ID»,

которая имеет высокую скорость определения последовательности ДНК (96 образцов за 1 ч) с точностью до 99 %. В приборе при пиросеквенировании реагенты вводятся головкой струйного принтера в лунки планшета с образцами, после чего не удаляются, а расщепляются специальным ферментом – апиразой [23]. Однако метод не позволяет качественно определить длину секвенированных фрагментов ДНК более 200 п.н., а также точно определить в последовательности ДНК число одиночных одинаковых нуклеотидов более 6 подряд. Таким образом, метод эффективен для быстрого определения большого числа коротких последовательностей (маркерных зон) ДНК и РНК, выявления единичных мутаций нуклеотидов, повторного секвенирования и т.д. При этом значительно снижается время и стоимость исследования в сравнении с капиллярным электрофорезом [17, 23].

Методы секвенирования ДНК нового поколения

Чтобы снизить стоимость процедуры секвенирования и увеличить ее производительность, в новых методах определения нуклеотидной последовательности ДНК проводится секвенирование миллионов ее фрагментов одновременно. Отличительной особенностью методов секвенирования ДНК нового поколения является их направленность на получение нуклеотидных последовательностей целых геномов различных организмов, включая человека.

На рис. 1 показана общая схема основных этапов процесса подготовки ДНК к секвенированию методами нового поколения. Первый этап представляет собой фрагментацию длинных молекул ДНК ультразвуком или ферментативной рестрикцией до размера 50–1000 п.н. Далее следует стадия обработки концов ДНК-фрагментов, в результате которой удаляются или достраиваются выступающие концы фрагментов, а затем лигируются адаптерные олигонуклеотиды. Затем полученная библиотека амплифицируется для увеличения представительности каждого фрагмента ДНК. Последний шаг – создание молекулярных колоний путем клональной амплификации каждого фрагмента библиотеки на твердой поверхности (подложка или микросфера). На этой стадии точное измерение концентрации библиотеки фрагментов ДНК является критическим, так как позволяет оптимизировать кластерную плотность, одновременно избегая ее переполнения на подложке. В случае микросфер добиваются того, что в каждой микрокапле с реак-

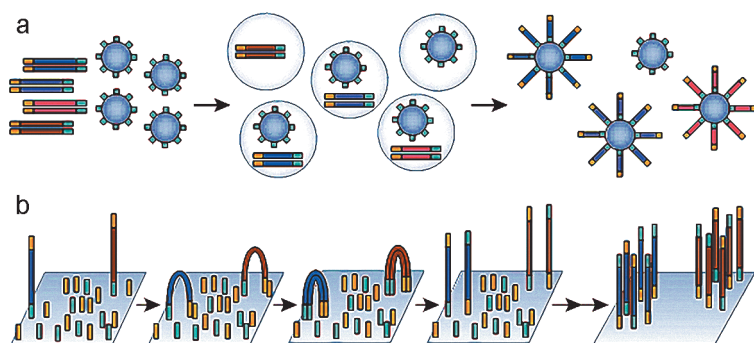


Рис. 1. Клональная амплификация секвенируемых фрагментов в методах NGS:

А – для платформ «GS FLX», «SOLiD» и «PGM» используется эмульсионная ПЦР на поверхности микросфер. Каждый фрагмент ДНК с обоих концов имеет адаптеры. На поверхности каждой микросферы прикреплен один вид праймеров, которые комплементарны одному из адаптеров на концах фрагментов ДНК; Б – технология «Solexa» использует кластерную ПЦР на подложке, поверхность которой покрывают праймеры двух типов, соединенные с ней через линкеры. Продукты амплификации, происходящие от любого одиночного фрагмента ДНК из библиотеки, остаются локально расположенными около места синтеза и снова амплифицируются по соседству

ционной смесью в составе водно-масляной эмульсии содержится не более одной микросферы и одного фрагмента ДНК, способного с ней связаться комплементарно. Клональная амплификация необходима для усиления сигнала детектирующего присоединения к комплементарной цепи очередного нуклеотида, или сшивание праймера с зондом в процессе секвенирования (доставления комплементарной цепи ДНК по ее одноцепочечной матрице). После клональной амплификации сигнал будет поступать уже от многих сотен тысяч копий одного анализируемого фрагмента ДНК.

Подготовленная таким образом библиотека ДНК помещается в секвенатор, где стадии подачи реактивов для секвенирования чередуются со стадиями сканирования поверхности и регистрации получаемых сигналов [20, 33, 34].

Сейчас высококачественного секвенирования геномов (точностью 99,999 % и более) добиваются, как минимум, после 30-кратного «прочтения» их последовательностей, секвенирование полного генома человека в этом случае требует прочтения не менее 90 млрд пар оснований ДНК. Последние модели секвенаторов нового поколения могут выполнить секвенирование до шестнадцати полных геномов человека всего за один рабочий цикл [33].

Высокопроизводительное пиросеквенирование ДНК. В 2004 г. компания «454 Life Sciences» дополнила метод пиросеквенирования возможностями современных технологий. Основой модификации явилось использование эмульсионной ПЦР с одновременной параллельной подготовкой многих сотен тысяч фрагментов ДНК для их секвенирования [12, 16, 34].

После проведения всех предварительных этапов пробоподготовки каждый из четырех видов нуклеотидов, смешанный с другими реактивами для пиросеквенирования, подается последовательно в проточную камеру, куда помещается подложка, имеющая несколько миллиардов лунок, заполненных микросферами (одна лунка – одна микросфера). Каждая микросфера содержит на своей поверхности после эмульсионной ПЦР многие сотни тысяч копий одного из исходных ДНК-фрагментов. Если в лунку попадает тип нуклеотидов, который комплементарен очередному нуклеотиду в доставляемой одноцепочечной цепи матрицы ДНК, то полимеразы встраивают эти нуклеотиды, что приводит через каскад реакций к высвобождению пирофосфата и генерации общего светового сигнала из лунки. Интенсивность сигнала из каждой лунки пропорциональна количеству нуклеотидов одного вида, встроенных в цепи ДНК за один проход реакционной смеси. Дно подложки находится в оптическом контакте с оптико-волоконным световодом, что позволяет регистрировать излучаемые фотоны со дна многих сотен тысяч лунок одновременно, в которых произошло встраивание очередного известного нуклеотида в доставляемые комплементарные цепи ДНК в процессе пиросеквенирования [12, 16, 34].

Длина единичного фрагмента ДНК, секвенируемого методом высокопроизводительного пиросеквенирования, достигает 1000 п.н. с точностью до 99 %. Производительность секвенирования последней из моделей – «GS FLX Titanium XL+» близка к 1 млрд п.н. за один рабочий цикл с консенсусной точностью до 99,997 % (при 15-кратном прочтении) [12, 34].

Секвенирование на молекулярных кластерах с использованием флуоресцентно меченных предшественников. В 2005 г. компанией «Illumina» предложен метод секвенирования ДНК на молекулярных кластерах с использованием флуоресцентно меченных предшественников, реализованный в виде платформы «Solexa» [6]. В этом методе фрагменты ДНК-матрицы фиксируют на подложке вместе с праймерами и проводят их амплификацию, в результате которой вокруг каждого исходного фиксированного фрагмента ДНК образуется около 1000 его копий. В целом на подложке образуются до миллиарда таких скоплений – кластеров (рис. 1, б) [1, 6, 33]. Далее ДНК денатурируют и проводят секвенирование ее одноцепочечных фрагментов. Для этого добавляют свободно плавающие праймеры и меченные флуоресцентными красителями разных цветов терминирующие нуклеотиды всех четырех типов, чтобы к каждому однонитевому фрагменту ДНК присоединился праймер и только 1 нуклеотид, цвет которого можно определить с помощью лазера. Затем присоединенный нуклеотид химически модифицируют, чтобы к нему мог присоединиться следующий терминирующий нуклеотид, таким образом, продолжают секвенс (доставление) комплементарной цепи, детектируя прибором флуоресценцию из многих сотен миллионов точек-кластеров одновременно [1, 33].

Длина единичного фрагмента ДНК, секвенируемого данным методом, достигает 300 п.н. с точностью 99 %. Последняя выпущенная компанией «Illumina» система секвенирования – «HiSeq X» за один цикл способна секвенировать до 16 полных геномов человека с 30-кратным перекрытием (1600 млрд. п.н.) и консенсусной точностью до 99,999 % [33].

Циклическое лигазное секвенирование. В 2007 г. компанией «Applied Biosystems» (теперь входит в состав корпорации «Life Technologies») была представлена платформа «SOLiD» на основе технологии циклического лигазного секвенирования. В данном методе также используют эмульсионную ПЦР, после которой каждая из микросфер содержит на своей поверхности около миллиона копий одного из исходных ДНК-фрагментов. Затем фрагменты ДНК денатурируют и модифицируют по 3' концу, что позволяет ковалентно связать миллиарды микросфер, покрытых фрагментами ДНК, с подложкой. Затем следует процесс циклического лигазного секвенирования. К одноцепочечной матрице ДНК присоединяют праймер и добавляют синтезированные флуоресцентно меченные восьмичленные олигонуклеотидные зонды. Каждый зонд в позиции 1 и 2 содержит

два известных нуклеотида, которые в сочетании со следующими тремя основаниями должны иметь комбинацию последовательности, комплементарную соответствующим коротким фрагментам матрицы. Последние 3 основания, одинаковые (универсальные) для всех зондов, имеют на конце флуоресцентную метку. После того, как один из зондов комплементарно связывается с первыми пятью основаниями от праймера на одноцепочечной матрице ДНК, лигаза сшивает его с праймером. При этом метка детектируется и удаляется вместе с последними тремя универсальными нуклеотидами зонда. Затем происходит сшивание (лигирование) другого зонда, комплементарно соединившегося со следующими пятью основаниями, от зонда уже присоединенного ранее и так далее до конца матрицы ДНК. После чего построенная комплементарная цепь удаляется, а к матрице добавляется праймер, который смещен по месту посадки на один нуклеотид относительно посадки предыдущего праймера, и весь процесс достройки второй цепи методом лигирования повторяется. Для определения полной последовательности секвенируемого фрагмента нужно провести эту процедуру с пятью праймерами, каждый из которых смещен относительно предыдущего праймера по месту посадки на один нуклеотид [20].

Длина единичного фрагмента ДНК, секвенируемого методом лигирования, достигает 75 п.н. с точностью до 99,99 %. Выпущенный компанией «Applied Biosystems» прибор «5500xl SOLiD System» способен за один цикл секвенировать 3 полных генома человека с 30-кратным покрытием и точностью 99,9999 % [5].

Полупроводниковое секвенирование. В 2010 г. компания «Ion Torrent» (США) (теперь входит в состав корпорации «Life Technologies») представила метод секвенирования ДНК на полупроводниковом чипе (Semiconductor sequencing) [28]. Данный метод не требует модификации нуклеотидных оснований, хемилюминесцентных или флуоресцентных меток. Когда нуклеотид включается в комплементарную достраиваемую цепь ДНК полимеразой, происходит выделение водородного иона как побочного продукта, что изменяет pH реакционной смеси, определение этого изменения pH положено в основу детекции последовательности нуклеотидов ДНК при полупроводниковом секвенировании.

Пробоподготовка ДНК в данном методе практически не отличается от уже описанной для лигационного секвенирования. Проведение предварительной эмульсионной ПЦР здесь необходимо для усиления сигнала об изменении в значении pH. Это изменение pH в каждой отдельной лунке на чипе будет давать около миллиона копий одного из исходных ДНК-фрагментов, прикрепленных к поверхности микро-сферы. Для этого подготовленную таким образом библиотеку ДНК денатурируют и распределяют на микроэлектронный чип, имеющий миллионы микро-лунок (одна лунка – одна микро-сфера) с иончувствительной поверхностью, связанной с датчиками. Затем последовательно добавляют реакционные ПЦР смеси, отличающиеся по составу наличием в них только одного из 4 видов нуклеотидов, и детектируют изменение pH в лунках, где произошло встраивание этих нуклеотидов в комплементарные цепи ДНК-матриц. Основанный на данной технологии секвенатор «Personal Genome Machine» (PGM) в настоящее время за один цикл определяет до 2 млрд п.н., при этом длина единичного прочтения превышает 400 п.н. с точностью 99,5 %. Метод полупроводникового секвенирования быстро совершенствуется и за последние 2 года увеличил свою производительность в 100 раз [28]. Выпущенный новый прибор «Ion Proton» на основе данной технологии нацелен на секвенирование генома человека. В 2014 г. данная платформа за один цикл будет определять до 60 млрд п.н. [28].

Описанные системы секвенирования второго поколения значительно отличаются по производительности, стоимости и продолжительности рабочего цикла. По сочетанию всех этих параметров наиболее оптимальной для персонализации медицины выглядит система «HiSeq X», «NextSeq 500» и «Ion Proton», а для секвенирования бактериальных геномов – «MiSeq», или «PGM» (таблица).

Методы секвенирования новейшего поколения

Методы секвенирования третьего поколения (NNGS) призваны исправить основные недостатки методов второго поколения, а именно: сложную пробоподготовку, небольшую длину единичных прочтений, потребность в усилении сигнала от каждого из анализируемых фрагментов ДНК путем их амплификации, длительное время цикла, необходимость

Сравнительная характеристика NGS и NNGS секвенаторов (январь 2014 г.)

Характеризуемый показатель	Модели секвенаторов							
	NGS							NNGS
	GS Junior	FLX Ti+	MiSeq	HiSeq X	5500 xl	Ion Proton	PGM	PacBio RS
	Roche		Illumina			Life Technologies		Pacific Biosciences
Длина единичного «прочтения», п.н.	450	800	300	150	60	200	400	8500
Продолжительность этапа секвенирования, сут	0,42	0,42	0,3	3	7	0,17	0,3	0,1
Число секвенируемых нуклеотидов за цикл, млрд. п.н.	0,035	1	15	1600	180	10	2	6
Стоимость одного цикла (без приготовления библиотек), тыс. \$*	0,8	8	0,7	12	4	1,3	0,5	0,1

*Приблизительная стоимость одного цикла работы прибора в США (без приготовления библиотек).

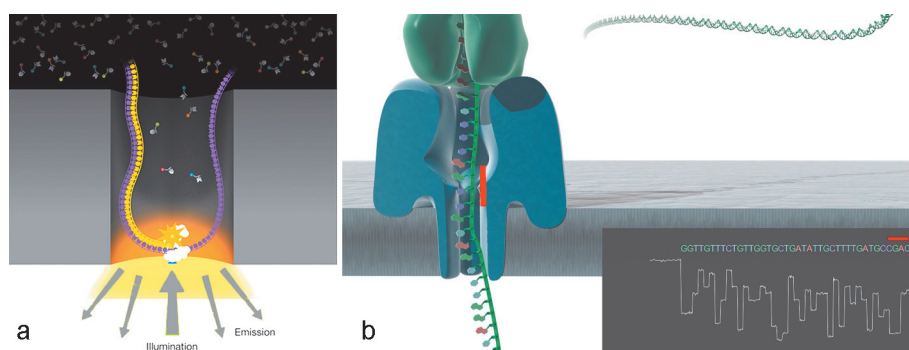


Рис. 2. Детекция сигнала при секвенировании:

А – на платформе «SMRT»; Б – по технологии «Oxford Nanopore»

многочисленного повторного секвенирования [8, 9, 19, 21, 32].

Технология секвенирования одной молекулы. В 2008 г. компания «Helicos BioSciences» впервые продемонстрировала на своем приборе метод секвенирования нуклеотидной последовательности единичных фрагментов ДНК без их предварительной амплификации [29]. Эта технология – «tSMS» (true Single Molecule Sequencing) обладает очень высокой чувствительностью, благодаря разработанному компанией сверхнизкому фоновому свечению поверхности подложки, реагентам для секвенирования и способу визуализации. Согласно новому методу, ДНК разделяется на небольшие фрагменты, и к одному из концов каждого фрагмента с помощью специального фермента прикрепляют длинную последовательность из молекул аденина, имеющую в конце светящуюся метку. На специальную подложку прикрепляют последовательности из молекул тимина на расстоянии, позволяющем анализировать каждый фрагмент по отдельности. Когда образцы распределяют на подложку, то происходит комплементарное связывание последовательностей из тимина, прикрепленных на ее поверхности, с адениновыми последовательностями, связанными с фрагментами ДНК. Далее подложка сканируется, и по свечению меток находят положение каждого присоединенного отрезка молекулы ДНК. Затем метку удаляют и добавляют по очереди каждый из четырех типов меченых нуклеотидов, детектируя свечение в местах связывания, после чего метки от присоединенных нуклеотидов удаляют и вводят следующий тип меченых нуклеотидов. Так, нуклеотид за нуклеотидом последовательность достраивается по комплементарной цепи ДНК, что позволяет секвенировать фрагменты длиной до 55 п.н. Компьютер записывает положение миллионов вспышек после каждой реакции. Такая система обеспечивает прочтение миллиардов нуклеотидов в сутки с точностью до 99,999 % при 20-кратном перекрытии [29]. Однако прибор, основанный на данной технологии («Heli Score»), получился слишком дорогим, расход реагентов высоким при малой длине чтения нуклеотидных последовательностей. В ноябре 2012 г. компания «Helicos Bioscience» была признана банкротом и прекратила свое существование.

Секвенирование единичных молекул в реальном времени. В 2009 г. был представлен метод секвениро-

вания «Single Molecule RealTime» (SMRT), разработанный компанией «Pacific Biosciences». Секвенатор этой компании позволяет «читать» каждый фрагмент ДНК десятки раз, при этом консенсусная точность определения его нуклеотидной последовательности достигает 99,9 %. Технология данного метода основана на секвенировании в реальном времени единичных фрагментов ДНК длиной до 10000 п.н. и более с помощью ДНК-полимеразы [32]. На дно специальных ячеек, расположенных на прозрачном стекле, прикрепляются одиночные молекулы ДНК-полимеразы. Область вокруг закрепленного фермента просвечивается с помощью специального лазера. В каждую ячейку добавляют нуклеотиды всех четырех типов, помеченные разными светящимися маркерами. Область, которую анализирует лазер, столь мала, что меченые нуклеотиды не задерживаются в ней достаточно долго, чтобы их свечение было зафиксировано прибором. Если же ДНК-фрагмент удерживается полимеразой, то во время достройки его комплементарной цепи сигнал от каждого присоединившегося нуклеотида фиксируется в сканируемой области. После присоединения очередного нуклеотида его светящаяся метка удаляется (рис. 2, а). Прибор «PacBio RS», основанный на этой технологии, имеет высокую собственную стоимость, но в то же время экспрессную пробоподготовку, высокую скорость и низкую стоимость секвенирования ДНК (таблица).

Секвенирование через нанопоры. Возможность использовать матрицы с нанопорами для быстрого секвенирования ДНК исследуется уже более 15 лет в научных центрах Европы и США [7, 8, 9, 18, 19, 21]. Нанопоры представляют собой нано-отверстия, которые могут быть биологическими, например порообразующий белок в мембране как липидный бислой, или твердотельными (из таких синтетических материалов, как нитрид кремния или графен). При секвенировании через нанопоры используется физическое различие между нуклеотидными основаниями для их идентификации в молекуле ДНК. Отрицательно заряженный одноцепочечный фрагмент ДНК длиной в несколько тысяч нуклеотидов протягивают через пору в мембране диаметром 2–5 нм, регистрируя изменение электропроводности нанопоры при помощи электродов по мере поочередного прохождения через нее нуклеотидов. Каждому типу основания соот-

ветствует свое изменение электропроводности из-за различия между ними по размерам, поэтому они закрывают пору в большей или меньшей степени и на разную продолжительность. Соответственно этому изменяется и электропроводность (рис. 2, б). Однако данная технология имеет, по крайней мере, два серьезных технических препятствия для реализации: отсутствие надежного подхода к контролю продвижения ДНК через нанопоры и технические трудности в создании достаточно малых датчиков [9].

В одном из вариантов для замедления прохождения фрагмента ДНК через нанопоры на его конец крепят магнитную микросферу. Чтобы тянуть молекулу за микросферу, используют магнит, включенное электрическое поле в то же время тянет ДНК в противоположную сторону, затягивая ее в отверстие нанопоры. Таким образом, скорость движения ДНК через нанопоры определяется балансом этих сил. При этом чтение последовательности нуклеотидов происходит со скоростью в сотни тысяч раз быстрее, по сравнению со стандартными методами секвенирования. Секвенирование генома человека займет в этом случае всего 20 ч, поскольку многократной амплификации матрицы не понадобится [21].

Другой предложенный фирмой «IBM» вариант технологии – «ДНК Транзистор», использует многослойную (диэлектрик-металл) мембрану. Изменение напряжения между адресными слоями металла в мембране создает электрические поля внутри нанопор, циклически включая и выключая которые можно двигать ДНК через нанопоры с шагом в один нуклеотид за цикл, улавливая датчиками разницу между возможными четырьмя вариантами оснований [9].

Существуют также другие варианты реализации секвенирования ДНК через нанопоры, но в настоящее время научно-исследовательские разработки нанопорных секвенаторов находятся на опытно-конструкторской стадии [13, 27, 30].

Недавно компания «Oxford Nanopore Technologies» заявила о том, что практически доработала технологию секвенирования на основе нанопор до ее коммерческого аппаратного воплощения. Выход первых нанопорных секвенаторов данной компании под названием «GridION» и «MinION» может состояться уже в 2015 г. Уровень ошибок данной технологии составит 0,1–1 %, а длина читаемых единичных фрагментов ДНК достигнет многих десятков тысяч нуклеотидов [22]. Это будет очередным прорывом в области секвенирования ДНК, так как время, затрачиваемое на данный процесс, и его стоимость уменьшатся на порядок.

На сегодняшний день из практически реализованных методов секвенирования третьего поколения функционирует только платформа «SMRT» (Pacific Biosciences). Вероятно, через несколько лет метод секвенирования ДНК через нанопоры станет доминирующим и вытеснит практически используемые методы второго поколения.

Таким образом, классические, новые и новейшие

методы секвенирования направлены на выполнение разноплановых задач, связанных с определением нуклеотидной последовательности ДНК. Методы секвенирования третьего поколения могут в ближайшее время заменить своих предшественников, в том числе стать практической альтернативой и для классических методов секвенирования ДНК.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скрыбин К.Г., Прохорчук Е.Б., Мазур А.М., Булыгина Е.С., Цыганкова С.В., Недолужко А.В., Расторгуев С.М., Матвеев В.Б., Чеканов Н.Н., Горанская Д.А., Теслюк А.Б., Груздева Н.М., Велихов В.Е., Заридзе Д.Г., Ковальчук М.В. Комбинирование двух технологических платформ для полногеномного секвенирования человека. *Acta Naturae*. 2009; 3:113–9.
2. Степухович А., Цуприк А., Кособокова О., Гаврилов Д., Горбовицкий Б., Гудков Г., Тышко Г., Черевикшик М., Горфинкель В. Анализ капиллярно-электрофоретических систем секвенирования ДНК. *Журн. технической физики*. 2008; 78(6):90–102.
3. Чемерис А.В., Ахунов Э.Д., Вахитов В.А. Секвенирование ДНК. М.: Наука; 1999. 428 с.
4. 3730x/ DNA Analyzer. [Internet] Life Technologies [cited 27 Jan 2014]. Available from: <https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/adirect/ab?cmd=catNavigate2&catID=601642&tab=TechSpec>
5. 5500 Series Genetic Analysis Systems. [Internet] Life Technologies 2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.appliedbiosystems.com/absite/us/en/home/applications-technologies/solid-next-generation-sequencing/next-generation-systems.html>
6. Bennett S.T., Barnes C., Cox A., Davies L., Brown C. Toward the 1,000 dollars human genome. *Pharmacogenomics*. 2005; 6(4):373–82.
7. Deamer D.W., Akeson M. Nanopores and nucleic acids: prospects for ultrarapid sequencing. *Trends Biotechnol.* 2000; 18(4):147–51.
8. DNA sequencing (solid state nanopores). [Internet] Oxford Nanopore Technologies 2008–2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.nanoporetech.com/sections/index/81>
9. DNA Transistor. [Internet] IBM [cited 27 Jan 2014]. Available from: http://researcher.watson.ibm.com/researcher/view_project.php?id=1120
10. GE Healthcare / Amersham Biosciences MegaBACE 4500 DNA Analysis System. [Internet] Artisan Technology Group [cited 27 Jan 2014]. Available from: http://www.artisanag.com/Scientific/70238-1/GE_Healthcare_Amersham_Biosciences_MegaBACE_4500_DNA_Analysis_System
11. GenomeLab GeXP Genetic Analysis System. [Internet] Beckman Coulter, Inc. [2000–2014, cited 27 Jan 2014]. Available from: <https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/wsr/research-and-discovery/products-and-services/capillary-electrophoresis/genomelab-gexp-genetic-analysis-system/index.htm?i=A26572>
12. GS FLX+ System. [Internet] 454 sequencing. Roche Diagnostics Corporation 1996–2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://my454.com/products/gs-flx-system/index.asp>
13. He H., Scheicher R.H., Pandey R., Rocha A.R., Sanvito S., Grigoriev A., Ahuja R., Karna S.P. Functionalized nanopore-embedded electrodes for rapid DNA sequencing. *J. Phys. Chem. C*. 2008; 112(10):3456–9.
14. Hyman E.D. A new method of sequencing DNA. *Anal Biochem*. 1988; 174(2):423–36.
15. Lander E.S., Linton L.M., Birren B., Nusbaum C., Zody M.C., Baldwin J. et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001; 409:860–921.
16. Margulies M., Egholm M., Altman W.E., Attiya S., Bader J.S., Bemben L.A., et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature*. 2005; 437:376–80.
17. Montero C.I., Shea Y.R., Jones P.A., Harrington S.M., Tooke N.E., Witebsky F.G., Murray P.R. Evaluation of Pyrosequencing Technology for the Identification of Clinically Relevant Non-Dematheaceous Yeasts and Related Species. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 27(9):821–30.
18. Nanopore Method Could Revolutionize Genome Sequencing. [Internet] Official web page of the University of California, San Diego [2006 Apr 6, cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://ucsdnews.ucsd.edu/newsrel/science/sfastdna.asp>
19. Nanopore Sequencing. [Internet] Harvard University [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.mcb.harvard.edu/branton/>
20. Overview of SOLiD™ Sequencing Chemistry. [Internet] Life Technologies 2013 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.appliedbiosystems.com/absite/us/en/home/applications-technologies/solid-next-generation-sequencing/next-generation-systems/solid-sequencing-chemistry.html>
21. Peng H., Ling X.S. Reverse DNA translocation through a solid-state nanopore by magnetic tweezers. *Nanotechnology*. 2009;

20:185101.

22. Press releases. [Internet] Oxford Nanopore Technologies 2008–2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <https://www.nanoporetech.com/news/press-releases>

23. PyroMark Q96 ID. [Internet] QIAGEN 2013 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.qiagen.com/products/catalog/automated-solutions/pyrosequencing/pyromark-q96-id>

24. Ronaghi M. Pyrosequencing Sheds Light on DNA Sequencing. *Genome Res.* 2001; 11:3–11.

25. Ronaghi M., Karamohamed S., Pettersson B., Uhlén M., Nyren P. Real-Time DNA Sequencing Using Detection of Pyrophosphate Release. *Anal. Biochem.* 1996; 242(1):84–9.

26. Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1977; 74(12):5463–7.

27. Schneider G.F., Kowalczyk S.W., Calado V.E., Pandraud G., Zandbergen H.W., Vandersypen Lieven M.K., Dekker C. DNA Translocation through Graphene Nanopores. *Nano Lett.* 2010; 10(8):3163–7.

28. Semiconductor Sequencing Technology [Internet]. Life Technologies Corporation; 2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/Products-and-Services/Applications/Sequencing/Semiconductor-Sequencing/Semiconductor-Sequencing-Technology.html>

29. Sequencing single molecules of DNA. Nature. Published online 3 April 2008 [cited 27 Jan 2014]. doi: 10.1038/news.2008.735. Available from: <http://www.nature.com/news/2008/080403/full/news.2008.735.html>

30. Singer A., Wanunu M., Morrison W., Kuhn H., Frank-Kamenetskii M., Meller A. Nanopore Based Sequence Specific Detection of Duplex DNA for Genomic Profiling. *Nano Lett.* 2010; 10:738–42.

31. Smith L.M., Sanders J.Z., Kaiser R.J., Hughes P., Dodd C., Connell C.R., Heiner C., Kent S.B., Hood L.E. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature.* 1986; 321(6071):674–9.

32. SMRT technology. [Internet] Pacific Biosciences of California, Inc. 2010 – 2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.pacificbiosciences.com/products/smrt-technology>

33. Systems / Sequencing Systems. [Internet]. Illumina, Inc.; 2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.illumina.com/systems/sequencing.ilmn>

34. The Technology. [Internet] 454 sequencing. Roche Diagnostics Corporation 1996–2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://454.com/products-solutions/how-it-works/index.asp>

References

- Skryabin K.G., Prokhorchuk E.B., Mazur A.M., Bulygina E.S., Tsygankova S.V., Nedoluzhko A.V., Rastorguev S.M., Matveev V.B., Chekanov N.N., Goranskaya D.A., Teslyuk A.B., Gruzdeva N.M., Velikhov V.E., Zaridze D.G., Koval'chuk M.V. [Combining two technologies for full genome sequencing of human]. *Acta Naturae.* 2009; 3:113–9.
- Stepukhovich A., Tsuprik A., Kosobokova O., Gavrilov D., Gorbovitsky B., Gudkov G., Tyshko G., Cherevishnik M., Gorfinkel' V. [Analysis of capillary-electrophoretic DNA sequencing systems]. *Zh. Tekhnich. Fiziki.* 2008; 78(6):90–102.
- Chemeris A.V., Akhunov E.D., Vakhitov V.A. [DNA Sequencing]. M.: Nauka; 1999. 428 p.
- 3730xl DNA Analyzer. [Internet] Life Technologies [cited 27 Jan 2014]. Available from: <https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/advert/ab?cmd=catNavigate2&catID=601642&tab=TechSpec>
- 5500 Series Genetic Analysis Systems. [Internet] Life Technologies 2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.appliedbiosystems.com/absite/us/en/home/applications-technologies/solid-next-generation-sequencing/next-generation-systems.html>
- Bennett S.T., Barnes C., Cox A., Davies L., Brown C. Toward the 1,000 dollars human genome. *Pharmacogenomics.* 2005; 6(4):373–82.
- Deamer D.W., Akeson M. Nanopores and nucleic acids: prospects for ultrarapid sequencing. *Trends Biotechnol.* 2000; 18(4): 147–51.
- DNA sequencing (solid state nanopores). [Internet] Oxford Nanopore Technologies 2008–2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.nanoporetech.com/sections/index/81>
- DNA Transistor. [Internet] IBM [cited 27 Jan 2014]. Available from: http://researcher.watson.ibm.com/researcher/view_project.php?id=1120
- GE Healthcare / Amersham Biosciences MegaBACE 4500 DNA Analysis System. [Internet] Artisan Technology Group [cited 27 Jan 2014]. Available from: http://www.artisanbg.com/Scientific/70238-1/GE_Healthcare_Amersham_Biosciences_MegaBACE_4500_DNA_Analysis_System
- GenomeLab GeXP Genetic Analysis System. [Internet] Beckman Coulter, Inc. [2000–2014, cited 27 Jan 2014]. Available from: <https://www.beckmancoulter.com/wsrportal/wsr/research-and-discovery/products-and-services/capillary-electrophoresis/genomelab-gexp-genetic-analysis-system/index.htm?i=A26572>
- GS FLX+ System. [Internet] 454 sequencing. Roche Diagnostics Corporation 1996–2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://my454.com/products/gs-flx-system/index.asp>
- He H., Scheicher R.H., Pandey R., Rocha A.R., Sanvito S., Grigoriev A., Ahuja R., Karna S.P. Functionalized nanopore-embedded electrodes for rapid DNA sequencing. *J. Phys. Chem. C.* 2008; 112(10):3456–9.
- Hyman E.D. A new method of sequencing DNA. *Anal. Biochem.* 1988; 174(2):423–36.
- Lander E.S., Linton L.M., Birren B., Nusbaum C., Zody M.C., Baldwin J., et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001; 409:860–921.
- Margulies M., Egholm M., Altman W.E., Attiya S., Bader J.S., Bemben L.A., et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature.* 2005; 437:376–80.
- Montero C.I., Shea Y.R., Jones P.A., Harrington S.M., Tooke N.E., Witebsky F.G., Murray P.R. Evaluation of Pyrosequencing Technology for the Identification of Clinically Relevant Non-Dematiaceous Yeasts and Related Species. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 27(9):821–30.
- Nanopore Method Could Revolutionize Genome Sequencing. [Internet] Official web page of the University of California, San Diego [2006 Apr 6, cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://ucsdnews.ucsd.edu/newsrel/science/sfastdna.asp>
- Nanopore Sequencing. [Internet] Harvard University [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.mcb.harvard.edu/branton/>
- Overview of SOLiD™ Sequencing Chemistry. [Internet] Life Technologies 2013 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.applied-biosystems.com/absite/us/en/home/applications-technologies/solid-next-generation-sequencing/next-generation-systems/solid-sequencing-chemistry.html>
- Peng H., Ling X.S. Reverse DNA translocation through a solid-state nanopore by magnetic tweezers. *Nanotechnology.* 2009; 20:185101.
- Press releases. [Internet] Oxford Nanopore Technologies 2008–2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <https://www.nanoporetech.com/news/press-releases>
- PyroMark Q96 ID. [Internet] QIAGEN 2013 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.qiagen.com/products/catalog/automated-solutions/pyrosequencing/pyromark-q96-id>
- Ronaghi M. Pyrosequencing Sheds Light on DNA Sequencing. *Genome Res.* 2001; 11:3–11.
- Ronaghi M., Karamohamed S., Pettersson B., Uhlén M., Nyren P. Real-Time DNA Sequencing Using Detection of Pyrophosphate Release. *Anal. Biochem.* 1996; 242(1):84–9.
- Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1977; 74(12):5463–7.
- Schneider G.F., Kowalczyk S.W., Calado V.E., Pandraud G., Zandbergen H.W., Vandersypen Lieven M.K., Dekker C. DNA Translocation through Graphene Nanopores. *Nano Lett.* 2010; 10(8):3163–7.
- Semiconductor Sequencing Technology [Internet]. Life Technologies Corporation; 2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/Products-and-Services/Applications/Sequencing/Semiconductor-Sequencing/Semiconductor-Sequencing-Technology.html>
- Sequencing single molecules of DNA. Nature. Published online 3 April 2008 [cited 27 Jan 2014]. doi: 10.1038/news.2008.735. Available from: <http://www.nature.com/news/2008/080403/full/news.2008.735.html>
- Singer A., Wanunu M., Morrison W., Kuhn H., Frank-Kamenetskii M., Meller A. Nanopore Based Sequence Specific Detection of Duplex DNA for Genomic Profiling. *Nano Lett.* 2010; 10:738–42.
- Smith L.M., Sanders J.Z., Kaiser R.J., Hughes P., Dodd C., Connell C.R., Heiner C., Kent S.B., Hood L.E. Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis. *Nature.* 1986; 321(6071):674–9.
- SMRT technology. [Internet] Pacific Biosciences of California, Inc. 2010 – 2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.pacificbiosciences.com/products/smrt-technology>
- Systems / Sequencing Systems. [Internet]. Illumina, Inc.; 2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://www.illumina.com/systems/sequencing.ilmn>
- The Technology. [Internet] 454 sequencing. Roche Diagnostics Corporation 1996–2014 [cited 27 Jan 2014]. Available from: <http://454.com/products-solutions/how-it-works/index.asp>

Authors:

Krasnov Ya.M., Guseva N.P., Sharapova N.A., Cherkasov A.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Краснов Я.М., Гусева Н.П., Шаранова Н.А., Черкасов А.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 26.03.12.

А.А.Петров, В.Н.Лебедев, В.М.Ручко, Н.В.Карулина, С.В.Борисевич

ОСОБЕННОСТИ ЦИРКУЛЯЦИИ ВИРУСА ВЕНЕСУЭЛЬСКОГО ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТА ЛОШАДЕЙ (ОБЗОР)

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

В обзоре рассмотрены некоторые особенности циркуляции вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ). Энзоотические штаммы вируса ВЭЛ в настоящее время играют все возрастающую роль как этиологические агенты заболеваний у людей. Большинство случаев ВЭЛ у людей в эндемичных регионах в межэпидемический период вызваны инфицированием вирусом ВЭЛ подтипа ID, который включает в себя 6 генотипов. От людей выделены генотипы Колумбия/Венесуэла, Панама/Перу и Перу/Боливия подтипа ID вируса ВЭЛ. Возможность возникновения новых эпидемических вспышек ВЭЛ обусловлена мутациями штамма ID подтипа в IC подтип, который и представляет в настоящее время потенциальную угрозу как этиологический агент заболевания.

Ключевые слова: венесуэльский энцефаломиелит лошадей, подтипы вируса венесуэльского энцефаломиелита лошадей, эпизоотические штаммы, энзоотические штаммы, генотип, вектор передачи.

A.A.Petrov, V.N.Lebedev, V.M.Ruchko, N.V.Karulina, S.V.Borisevich

Peculiarities of Circulation of Venezuelan Equine Encephalomyelitis Virus (Scientific Review)

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

Reviewed are some peculiarities of circulation of Venezuelan equine encephalomyelitis virus (VEE), the enzootic strains of which play an increasingly important part as etiological agents of human infections nowadays. The majority of VEE cases among the residents of the endemic regions within the inter-epidemic period are caused by the ID subtype of VEE that includes 6 genotypes. Isolated from humans have been the genotypes Columbia/Venezuela, Panama/Peru, and Peru/Bolivia, ID subtype of VEE. Possibility of emergence of new VEE outbreaks is associated with ID subtype mutation into the IC subtype, which is assumed to be a potential threat as etiological agent of the disease at present.

Key words: Venezuelan equine encephalomyelitis, subtypes of Venezuelan equine encephalomyelitis virus, epizootic strains, enzootic strains, genotype, transmission vector.

Вирус венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ) – арбовирус, относящийся к роду *Alpha-virus* семейства *Togaviridae*. Среди альфавирусов Западного полушария вирус ВЭЛ наиболее значимый для человека и домашних животных патоген [25].

Со времени его выявления в 1938 г. имеются сведения о многочисленных эпизоотиях и эпидемиях в Колумбии, Венесуэле, Тринидаде, Эквадоре, Мексике, США и других странах [11, 22, 23]. За последние годы число случаев заболевания среди людей и лошадей возросло [7, 24].

Вирус ВЭЛ включает, по крайней мере, 13 различных подтипов. Только подтипы IAB и IC вызывают эпизоотии. Возбудители, относящиеся к этим подтипам, циркулируют среди лошадей, ослов и мулов. Лошади, ввиду высокого уровня вирусемии во время заболевания, являются эффективной системой амплификации трансмиссионного цикла вируса подтипов IAB и IC. При накоплении вируса ВЭЛ в крови лошадей выше определенного порогового значения он переносится комарами родов *Aedes* и *Psorophora*. После завершения так называемого внешнего инкубационного периода укусы инфицированными комарами непарнокопытных указанных видов и людей могут вызвать эпизоотические и эпидемические вспышки [21].

Обычно в период эпидемий заболевают десят-

ки сотен и тысяч людей и лошадей. У людей заболевание протекает тяжело, на фоне резкого ослабления организма и выраженной иммуносупрессии. Эпидемические вспышки ВЭЛ, вызванные вирусом подтипов IAB и IC, сопровождаются неврологической симптоматикой и характеризуются уровнем летальности 0,7 % [5, 17, 23]. У детей заболевание часто протекает с тяжелейшими неврологическими симптомами [21].

Среди лошадей смертность достигает 50 % инфицированных животных, что сказывается на сельском хозяйстве многих стран Латинской Америки [15]. Вспышки ВЭЛ появляются периодически в результате мутации энзоотических подтипов вируса [14].

Подтипы ID, IE, IF и II–VI являются энзоотическими, включают авирулентные для лошадей штаммы, которые, несмотря на то, что они могут вызывать заболевания людей (даже с летальным исходом), не ассоциированы с большими эпидемическими вспышками. Энзоотические штаммы подтипов ID и IE антигенно и генетически являющиеся близкородственными друг другу и подтипам IAB и IC, циркулируют в низменных тропических лесах и болотах среди мелких млекопитающих.

Вирус ВЭЛ представляет значительную угрозу для здравоохранения в эндемичных регионах. После

долгого периода отсутствия эпидемической активности ВЭЛ с 1973 по 1992 год вспышки в Венесуэле [16, 23], Колумбии [17] и Мексике [11] продемонстрировали наличие постоянной угрозы ВЭЛ для здравоохранения и ветеринарии Америки.

Последняя большая эпидемия ВЭЛ началась в апреле 1995 г. на севере Венесуэлы (штат Фалькон) и оттуда распространилась в Колумбию. В ходе данной эпидемии было от 75000 до 100000 случаев заболевания, 300 из которых завершились летальным исходом. После данной вспышки межэпидемический период продолжался более четырех лет [10].

В декабре 1999 – феврале 2000 гг. (начало – в конце сезона дождей, завершение – в начале сухого сезона) зарегистрирована небольшая эпидемическая вспышка ВЭЛ в штатах Каратобо и Баринас, расположенных на западе Венесуэлы. Схожая по масштабу вспышка произошла в штате Баринас в октябре 2003 г. [10]. По результатам секвенирования генома установлено, что изоляты возбудителя, выделенные в ходе данной вспышки от лошадей, были почти полностью идентичны изолятам, выделенным в 1995 г., и относились к IC подтипу вируса ВЭЛ, что подтверждает естественную персистенцию генетически стабильного возбудителя [10].

В межэпидемический период вирус ВЭЛ продолжает вызывать спорадические случаи заболевания в странах Южной Америки. С 1993 по 2002 год случаи заболевания ВЭЛ зарегистрированы в Перу, где данный возбудитель был впервые выделен в 40-х годах прошлого века, когда подтип IAB вируса (принадлежность этиологического агента заболевания к подтипу IAB была установлена ретроспективно) вызывал эпизоотии среди лошадей и эпидемии среди людей в районах тихоокеанского побережья [2]. Затем эпизоотии среди лошадей, вызванные подтипом IAB вируса ВЭЛ зарегистрированы в 1950, 1969 и 1973 гг. в районах, расположенных вдоль тихоокеанского побережья Перу. С тех пор новых эпизоотий не было, однако энзоотического представителя вируса ВЭЛ постоянно выделяли от комаров, грызунов и людей. Большинство изолятов было выделено на территории района Игуито, который находится в эндемическом очаге циркуляции вируса ВЭЛ. В настоящее время для Перу ВЭЛ рассматривается как второе по значимости (после лихорадки денге) арбовирусное заболевание [2].

В 2005 г. ВЭЛ был впервые выявлен в департаменте Кочабамба в Боливии. Выделение вируса ВЭЛ от больных в Боливии, постоянно проживающих там, свидетельствует о том, что вирус является эндемичным для данного региона. Так как исследования в этой стране были начаты только в 2005 г., затруднительно сказать, в течение какого времени вирус находится в данном регионе [3].

В Эквадоре вирус ВЭЛ впервые был выделен в 1944 г. из крови больной лошади; в 1975–1977 гг. выделены изоляты вируса, относящиеся к ID подтипу [3]. В то же время в данном регионе при исследовании

этиологии острых недифференцированных лихорадочных заболеваний в эквадорском бассейне Амазонки доля заболевших ВЭЛ была менее 1 % [8].

Прародителями эпидемических штаммов вируса ВЭЛ являются энзоотические штаммы вируса, которые не связаны с заболеваемостью лошадей, а циркулируют в природе более или менее постоянно среди обитателей заболоченных и лесных областей, где их хозяевами являются грызуны, а переносчиками комары подрода *Culex (Melanoconion)*. Энзоотические штаммы были впервые выделены в 50-х годах прошлого века [15].

В 1961 г. в Панаме от погибшего человека был выделен штамм вируса ВЭЛ, который впоследствии идентифицирован как энзоотический вирус подтипа ID. Циркулирующие энзоотические вирусы подтипов ID и IE часто не идентифицируются потому, что не способны вызвать значительную по масштабам эпидемическую вспышку [21]. Тем не менее, энзоотические штаммы вируса ВЭЛ в настоящее время играют все возрастающую роль как этиологические агенты заболеваний у людей, которые живут около энзоотичных трансмиссионных областей и контактируют с элементами естественного цикла вируса ВЭЛ в эндемичных регионах [2].

Для оценки характера заболевания у человека, вызванного энзоотическими штаммами вируса ВЭЛ, E. Quiroz *et al.* [15] проанализировали данные 42 случаев заболевания людей, вызванных вирусом ВЭЛ в Панаме в период с 1961 по 2004 год. Авторы провели сравнение данных, полученных в 1990–2004 гг. с литературными данными о заболеваемости в Панаме в 1961 г.

При анализе случаев заболеваний в 1990–2004 гг. авторы выделяют два кластера заболеваемости: первый охватывает провинцию Дариен, второй – Центральную Панаму. Провинция Дариен является лесистой местностью с множеством болот, являющихся ареалом обитания переносчика *Culex* и небольших грызунов, которые служат первичным резервуаром возбудителя ВЭЛ. Регион центральной Панамы характеризуется наличием влажных лесов и болот, что также способствует циркуляции энзоотических штаммов вируса ВЭЛ.

Со времени первичного выделения вируса ВЭЛ в Перу в 1942 г. было получено более 70 изолятов вируса от комаров, человека и грызунов, в основном в бассейне Амазонки. Для определения генетических отличий между изолятами вируса ВЭЛ, выделенными в Перу, а также между ними и штаммами, выделенными в других регионах, проведен анализ гена PE2. Было проведено секвенирование и филогенетический анализ. Полученные результаты позволили идентифицировать 4 генотипа ВЭЛ, совместно циркулирующие в бассейне Амазонки: подтипы ID (генотипы Панама/Перу и Колумбия/Венесуэла), IIC и новый предполагаемый подтип IIID, который был выделен от заболевших людей, комаров и игольчатых крыс [2].

Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа нуклеотидной последовательности гена белка РЕ2, демонстрирует, что большинство штаммов вируса ВЭЛ подтипа ID из региона Центральной Панамы образуют единую группу с аналогичной последовательностью перуанских изолятов вируса ВЭЛ подтипа ID. Эта группа была обозначена как генотип Панама/Перу подтипа ID вируса ВЭЛ [12]. Внутри этой группы четко выделяются две подгруппы: штаммы из Центральной Панамы и изоляты из Восточной Панамы (Дариен) [15].

Штаммы вируса ВЭЛ, выделенные от больных людей в межэпидемический период (до 2003 г.), относятся главным образом к генотипам Панама/Перу и Колумбия/Венесуэла. Нуклеотидное секвенирование и филогенетический анализ, проведенный с выделенными изолятами, показал, что один изолят относится к генотипу Колумбия/Венесуэла, который филогенетически родственен эпизоотическим штаммам, также продолжающим циркулировать в бассейне Амазонки, а 10 – к генотипу Панама/Перу.

На этом основании сделан вывод о том, что генотип Колумбия/Венесуэла, продолжающий циркулировать в Перу, вызывает меньшее число случаев заболевания человека, чем генотип Панама/Перу [2].

Штаммы вируса ВЭЛ, выделенные после 2003 г., по результатам генетического анализа формируют новый генотип (Боливия/Перу), который является близкородственным генотипам Панама/Перу и Колумбия/Венесуэла [3].

Сопоставление структуры геномной РНК генотипов Боливия/Перу, Панама/Перу и Колумбия/Венесуэла, с одной стороны, и штаммов вируса ВЭЛ подтипов IAB и IC с другой, позволит идентифицировать критическую мутацию, необходимую для возникновения эпизоотического штамма вируса [10].

Зарегистрированные случаи ВЭЛ у человека в Перу в межэпидемический период не сопровождались неврологическими проявлениями, и сообщений о летальных случаях не было. В то же время при эпидемической вспышке, вызванной подтипом IC в 1996 г., отмечено около 3000 случаев заболеваний с неврологическими проявлениями и 300 летальных исходов. Летальность среди заболевших во время данной вспышки составила 0,5 %, причем большинство случаев заболевания с неврологическими проявлениями и летальными исходами зарегистрировано у детей [17, 23]. В противоположность этому, при заболеваниях ВЭЛ в Перу, вызванных подтипом ID, 94,6 % от общего числа заболевших с установленным диагнозом составили взрослые [17].

В 2000 г. медицинский отряд военно-морского научно-исследовательского центра (NMRC) и министерство здравоохранения Перу установили надзор над случаями арбовирусных заболеваний. Больные с неидентифицированными острыми лихорадочными заболеваниями, продолжающимися менее 7 дней, учитывались с указанием демографической и клинической информации, изученной в процессе их об-

следования. Образцы крови таких больных подвергались вирусологическому изучению на 10-й день и через 4 недели после начала заболевания [20].

Особый интерес представляет выделение вируса ВЭЛ подтипа ID, генотип Панама/Перу, от лиц, заболевание которых закончилось летальным исходом.

S. Vilcarrromero *et al.* [20] опубликовали результаты изучения двух смертельных случаев от ВЭЛ в Перу, в одном из которых подтверждено наличие вируса ВЭЛ подтипа ID.

При изучении сывороток крови в пассажах на клетках Vero был выделен вирус ВЭЛ, геном которого был секвенирован и в результате филогенетического анализа установлено, что он относится к подтипу ID, генотип Панама/Перу [9]. В образце крови, взятом на 2-й день заболевания, титр вируса был равен $1,8 \cdot 10^4$ БОЕ/мл, что соответствует уровню вирусемии больных ВЭЛ с неврологическими проявлениями. Другие возбудители не выявлены [20].

В то время как в эндемичных регионах Южной Америки в межэпидемические периоды циркулируют главным образом штаммы вируса, относящиеся к ID антигенному подтипу, в области мексиканского побережья Мексиканского залива постоянно циркулирует вирус ВЭЛ подтипа IE, способный инфицировать человека и животных [1].

Для характеристики особенностей персистенции вируса ВЭЛ в эндемичных регионах в межэпидемический период необходимо рассмотреть возможный резервуар возбудителя в природе и вектор передачи.

Вид (или виды) комаров, который является вектором передачи эпидемических штаммов вируса ВЭЛ человеку, в ряде эндемичных регионов до настоящего времени не определен. В Перу вирус ВЭЛ был выделен от комаров *Culex (Melanoconion) spp*, которые известны как вектор передачи энзоотических штаммов вируса в других регионах. Лабораторным путем установлено, что несколько различных видов *Culex (Melanoconion) gnomatos*, *Culex (Melanoconion) pedroi*, *Culex (Melanoconion) vomerifer*, *Psorophora albigena*, постоянно циркулирующие в эндемичном регионе Перу, могут служить в качестве вектора передачи вируса [6, 19].

Полевые исследования позволили выявить вектор передачи (комары *Culex (Melanoconion) spp* и резервуар для энзоотических штаммов вируса ВЭЛ, но вектор переноса для эпизоотических штаммов не выявлен, что послужило основанием для предположения, что в качестве последнего могут служить не комары, а клещи, для которых установлена экспериментальная персистентная инфекция ВЭЛ при сохранении стабильного генотипа возбудителя [10].

Персистенция подтипа IC вируса ВЭЛ среди лошадей в конце влажного сезона указывает на наличие альтернативного, неизвестного цикла трансмиссии, включающего инфицированных комаров, выживших в течение сухого сезона или персистентную инфекцию у позвоночных (различные виды грызунов), являющихся естественным резервуаром возбудителя.

Для вируса ВЭЛ подтипа ID характерен высокий уровень виремии в крови у инфицированных млекопитающих, что, по мнению E. Quiroz *et al.* [15], может приводить к способности переноса вируса различными видами комаров, включая характерных для подтипа IE вируса ВЭЛ переносчиков *Culex taeniopus* и характерных для эпидемических штаммов вируса ВЭЛ переносчиков *Psorophora confinnis*, *Aedes taeniorhynchus*, *Aedes albopictus* и *Aedes aegypti*. Авторами установлена возможность инфицирования людей вирусом ВЭЛ подтипа ID в Панаме и включение его в эпидемический трансмиссионный цикл человек–комар–человек, особенно в тех местах проживания, где обитают *Aedes albopictus* и *Aedes aegypti* [4, 13, 18].

До сих пор не ясно, какие факторы являются решающими для возникновения энзоотических вспышек ВЭЛ. В качестве ключевого фактора рассматриваются мутации генома в процессе адаптации вирусов к определенным видам комаров [15].

Таким образом, энзоотические штаммы вируса ВЭЛ в настоящее время играют все возрастающую роль как этиологические агенты заболеваний у людей, которые живут около энзоотичных трансмиссионных областей и контактируют с элементами естественного цикла вируса ВЭЛ в эндемичных регионах. Случаи заболевания ВЭЛ в межэпидемический период чаще всего регистрируют в бассейне Амазонки. Большинство случаев ВЭЛ у людей в странах Южной Америки вызваны инфицированием вирусом ВЭЛ подтипа ID, который насчитывает 6 генотипов. Из них от людей выделены и идентифицированы изоляты 3 генотипов: Колумбия/Венесуэла, Панама/Перу и Перу/Боливия подтипа ID вируса ВЭЛ.

В области мексиканского побережья Мексиканского залива в межэпидемический период циркулирует вирус ВЭЛ подтипа IE, способный инфицировать человека и животных.

Филогенетическое родство штаммов вируса ВЭЛ, относящихся к ID и IC подтипам, а также возможная идентичность векторов передачи вируса указывает на то, что потенциальная угроза возникновения новых эпидемических вспышек ВЭЛ связана с возможной мутацией штамма ID подтипа в IC подтип, который и представляет в настоящее время потенциальную угрозу как этиологический агент заболевания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Adams A.P., Navarro-Lopez R., Ramirez-Aguilar F.J., Gonzalez I.L., Leal G., Flores-Mayorga J.M., Travassos da Rosa A.P., Saxton-Shaw K.D., Singh A.J., Borland E.M., Powers A.M., Tesh R.B., Weaver S.C., Estrada-Franco J.G. Venezuelan equine encephalitis virus activity in the gulf Coast region of Mexico, 2003–2010. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(11):e1875. doi: 10.1371/journal.pntd.0001875.
2. Aguilar P.V., Greene I.P., Coffey L.L., Medina G., Moncayo A.C., Anishchenko M., Ludwig G.V., Turell M.J., O'Guinn M.L., Lee J., Tesh R.B., Watts D.M., Russell K.L., Hice C., Yanoviak S., Morrison A.C., Klein T.A., Dohm D.J., Guzman H., Travassos da Rosa A.P., Guevara C., Kochel T., Olson J., Cabezas C., Weaver S.C. Endemic Venezuelan equine encephalitis in northern Peru. *Emerg. Inf. Dis.* 2004; 10(5):880–8.
3. Aguilar P.V., Adams A.P., Suarez V., Beingolea L., Vargas

- J., Manock S., Freire J., Espinoza W.R., Felices V., Diaz A., Liang X., Roca Y., Weaver S.C., Kochel T.J. Genetic characterization of Venezuelan equine encephalitis virus from Bolivia, Ecuador and Peru: identification of a new subtype ID lineage. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009; 3(9):e514. doi: 10.1371/journal.pntd.0000514.
4. Brault A.C., Powers A.M., Weaver S.C. Vector infection determinants of Venezuelan equine encephalitis virus reside within the E2 envelope glycoprotein. *J. Virol.* 2002; 76:6387–92.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Venezuelan equine encephalitis – Colombia, 1995. *MMWR. Morb. Mortal Wkly Rep.* 1995; 44:721–4.
6. Ferro C., Boshell J., Moncayo A.C., Gonzalez M., Ahumada M.L., Kang W., Weaver S.C. Natural enzootic vectors of Venezuelan equine encephalitis virus, Magdalena Valley, Colombia. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9:49–54.
7. Mangiafico J.A., Rossi C.A., Ludwig G.V. Isolation and identification of Venezuelan equine encephalitis virus from a human in Panama. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002; 67:112–3.
8. Manock S.R., Jacobsen K.H., de Brevo N.B., Russell K.L., Negrete M., Olson J.G., Sanchez J.L., Blair P.J., Smalligan R.D., Quist B.K., Espin J.F., Espinoza W.R., MacCormick F., Fleming L.C., Kochel T. Etiology of acute undifferentiated febrile illness in the Amazon Basin of Ecuador. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2009; 81:146–51.
9. Moncayo A.C., Medina G.M., Kalvatchev Z., Brault A.C., Barrera R., Boshell J., Ferro C., Freire J.E., Navarro J.C., Salas R., De Siger J., Vasquez C., Walder R., Weaver S.C. Genetic diversity and relationships among Venezuelan equine encephalitis virus field isolates from Colombia and Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2001; 65:738–46.
10. Navarro J.-C., Medina G., Vasquez C., Coffey L.L., Wang E., Suárez A., Biorde H., Salas M., Weaver S.C. Postepizootic persistence of Venezuelan equine encephalitis virus, Venezuela. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(12):1907–15.
11. Oberste M.S., Fraire M., Navarro R., Zepeda C., Zarate M.L., Ludwig G.V., Kondig J.F., Weaver S.C., Smith J.F., Rico-Hesse R. Association of Venezuelan equine encephalitis virus subtype IE with two equine epizootics in Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998; 59:100–7.
12. Oberste M.S., Weaver S.C., Watts D.M., Smith J.F. Identification and genetic analysis of Panama-genotype Venezuelan equine encephalitis virus subtype ID in Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998; 58:41–6.
13. Ortiz D.I., Anishchenko M., Weaver S.C. Susceptibility of *Psorophora confinnis* (Diptera: Culicidae) to infection with epizootic (subtype IC) and enzootic (subtype ID) Venezuelan Equine encephalitis viruses. *J. Med. Entomol.* 2005; 42:857–63.
14. Powers A.M., Oberste M.S., Brault A.C., Rico-Hesse R., Schmura S.M., Smith J.F., Kang W., Sweeney W.P., Weaver S.C. Repeated emergence of epidemic/epizootic Venezuelan equine encephalitis from a single genotype of enzootic subtype ID virus. *J. Virol.* 1997; 71:6697–705.
15. Quiroz E., Aguilar P.V., Cisneros J., Tesh R.B., Weaver S.C. Venezuelan equine encephalitis in Panama: fatal endemic disease and genetic diversity of etiologic viral strains. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009; 3:1–7.
16. Rico-Hesse R., Weaver S.C., de Siger J., Medina G., Salas R.A. Emergence of a new epidemic/epizootic Venezuelan equine encephalitis virus in South America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; 92:5278–81.
17. Rivas F., Diaz L.A., Cardenas V.M., Daza E., Bruzon L., Alcalá A., De la Hoz O., Cáceres F.M., Aristizabal G., Martínez J.W., Revelo D., De la Hoz F., Boshell J., Camacho T., Calderon L., Olano V.A., Villarreal L.I., Roselli D., Alvarez G., Ludwig G., Tsai T. Epidemic Venezuelan equine encephalitis in La Guajira, Colombia, 1995. *J. Infect. Dis.* 1997; 175:828–32.
18. Scherer W.F., Cupp E.W., Lok J.B. Intestinal threshold of an enzootic strain of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in *Culex (Melanoconion) taeniopus* mosquitoes and its implication to vector competency and vertebrate amplifying hosts. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1981; 30:862–9.
19. Turell M.J., Jones J.W., Sardelis M.R., Dohm D.J., Coleman R.E., Watts D.M., Fernandez R., Calampa C., Klein T.A. Vector competence of Peruvian mosquitoes (Diptera: Culicidae) for epizootic and enzootic strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *J. Med. Entomol.* 2000; 37:835–9.
20. Vilcarromero S., Aguilar P.V., Halsey E.S., Laguna-Torres V.A., Razuri H., Perez J., Valderrama Y., Gotuzzo E., Suarez L., Cespedes M., Kochel T.J. Venezuelan equine encephalitis and 2 human deaths, Peru. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(3):553–6. doi: 10.3201/eid1603.090970.
21. Walton T.E., Grayson M.A. Venezuelan equine encephalomyelitis. In: Monath T.P., editor. *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*. Boca Raton Florida: CRC Press; 1988. Vol. IV. P. 203–31.
22. Watts D.M., Callahan J., Rossi C., Oberste M.S., Roehrig J.T., Wooster M.T., Smith J.F., Cropp C.B., Gentra E.M., Karabatsos N., Gübler D., Hayes C.G. Venezuelan equine encephalitis febrile cases among humans in the Peruvian Amazon River region. *Am. J.*

Trop. Med. Hyg. 1998; 58:35–40.

23. Weaver S.C., Salas R., Rico-Hesse R., Ludwig G.V., Oberste M.S., Boshell J., Tesh R.B. Re-emergence of epidemic Venezuelan equine encephalomyelitis in South America. VEE Study Group. *Lancet*. 1996; 348:436–40.

24. Weaver S.C. Recurrent emergence of Venezuelan equine encephalomyelitis. In: Scheld W.M., Hughes J. Emerging infections 1. Washington: ASM Press; 1998. P. 27–42.

25. Weaver S.C., Ferro C., Barrera R., Boshell J., Navarro J.C. Venezuelan equine encephalitis. *Ann. Rev. Entomol.* 2004; 49:141–74.

References

1. Adams A.P., Navarro-Lopez R., Ramirez-Aguilar F.J., Gonzalez I.L., Leal G., Flores-Mayorga J.M., Travassos da Rosa A.P., Saxton-Shaw K.D., Singh A.J., Borland E.M., Powers A.M., Tesh R.B., Weaver S.C., Estrada-Franco J.G. Venezuelan equine encephalitis virus activity in the gulf Coast region of Mexico, 2003–2010. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(11):e1875. doi: 10.1371/journal.pntd.0001875.
2. Aguilar P.V., Greene I.P., Coffey L.L., Medina G., Moncayo A.C., Anishchenko M., Ludwig G.V., Turell M.J., O'Guinn M.L., Lee J., Tesh R.B., Watts D.M., Russell K.L., Hice C., Yanoviak S., Morrison A.C., Klein T.A., Dohm D.J., Guzman H., Travassos da Rosa A.P., Guevara C., Kochel T., Olson J., Cabezas C., Weaver S.C. Endemic Venezuelan equine encephalitis in northern Peru. *Emerg. Inf. Dis.* 2004; 10(5):880–8.
3. Aguilar P.V., Adams A.P., Suarez V., Beingolea L., Vargas J., Manock S., Freire J., Espinoza W.R., Felices V., Diaz A., Liang X., Roca Y., Weaver S.C., Kochel T.J. Genetic characterization of Venezuelan equine encephalitis virus from Bolivia, Ecuador and Peru: identification of a new subtype ID lineage. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009; 3(9):e514. doi: 10.1371/journal.pntd.0000514.
4. Brault A.C., Powers A.M., Weaver S.C. Vector infection determinants of Venezuelan equine encephalitis virus reside within the E2 envelope glycoprotein. *J. Virol.* 2002; 76:6387–92.
5. Centers for Disease Control and Prevention. Venezuelan equine encephalitis – Colombia, 1995. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly Rep.* 1995; 44:721–4.
6. Ferro C., Boshell J., Moncayo A.C., Gonzalez M., Ahumada M.L., Kang W., Weaver S.C. Natural enzootic vectors of Venezuelan equine encephalitis virus, Magdalena Valley, Colombia. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9:49–54.
7. Mangiafico J.A., Rossi C.A., Ludwig G.V. Isolation and identification of Venezuelan equine encephalitis virus from a human in Panama. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2002; 67:112–3.
8. Manock S.R., Jacobsen K.H., de Brevo N.B., Russell K.L., Negrete M., Olson J.G., Sanchez J.L., Blair P.J., Smalligan R.D., Quist B.K., Espin J.F., Espinoza W.R., MacCormick F., Fleming L.C., Kochel T. Etiology of acute undifferentiated febrile illness in the Amazon Basin of Ecuador. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2009; 81:146–51.
9. Moncayo A.C., Medina G.M., Kalvatchev Z., Brault A.C., Barrera R., Boshell J., Ferro C., Freire J.E., Navarro J.C., Salas R., De Siger J., Vasquez C., Walder R., Weaver S.C. Genetic diversity and relationships among Venezuelan equine encephalitis virus field isolates from Colombia and Venezuela. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2001; 65:738–46.
10. Navarro J.-C., Medina G., Vasquez C., Coffey L.L., Wang E., Suarez A., Bior H., Salas M., Weaver S.C. Postepizootic persistence of Venezuelan equine encephalitis virus, Venezuela. *Emerg. Infect. Dis.* 2005; 11(12):1907–15.
11. Oberste M.S., Fraire M., Navarro R., Zepeda C., Zarate M.L., Ludwig G.V., Kondig J.F., Weaver S.C., Smith J.F., Rico-Hesse R. Association of Venezuelan equine encephalitis virus subtype 1E with two equine epizootics in Mexico. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998; 59:100–7.
12. Oberste M.S., Weaver S.C., Watts D.M., Smith J.F. Identification and genetic analysis of Panama-genotype Venezuelan equine encephalitis vi-

rus subtype ID in Peru. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998; 58:41–6.

13. Ortiz D.I., Anishchenko M., Weaver S.C. Susceptibility of *Psorophora confinnis* (Diptera: Culicidae) to infection with epizootic (subtype IC) and enzootic (subtype ID) Venezuelan Equine encephalitis viruses. *J. Med. Entomol.* 2005; 42:857–63.

14. Powers A.M., Oberste M.S., Brault A.C., Rico-Hesse R., Schmura S.M., Smith J.F., Kang W., Sweeney W.P., Weaver S.C. Repeated emergence of epidemic/epizootic Venezuelan equine encephalitis from a single genotype of enzootic subtype ID virus. *J. Virol.* 1997; 71:6697–705.

15. Quiroz E., Aguilar P.V., Cisneros J., Tesh R.B., Weaver S.C. Venezuelan equine encephalitis in Panama: fatal endemic disease and genetic diversity of etiologic viral strains. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2009; 3:1–7.

16. Rico-Hesse R., Weaver S.C., de Siger J., Medina G., Salas R.A. Emergence of a new epidemic/epizootic Venezuelan equine encephalitis virus in South America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; 92:5278–81.

17. Rivas F., Diaz L.A., Cardenas V.M., Daza E., Bruzon L., Alcala A., De la Hoz O., Caceres F.M., Aristizabal G., Martinez J.W., Revelo D., De la Hoz F., Boshell J., Camacho T., Calderon L., Olano V.A., Villarreal L.I., Roselli D., Alvarez G., Ludwig G., Tsai T. Epidemic Venezuelan equine encephalitis in La Guajira, Colombia, 1995. *J. Infect. Dis.* 1997; 175:828–32.

18. Scherer W.F., Cupp E.W., Lok J.B. Intestinal threshold of an enzootic strain of Venezuelan equine encephalomyelitis virus in *Culex* (Melanoconion) taeniopus mosquitoes and its implication to vector competency and vertebrate amplifying hosts. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1981; 30:862–9.

19. Turell M.J., Jones J.W., Sardelis M.R., Dohm D.J., Coleman R.E., Watts D.M., Fernandez R., Calampa C., Klein T.A. Vector competence of Peruvian mosquitoes (Diptera: Culicidae) for epizootic and enzootic strains of Venezuelan equine encephalomyelitis virus. *J. Med. Entomol.* 2000; 37:835–9.

20. Vilcarromero S., Aguilar P.V., Halsey E.S., Laguna-Torres V.A., Razuri H., Perez J., Valderrama Y., Gotuzzo E., Suarez L., Cespedes M., Kochel T.J. Venezuelan equine encephalitis and 2 human deaths, Peru. *Emerg. Infect. Dis.* 2010; 16(3):553–6. doi: 10.3201/eid1603.090970.

21. Walton T.E., Grayson M.A. Venezuelan equine encephalomyelitis. In: Monath T.P., editor. *The Arboviruses: Epidemiology and Ecology*. Boca Raton Florida: CRC Press; 1988. Vol. IV. P. 203–31.

22. Watts D.M., Callahan J., Rossi C., Oberste M.S., Roehrig J.T., Wooster M.T., Smith J.F., Cropp C.B., Gentrau E.M., Karabatsos N., Gübler D., Hayes C.G. Venezuelan equine encephalitis febrile cases among humans in the Peruvian Amazon River region. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1998; 58:35–40.

23. Weaver S.C., Salas R., Rico-Hesse R., Ludwig G.V., Oberste M.S., Boshell J., Tesh R.B. Re-emergence of epidemic Venezuelan equine encephalomyelitis in South America. VEE Study Group. *Lancet*. 1996; 348:436–40.

24. Weaver S.C. Recurrent emergence of Venezuelan equine encephalomyelitis. In: Scheld W.M., Hughes J. Emerging infections 1. Washington: ASM Press; 1998. P. 27–42.

25. Weaver S.C., Ferro C., Barrera R., Boshell J., Navarro J.C. Venezuelan equine encephalitis. *Ann. Rev. Entomol.* 2004; 49:141–74.

Authors:

Petrov A.A., Lebedev V.N., Ruchko V.M., Karulina N.V., Borisevich S.V. The 48th Central Research Institute of the RF Ministry of Defense. Sergiev Possad, Russian Federation.

Об авторах:

Петров А.А., Лебедев В.Н., Ручко В.М., Карулина Н.В., Борисевич С.В. «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации. Российская Федерация, Сергиев Посад.

Поступила 14.02.14.

Д.А.Агафонов, С.П.Заднова, Ю.В.Лозовский, Н.И.Смирнова

КОНСТРУИРОВАНИЕ ПЦР-ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ ИЗМЕНЕННЫХ ТОКСИГЕННЫХ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAЕ* БИОВАРА ЭЛЬ ТОР С РАЗНЫМ ЭПИДЕМИЧЕСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ

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

Разработана мультилокусная ПЦР-тест-система, позволяющая дифференцировать токсигенные генетически измененные штаммы *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор на штаммы с высоким и низким эпидемическим потенциалом на основе определения структуры одного из генетических маркеров возбудителя 7-й пандемии холеры – острова пандемичности VSP-II. В рамках данной работы были подобраны три гена-мишени, расположенные в центральной и краевой областях этого мобильного генетического элемента. Разработанная ПЦР-тест-система позволяет выявлять штаммы, содержащие интактный VSP-II, VSP-II с короткой делецией, а также VSP-II с протяженной делецией. Штаммы с интактным VSP-II или имеющие короткую делецию в острове пандемичности относятся к вариантам с низким эпидемическим потенциалом, в то время как штаммы, содержащие VSP-II с протяженной делецией относятся к вариантам с высоким эпидемическим потенциалом. Экспериментально доказана специфичность и эффективность тест-системы при анализе 28 токсигенных генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор и 6 штаммов близкородственных видов и энтеробактерий. Полученные результаты совпадают с данными монолокусного ПЦР анализа и в ряде случаев подтверждены секвенированием.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор, мультилокусная ПЦР-тест-система, дифференциация, эпидемический потенциал, остров пандемичности.

D.A.Agaonov, S.P.Zadnova, Yu.V.Loosovsky, N.I.Smirnova

Construction of PCR Test-System for Differentiation between Genetically Altered Toxigenic *Vibrio cholerae* Strains, Biovar El Tor, with Varied Epidemic Potential

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

Designed is a multi-locus PCR test-system that allows for differentiation between genetically altered *Vibrio cholerae* strains, biovar El Tor, with high and low epidemic potential respectively, based on identification of genetic marker structure in the agent of the seventh cholera pandemic – pandemicity island VSP-II. In the course of investigations selected have been three target genes allocated in the central region and terminal end of the mobile genetic element. This test-system offers the possibility to identify the strains containing intact VSP-II, the ones containing VSP-II with a short-length deletion, and the strains with VSP-II with extended deletion. The first two are classified as the variants with low epidemic potential, while the last ones – as the variants with high epidemic potential. Specificity and efficacy of the test-system is shown by the experiments with 28 toxigenic genetically altered *V. cholerae* strains, biovar El Tor, and 6 strains of closely related species and enterobacteria. The results obtained coincide with the data on mono-locus PCR assay and in a number of instances are verified by sequencing.

Key words: *Vibrio cholerae* strains, biovar El Tor, multi-locus PCR test-system, differentiation, epidemic potential, pandemicity island.

Возбудителем текущей, 7-й, пандемии холеры, начавшейся в 1961 г. и продолжающейся до сих пор, является *V. cholerae* биовара Эль Тор, геном которого в процессе эволюции претерпел значительные изменения. Современный период пандемии (с 1991 г. по настоящее время) характеризуется глобальным распространением в мире высокопатогенных генетически измененных штаммов (геновариантов) *V. cholerae* биовара Эль Тор [6]. Установлено, что более высокая вирулентность геновариантов по сравнению с типичными штаммами связана в основном с иной структурой оперона *ctxAB*, кодирующего холерный токсин (ХТ) – ключевой фактор вирулентности возбудителя холеры [5]. Геноварианты, вытеснившие типичные штаммы во многих эндемичных по холере регионах,

различаются между собой эпидемическим потенциалом, т.е. способностью к эпидемическому распространению. Изменение эпидемического потенциала геновариантов обусловлено изменчивостью их генетических свойств, связанных как с вирулентностью, так и с адаптацией возбудителя к меняющимся условиям окружающей среды.

К настоящему времени известно, что важную роль в широком распространении возбудителя холеры Эль Тор играют два острова пандемичности – VSP-I (от англ. *Vibrio seventh pandemic island*) и VSP-II [7]. Остров пандемичности VSP-I состоит из 11 генов и является одним из наиболее стабильных генетических маркеров штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор. В то же время остров пандемичности VSP-II, со-

держаний 30 открытых рамок считывания (*vco489–vco517*), продукты которых, видимо, определяют высокий уровень устойчивости возбудителя холеры к стрессовым воздействиям, является вариабельным. К настоящему времени, помимо интактного VSP-II, известно о пяти его вариантах, обнаруженных в штаммах, изолированных в разных странах и отличающихся от интактного VSP-II наличием делеций разной протяженности [8]. Анализ распространенности штаммов с разными вариантами VSP-II показал, что среди эпидемических штаммов, изолированных в последнее десятилетие, доминируют изоляты, содержащие в VSP-II протяженную делецию, захватывающую сегмент ДНК, включающий 21 ген из 30 известных. Глобальное распространение штаммов с такой структурой VSP-II означает наличие у них высокого эпидемического потенциала. Вытеснение этими штаммами ранее возникших геновариантов с интактным VSP-II или геновариантов, имеющих в VSP-II короткие делеции, захватывающие лишь 2–4 гена, указывает на снижение эпидемического потенциала последних. В связи с тем, что в эндемичных очагах холеры циркулируют штаммы с разным эпидемическим потенциалом, способные нанести в разной степени ущерб здоровью населения и экономике страны, актуальным является дифференциация штаммов с высоким и низким эпидемическим потенциалом.

Разработанные к настоящему времени ПЦР-тест-системы позволяют быстро и эффективно определять биовар, серогруппу, токсигенность возбудителя холеры, способны выявлять токсигенные генетически измененные штаммы возбудителя текущей пандемии холеры [1, 2, 3]. Эти изобретения не способны дифференцировать токсигенные геноварианты с разным эпидемическим потенциалом, что является необходимым для совершенствования методов молекулярно-эпидемиологического мониторинга возбудителя холеры.

Таким образом, в данной области существует очевидная потребность в разработке информативного и быстрого способа, а также тест-системы для дифференциации токсигенных генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор по их эпидемическому потенциалу.

Материалы и методы

В работе использовали 28 генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, содержащих в геноме профаг CTX с геном *ctxB* классического типа, которые были изолированы в России с 1993 по 2011 год, 3 вида энтеробактерий и 3 штамма бактерий близкородственных видов рода *Vibrio*. Для культивирования применяли бульон и агар LB (pH 7,6).

Подготовку проб осуществляли согласно МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». Выделение

ДНК проводили методом нуклеосорбции на силикагеле в присутствии гуанидинизотиоцианата.

Амплификацию ДНК проводили с использованием программируемого термостата «Терцик» (ДНК-технология, Россия).

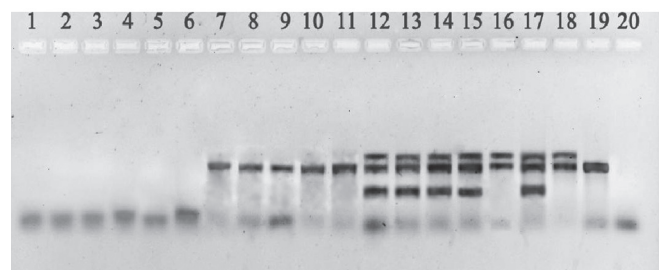
Анализ и оценку результатов осуществляли путем сравнения полученных ПЦР-ампликонов с аналогичными фрагментами типичных штаммов *V. cholerae*.

Результаты и обсуждение

Выбор ДНК-мишеней осуществляли на основании анализа нуклеотидных последовательностей острова пандемичности VSP-II у токсигенных генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор, изолированных в современный период 7-й пандемии и содержащих разные типы этого геномного острова. В качестве первой мишени был выбран ген *vco514*, кодирующий метил-акцепторный белок хемотаксиса, наличие которого характерно для всех типов VSP-II. В качестве второй мишени был выбран ген *vco502*, кодирующий пили IV типа, присутствующий в геноме штаммов с интактным островом пандемичности и штаммов, несущих короткую делецию VSP-II. В качестве третьей мишени был выбран ген *vco497*, кодирующий регулятор транскрипции и присутствующий только в геноме штаммов с интактным VSP-II. Праймеры сконструированы авторами с помощью программы Oligo 6.0.

В ходе работы экспериментально установлен оптимальный состав реакционной смеси для проведения мультиплексной цепной реакции, подобрано необходимое и достаточное соотношение компонентов реакционной смеси и определен режим постановки ПЦР.

Специфичность разработанной тест-системы была подтверждена на основе использования штаммов энтеробактерий – *E. coli*, *S. enteritidis*, *Sh. flexneri*, а также близкородственных видов – *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus*, *V. anguillarum*. Был получен отрицательный результат при проведении ПЦР-тестирования указанных штаммов (рисунок, дорожки 1–6).



Электрофореграмма штаммов с разным эпидемическим потенциалом, полученная с использованием разработанной мультиплексной ПЦР тест-системы:

1 – *E. coli* M17; 2 – *S. enteritidis* BO3; 3 – *Sh. flexneri* 26 «C»; 4 – *V. mimicus* ATCC 33653; 5 – *V. parahaemolyticus* 745; 6 – *V. albensis* 37263; 7 – *V. cholerae* M1430; 8 – *V. cholerae* P18899; 9 – *V. cholerae* Л-3225; 10 – *V. cholerae* Л-4150; 11 – *V. cholerae* 301; 12 – *V. cholerae* M1326; 13 – *V. cholerae* M1293; 14 – *V. cholerae* M1266; 15 – *V. cholerae* M1275; 16 – *V. cholerae* P17647; 17 – ПК-M818 (*V. cholerae* M818); 18 – ПК-P17644 (*V. cholerae* P17644); 19 – ПК-Л3226 (*V. cholerae* Л-3226); 20 – ОКВ, К-

Специфичность и эффективность сконструированной мультилокусной ПЦР-тест-системы

Штамм	Год выделения	Место выделения	Тестируемые гены			Тип VSP-II	Эпидемический потенциал
			<i>vco497</i>	<i>vco502</i>	<i>vco514</i>		
<i>E. coli</i> M17	Неизвестен	Неизвестно	-	-	-	О	н/о
<i>S. enteritidis</i> BO3	Неизвестен	Неизвестно	-	-	-	О	н/о
<i>Sh. flexneri</i> 26 «С»	Неизвестен	Неизвестно	-	-	-	О	н/о
<i>V. mimicus</i> ATCC 33653	Неизвестен	Институт Пастера	-	-	-	О	н/о
<i>V. parahaemolyticus</i> 745	Неизвестен	Новороссийск	-	-	-	О	н/о
<i>V. albensis</i> 37263	Неизвестен	Ставрополь	-	-	-	О	н/о
<i>V. cholerae</i> M1275	1993	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1297	1993	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1278	1993	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1279	1993	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1264	1993	Краснодар	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1272	1993	Сочи	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1299	1993	Сочи	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1271	1993	Респ. Татарстан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1270	1993	Респ. Татарстан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1298	1993	Сочи	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1266	1994	Пермь	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1295	1994	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1287	1994	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1288	1994	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1286	1994	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1293	1994	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1269	1994	Магнитогорск	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> P17647	1997	Ачинск	-	+	+	КД	Н
<i>V. cholerae</i> M1326	1998	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1328	1998	Респ. Дагестан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1345	2001	Респ. Татарстан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1349	2001	Респ. Татарстан	+	+	+	П	Н
<i>V. cholerae</i> M1429	2004	Респ. Башкирия	-	-	+	ПД	В
<i>V. cholerae</i> M1430	2005	Тверь	-	-	+	ПД	В
<i>V. cholerae</i> P18899	2006	Мурманск	-	-	+	ПД	В
<i>V. cholerae</i> Л-3225	2010	Москва	-	-	+	ПД	В
<i>V. cholerae</i> Л-4150	2010	Москва	-	-	+	ПД	В
<i>V. cholerae</i> 301	2011	Таганрог	-	-	+	ПД	В
ПК-M818 (<i>V. cholerae</i> M818)	1970	Саратов	+	+	+	П	Н
ПК-P17644 (<i>V. cholerae</i> P17644)	1997	Ачинск	-	+	+	КД	Н
ПК-Л3226 (<i>V. cholerae</i> Л-3226)	2010	Москва	-	-	+	ПД	В

Примечания: «-» – отсутствие гена; «+» – наличие гена; О – отсутствует VSP-II; П – прототипный VSP-II; КД – VSP-II с короткой делецией; ПД – VSP-II с протяженной делецией; Н – низкий эпидемический потенциал (неспособность штаммов с указанным генетическим маркером к эпидемическому распространению в современный период); В – высокий эпидемический потенциал (способность штаммов с указанным генетическим маркером к эпидемическому распространению в современный период); н/о – не определяется.

Эффективность сконструированной тест-системы подтверждена исследованием 28 генетически измененных штаммов *V. cholerae* биовара Эль Тор. Данные по ПЦР-тестированию представлены в таблице и на рисунке. При оценке структуры их острова пандемичности с помощью разработанной тест-системы было установлено, что у 21 штамма определяется образование трех фрагментов размером 761, 604 и 320 п.н., как и у штамма M818, взятого в качестве контрольного; у 1 штамма, выделенного в Ачинске в 1997 г., двух фрагментов размером 761 и 604 п.н., как у контрольного штамма P17644. Из этого следует, что данная группа штаммов, изолиро-

ванных в 1993–2001 гг., относится к геновариантам возбудителя холеры с низким эпидемическим потенциалом. Вторая группа состоит из 6 штаммов, VSP-II которых имеет протяженную делецию, поскольку для них характерно образование в ПЦР только одного фрагмента размером 604 п.н., соответствующего гену *vco514*, общему для всех вариантов. Эти штаммы, изолированные в последние годы (2004–2012 гг.), являются геновариантами с высоким эпидемическим потенциалом, о чем свидетельствует их глобальное распространение и вытеснение в эндемичных очагах холеры геновариантов с низким эпидемическим потенциалом. Полученные нами данные методом мульт-

тилокусной ПЦР впоследствии были подтверждены методом секвенирования [4].

Таким образом, разработанная мультилокусная ПЦР-тест-система для дифференциации геновариантов возбудителя холеры Эль-Тор с высоким и низким эпидемическим потенциалом специфична и эффективна. Показанная возможность быстрого обнаружения недавно сформированных вариантов *V. cholerae* с высоким эпидемическим потенциалом, глобальное распространение которых во многих странах мира стало реальным фактом, позволяет рекомендовать эту ПЦР-тест-систему для использования в качестве дополнительного метода при проведении эпидемиологических расследований.

Подана заявка № 214100736 от 09.01.2014 г. о выдаче патента на изобретение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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 O1 и O139 серогруппы и оценки их вирулентности. Патент РФ 2404257, опубл. 20.11.2010 г. Бюл. 32.
2. Смирнова Н.И., Кириллина О.А., Челдышова Н.Б., Кутырев В.В. Дифференциация штаммов *Vibrio cholerae* eltor по их эпидемической значимости с помощью новых диагностических холерных бактериофагов Эль Тор ctx- и ctx+ и полимеразной цепной реакции. *Журн. эпидемиол., микробиол. и иммунобиол.* 2001; 6:11–6.
3. Смирнова Н.И., Горяев А.А., Шубина А.В., Заднова С.П., Кутырев В.В. Способ идентификации токсигенных штаммов *V. cholerae* O1, определения их биовара и дифференциации штаммов биовара Эль Тор на типичные и измененные методом мультиплексной полимеразной цепной реакции и тест-система для его осуществления. Патент РФ 2458141, опубл. 10.08.2012 г. Бюл. 22.
4. Черкасов А.В., Краснов Я.М., Агафонов Д.А., Шашкова А.В., Смирнова Н.И. Варибельность структуры острова пандемичности VSP-II штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных на территории России. *Инфекция и иммунитет.* 2013; 3(2):185.
5. Dziejman M., Balon E., Boyd D., Fraser S.M., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Comparative genomic analysis of *Vibrio cholerae*: Genes that correlate with cholera endemic and pandemic disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99:1556–61.
6. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J., Svennerholm A.M., Safa A., Bhuiyan N.A., Ahmad Q.S., Faruque S.M., Faruque A.S., Takeda Y., Sack D.A. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44:4211–3.
7. O'Shea Y.A., Finnan S., Reen F.J., Morrissey J.P., O'Gara F., Boyd F. The *Vibrio* seventh pandemic island-II is a 26,9 kb genomic island present in *Vibrio cholerae* El Tor and O139 serogroup isolates that shows homology to a 43,4 kb genomic island in *V. vulnificus*. *Microbiology.* 2004; 150:4053–63.
8. Taviani E., Grim C.J., Choi J., Chun J., Haley B., Hasan N.A., Huq A., Colwell R.R. Discovery of novel *Vibrio cholerae* VSP-II genomic islands using comparative genomic analysis. *FEMS Microbiol. Lett.* 2010; 308:130–7.

References

1. Zadnova S.P., Livanova L.F., Krepostnova I.M., Zakharova T.L., Osin A.V., Smirnova N.I. [Complex gene- and immune-diagnostic test-system for identification of cholera vibrios belonging to O1 and O139 serogroup; and assessment of their virulence]. RF Patent 2404257.
2. Smirnova N.I., Kirillina O.A., Cheldyshova N.B., Kutyrev V.V. [Differentiation of *Vibrio cholerae* eltor according to their epidemic significance using novel diagnostic cholera bacteriophages El Tor – ctx- and ctx+ and polymerase chain reaction]. *Zh. Epidemiol. Mikrobiol. Immunobiol.* 2001; 6:11–6.
3. Smirnova N.I., Goryaev A.A., Shubina A.V., Zadnova S.P., Kutyrev V.V. [Method of detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 strains, identification of their biovar affinity, and differentiation of the strains belonging to biovar El Tor onto typical and genetically altered ones using multiplex polymerase chain reaction and a test-system necessary to perform the assay]. RF Patent 2458141.
4. Cherkasov A.V., Krasnov Ya.M., Agafonov D.A., Shashkova A.V., Smirnova N.I. [Variability of structure of VSP-II pandemicity island in *Vibrio cholerae* strains isolated in the territory of Russia]. *Infektsiya i Immunitet.* 2013; 3(2):185.
5. Dziejman M., Balon E., Boyd D., Fraser S.M., Heidelberg J.F., Mekalanos J.J. Comparative genomic analysis of *Vibrio cholerae*: Genes that correlate with cholera endemic and pandemic disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99:1556–61.
6. Nair G.B., Qadri F., Holmgren J., Svennerholm A.M., Safa A., Bhuiyan N.A., Ahmad Q.S., Faruque S.M., Faruque A.S., Takeda Y., Sack D.A. Cholera due to altered El Tor strains of *Vibrio cholerae* O1 in Bangladesh. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44:4211–3.
7. O'Shea Y.A., Finnan S., Reen F.J., Morrissey J.P., O'Gara F., Boyd F. The *Vibrio* seventh pandemic island-II is a 26,9 kb genomic island present in *Vibrio cholerae* El Tor and O139 serogroup isolates that shows homology to a 43,4 kb genomic island in *V. vulnificus*. *Microbiology.* 2004; 150:4053–63.
8. Taviani E., Grim C.J., Choi J., Chun J., Haley B., Hasan N.A., Huq A., Colwell R.R. Discovery of novel *Vibrio cholerae* VSP-II genomic islands using comparative genomic analysis. *FEMS Microbiol. Lett.* 2010; 308:130–7.

Authors:

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

Об авторах:

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

Поступила 28.03.14.

**Е.С.Казакова, С.А.Портенко, И.Н.Шарова, И.Г.Карнаухов, Т.Ю.Красовская, В.Е.Куклев,
Е.В.Найденова, Е.А.Билько, И.А.Касьян, С.А.Щербакова, А.В.Топорков**

ОРГАНИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В МОБИЛЬНОМ КОМПЛЕКСЕ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКОЙ БРИГАДЫ В ПЕРИОД ПРОВЕДЕНИЯ МАССОВЫХ МЕРОПРИЯТИЙ

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

Значительная роль в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения массовых мероприятий отводится лабораторному обеспечению эпидемиологического надзора. С учетом возрастания нагрузки на лабораторную базу учреждений Роспотребнадзора и лечебно-профилактических организаций на территории проведения массового мероприятия для осуществления лабораторных исследований могут быть задействованы СПЭБ Роспотребнадзора. На моделях организации и проведения лабораторных исследований в МК СПЭБ в период подготовки и проведения XXVII Всемирной летней универсиады в 2013 г. в Казани и саммита «Группы двадцати» в Санкт-Петербурге в 2013 г. сформулированы основные принципы организации и алгоритмы диагностической работы в лабораториях мобильных формирований, задействованных для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в период проведения массовых мероприятий.

Ключевые слова: массовые мероприятия с международным участием, лабораторная диагностика, мобильный комплекс специализированной противозидемической бригады.

**E.S.Kazakova, S.A.Portenko, I.N.Sharova, I.G.Karnaukhov, T.Yu.Krasovskaya, V.E.Kuklev, E.V.Naidenova,
E.A.Bil'ko, I.A.Kas'yan, S.A.Shcherbakova, A.V.Toporkov**

Management of Diagnostic Investigations at the Premises of Specialized Anti-Epidemic Team Mobile Complex at the Time of Running Mass Events

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

Laboratory support of epidemiological surveillance plays a significant role in the provision of sanitary-epidemiological welfare of the population at the time of preparations to and carrying out public events. Taking into consideration the increment of load upon the laboratory facilities of the Rospotrebnadzor institutions and general medical-and-prophylactic establishments, there emerges a need to deploy specialized anti-epidemic teams. By the example of management of the laboratory investigations in SAET mobile complex during XXVII World-wide Summer Universiade in Kazan, 2013 and G-20 Summit in Saint-Petersburg, 2013 formulated have been the basic principles of organization and algorithms of diagnostic work at the premises of laboratory facilities of SAET mobile unit deployed in order to provide for sanitary-epidemiological welfare of the population at the time of running public events.

Key words: mass events with international participation, laboratory diagnostics, mobile complex of specialized anti-epidemic team.

Неотъемлемой составляющей современной общественной жизни является проведение крупных политических, культурных и спортивных мероприятий, привлекающих большое число участников и зрителей, в том числе и из-за рубежа, которые можно отнести к разряду массовых мероприятий (ММ) [1].

Одним из основных аспектов успешного осуществления ММ является обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения в период его подготовки и проведения. При этом значительная роль отводится лабораторному обеспечению эпидемиологического надзора. Этот период требует усиления лабораторного контроля за объектами водоснабжения, размещения, питания участников и гостей ММ; эпизоотологического мониторинга природно-очаговых инфекционных болезней на энзоотических территориях, прилегающих к району ММ; лабораторной диагностики инфекционных болезней, в том числе «экзотических», не характерных для территории проведения ММ, а также обеспечения готовности к проведению лабораторной диагности-

ки особо опасных инфекционных болезней. Кроме этого, в период проведения подобных мероприятий возрастает потенциальная опасность и риск преднамеренного применения ПБА в террористических целях, что обуславливает необходимость проведения широкомасштабного лабораторного скрининга объектов окружающей среды (прежде всего, пищевых продуктов, продовольственного сырья, воды) на наличие ПБА и биологических токсинов.

С учетом возрастания нагрузки на лабораторную базу местных учреждений Роспотребнадзора (ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии») и лечебно-профилактических организаций на территории проведения ММ для осуществления лабораторного обеспечения могут использоваться приданные силы, в частности, специализированные противозидемические бригады (СПЭБ) Роспотребнадзора, функционирующие на базе научно-исследовательских противочумных институтов. Тактика использования СПЭБ в ходе обеспечения проведения ММ зависит от стоящих перед СПЭБ задач и объемов планируе-

мых лабораторных исследований. Учитывая непродолжительное время проведения ММ (от 1 дня до нескольких недель), очевидна необходимость получения результатов лабораторных исследований в максимально сжатые сроки.

Основные принципы организации и алгоритмы диагностической работы в лабораториях мобильных формирований, задействованных для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в период проведения ММ, сформулированы на примерах организации и проведения лабораторных исследований в мобильном комплексе (МК) СПЭБ в период подготовки и проведения XXVII Всемирной летней универсиады в 2013 г. в Казани (Универсиада-2013) и саммита «Группы двадцати» в Санкт-Петербурге в 2013 г. (саммит).

В период проведения Универсиады-2013 в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия принимали участие органы и организации Роспотребнадзора и здравоохранения. Лабораторные исследования осуществляли ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан» (ЦГиЭ в РТ), ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница» Министерства здравоохранения Республики Татарстан (РКИБ), ГАУЗ «Городской диагностический центр по лабораторной диагностике инфекционных заболеваний» Министерства здравоохранения Республики Татарстан (ГДЦ). Кроме стационарных лабораторий, для обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия были задействованы МК и мобильные лаборатории. С целью усиления лабораторной базы ЦГиЭ в РТ в Казань был направлен МК СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб» (приказ Роспотребнадзора от 08.05.2013 г. № 285), для усиления контроля радиационной обстановки на объектах Универсиады-2013 – передвижная лаборатория ФБУН «Научно-исследовательский институт радиационной гигиены имени профессора П.В. Рамзаева» [1].

МК СПЭБ был развернут и функционировал в полном составе на территории ЦГиЭ в РТ: лаборатория индикации (ИЛ), бактериологическая лаборатория (БЛ), лаборатория ООИ (ЛООИ), санитарно-гигиеническая лаборатория (СГЛ), блок поддержки бактериологических исследований (БПБЛ) и штабной модуль.

Лабораторную диагностику инфекционных болезней и контроль состояния факторов окружающей среды во время проведения Универсиады-2013 выполняли 18 лабораторий и свыше 170 специалистов.

Задачи, номенклатура и объем лабораторных исследований, осуществляемых в рамках обеспечения санитарно-эпидемиологического надзора при проведении Универсиады-2013, были регламентированы двумя документами: «Порядок лабораторного обеспечения диагностики инфекционных заболеваний в период проведения Универсиады – 2013» («Порядок – лабораторная диагностика») и «Порядок лабораторного обеспечения исследований проб окружающей

среды в период проведения Универсиады – 2013 в Казани» («Порядок – окружающая среда»), утвержденными Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

В соответствии с «Порядком – лабораторная диагностика» одной из основных задач являлась организация и проведение лабораторной диагностики особо опасных инфекционных болезней, имеющих в период проведения ММ важное значение для своевременной постановки диагноза и, при необходимости, организации и проведения комплекса противоэпидемических мероприятий. Диагностику особо опасных инфекционных болезней осуществляли на базе МК СПЭБ в ИЛ и ЛООИ. Эти лаборатории имеют разрешение на диагностические (индикационные) исследования материала, зараженного или подозрительного на зараженность возбудителями I группы патогенности, включая особо опасные вирусы, и могут осуществлять диагностику неизвестного ПБА в соответствии с действующими нормативно-методическими документами. В ИЛ и ЛООИ МК СПЭБ во время Универсиады-2013 была обеспечена готовность к проведению индикации возбудителей опасных инфекционных болезней бактериальной и вирусной природы I–IV групп патогенности с использованием экспресс- и ускоренных методов диагностики: МФА, ПЦР и ИФА. Регламентированное время выполнения исследований составляло от 1 до 8 ч. Кроме того, в ЛООИ была обеспечена готовность проведения лабораторной диагностики особо опасных инфекционных болезней бактериальной природы в соответствии с «классической» схемой: выделение, идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам культур возбудителей бактериальных инфекций I–II групп патогенности из проб клинического материала и объектов окружающей среды. Время выполнения исследований, в этом случае, составляло до 5 сут.

В соответствии с «Порядком – лабораторная диагностика» во время проведения Универсиады-2013 при подозрении на опасную инфекционную болезнь лабораторному обследованию подлежали следующие контингенты: жители и работники Деревни Универсиады, население Казани, гости Универсиады-2013 и лица, задействованные в ее обслуживании, а также VIP-персоны. Материал для лабораторного исследования забирал обученный медицинский персонал РКИБ до начала лечения.

В соответствии с данными эпидемиологического анамнеза в ИЛ и ЛООИ МК СПЭБ были проведены исследования клинического материала от одного спортсмена на наличие РНК вируса Денге методом ПЦР, на наличие антител к вирусу желтой лихорадки – МФА. РНК вируса Денге и антитела к вирусу желтой лихорадки не обнаружены.

Второй задачей в соответствии с «Порядком – лабораторная диагностика» являлась организация и проведение лабораторной диагностики острых ки-

шечных, респираторных и других инфекционных болезней, обусловленных возбудителями бактериальной и вирусной природы III–IV групп патогенности. В БЛ и ИЛ МК СПЭБ для лабораторного исследования направлялся клинический материал от аккредитованных лиц – жителей и работников Деревни Универсиады при обращении в Медицинский центр и госпитализированных в РКИБ, а также от VIP-персон. Отбор материала для лабораторного исследования от больных или лиц с подозрением на инфекционные болезни осуществлял обученный медицинский персонал на следующих объектах: Медицинский центр Деревни Универсиады; медицинские пункты для спортсменов и зрителей на спортивных объектах; медицинские пункты на неспортивных объектах (гостиницы и т.д.); РКИБ.

За время проведения Универсиады-2013 в БЛ и ИЛ МК СПЭБ было проведено 207 лабораторных исследований на наличие возбудителей кишечных и острых респираторных инфекций вирусной и бактериальной этиологии, других инфекционных болезней, включая исследования на наличие условно-патогенной микрофлоры проб клинического материала от участников Универсиады (спортсмены и работники Деревни Универсиады, VIP-персоны), аккредитованных лиц.

В результате проведенных исследований клинического материала были выявлены:

- ДНК энтеротоксигенной *E. coli* (ETEC) у одного больного ОКИ;
- РНК *Norovirus* 2 генотипа у трех больных ОКИ;
- культура *Salmonella enterica* у одного больного ОКИ;
- условно-патогенные микроорганизмы (*Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, α -гемолитический стрептококк и др.) в 5 пробах.

Выделенная от больного ОКИ культура сальмонеллы была секвенирована с использованием универсальной системы «Microseq500». В результате проведенного секвенирования выявлена 82 % гомология со штаммом *Salmonella enterica*. Необходимо отметить, что секвенирование на базе МК СПЭБ было осуществлено впервые и показана эффективность этого метода при осуществлении оперативных диагностических исследований.

В соответствии с «Порядком – окружающей среда» в период подготовки и проведения Универсиады-2013 осуществляли лабораторный контроль объектов питания и предприятий пищевой промышленности, мониторинг объектов окружающей среды на наличие возбудителей холеры и легионеллеза.

Исследования в рамках мониторинга воды поверхностных водоемов на вибриофлору на территории РТ проводили в ЛООИ МК СПЭБ. За период с 28.06.2013 по 19.07.2013 г. было исследовано 319 проб воды поверхностных водоемов Казани и районов. Холерные вибрионы O1/O139 серогруппы не

обнаружены.

Мониторинг воды на наличие *Legionella pneumophila* осуществляли в ЛООИ МК СПЭБ. До начала Универсиады-2013 были проведены исследования воды из систем горячего водоснабжения жилых домов Деревни Универсиады. Пробы воды исследовали бактериологическим методом (в соответствии с требованиями действующих нормативно-методических документов) и методом ПЦР – на этапах идентификации выделенных культур легионелл. Из 35 проб воды в 6 выявлены *Legionella pneumophila* в концентрации более $1 \cdot 10^2$ м.к./л, что потребовало проведения профилактических мероприятий.

Лабораторный контроль продуктов питания, воды и продовольственного сырья на микробиологические, санитарно-химические и паразитологические показатели, смывов на объектах питания на микробиологические и паразитологические показатели осуществляли следующие лаборатории: бактериологических исследований, паразитологических исследований, лаборатория гигиены питания, физико-химических методов исследований, отделение радиационных исследований ЦГиЭ в РТ и СГЛ МК СПЭБ. Исследования проводили в соответствии с действующими нормативными и регламентирующими документами.

За период Универсиады-2013 в СГЛ МК СПЭБ обеспечивали ежедневный лабораторный контроль 5 пунктов питания в Деревне Универсиады: исследования на микробиологические показатели проб пищевых продуктов, воды бутилированной и водопроводной, смывов. В соответствии с требованиями Технического Регламента Таможенного Союза определяемыми показателями для пищевых продуктов были БГКП, КМАФАнМ, *E. coli*, *S. aureus*, бактерии рода *Proteus*, *Salmonella*, листерии; для воды бутилированной – ОКБ, ТКБ, КМАФАнМ, псевдомонады; для воды водопроводной на объектах питания – ОКБ, ТКБ, ОМЧ; для смывов – БГКП, *S. aureus*, патогенная микрофлора, в том числе *Salmonella*. Исследования проводили с использованием автоматических микробиологических анализаторов. Всего за период Универсиады в СГЛ МК СПЭБ было исследовано на санитарно-микробиологические показатели 416 проб (1872 исследования) пищевых продуктов, смывов, питьевой воды. Было выявлено 9 нестандартных проб (в пробах пищевых продуктов обнаружены БГКП).

Всего в рамках обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения (лабораторный контроль объектов окружающей среды и питания, лабораторная диагностика особо опасных инфекционных болезней, ОКИ, респираторных инфекций и малярии) за период Универсиады было выполнено 16005 исследований, из них на базе ЦГиЭ в РТ – 13201, МК СПЭБ ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» – 2440, РКИБ – 25, ГДЦ – 339 [1].

Таким образом, во время проведения Универсиады-2013 с учетом возможностей МК

СПЭБ была обеспечена готовность к проведению лабораторной диагностики инфекционных болезней вирусной и бактериальной природы по 53 нозологиям, в том числе (в соответствии со сложившейся эпидемической ситуацией на тот момент) ближневосточного респираторного синдрома, вызванного новым коронавирусом, гриппа птиц А/Н7N9/, энтерогеоморрагического колибактериоза, вызванного *E. coli* O104, инфекции, вызванной энтеровирусом 71.

С 1 по 7 сентября 2013 г. специалисты МК СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб» были направлены в соответствии с приказом Роспотребнадзора от 30.08.2013 г. № 632 в Санкт-Петербург для организации и обеспечения лабораторного контроля пищевых продуктов, продовольственного сырья и объектов окружающей среды на наличие возбудителей опасных инфекционных болезней бактериальной и вирусной этиологии в рамках эпидемиологического надзора в период подготовки и работы саммита «Группы двадцати».

В соответствии с поставленными задачами (обеспечение лабораторной диагностики широкого спектра нозологических форм, проведение лабораторной диагностики возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности и биологических токсинов в продовольственном сырье и пищевых продуктах, мониторинг воды открытых водоемов на вибриофлору и вирусы, исследование воды систем горячего водоснабжения гостиниц на наличие возбудителя легионеллеза) были задействованы две лаборатории МК СПЭБ – ИЛ и БЛ.

МК СПЭБ был размещен на территории ЦГиЭ в Санкт-Петербурге. В БЛ проводили разбор, первичную подготовку проб (перевод в жидкую фазу, концентрирование методом фильтрации), а также выполнение исследований с помощью МФА, иммунохроматографического анализа (ИХ), направленного на выявление биологических токсинов – ботулинического типов А и В, рицина, стафилококкового энтеротоксина, холерного токсина. В ИЛ осуществляли проведение ПЦР. При этом приоритетным было использование тест-систем, позволяющих проводить исследование проб одновременно по нескольким параметрам, а также учитывать результаты в режиме «реального времени».

В связи с тем, что в период проведения мероприятий особого статуса возрастает потенциальная опасность и риск преднамеренного применения ПБА в террористических целях, возникает необходимость проведения широкомасштабного лабораторного скрининга проб из наиболее значимых объектов на наличие возбудителей опасных инфекционных болезней. Перечень объектов, на которых ежедневно проводили отбор проб (места размещения и объекты общественного питания делегаций саммита) был определен приказом (от 02.09.2013 г. № 178 «Об обследовании объектов саммита») Управления Роспотребнадзора по городу Санкт-Петербург. Пробы пищевых продуктов и продовольственного сырья из ресторанов гостиниц, бортовое питание и

воду из номерного фонда и пищеблоков гостиниц исследовали на наличие маркеров возбудителей ООИ: антигена (МФА) и ДНК (ПЦР: гены *safl* и *pla*) возбудителя чумы; антигена и ДНК (ген *pag A*) возбудителя сибирской язвы; антигена и ДНК (ген белка внешней мембраны 31 кДа) возбудителя бруцеллеза; антигенов O1 и O139 серогруппы, и ДНК (гены *ctx A*, *t sr A*, *wbe T*, *wbfr*, *hlyA*) возбудителя холеры; антигены возбудителей туляремии, сапа и мелиоидоза – 7 показателей. Для получения более достоверных результатов по возможности использовали два метода для выявления указанных маркеров возбудителей. Пробы воды открытых водоемов исследовали на наличие РНК *Rotavirus*, *Norovirus*, *Astrovirus*, *Enterovirus* и ДНК возбудителя холеры – 5 показателей. Воду систем горячего водоснабжения гостиниц исследовали методом ПЦР на наличие возбудителя легионеллеза [2, 3]. Учитывая ограниченное время проведения мероприятия и особую важность получения результатов исследований в короткие сроки, для своевременного проведения противоэпидемических мероприятий, в случае необходимости, на всех этапах лабораторного контроля использовали только методы экспресс- и ускоренной диагностики: МФА, ПЦР, ИХ. Таким образом, впервые был разработан и применен алгоритм скрининга проб объектов окружающей среды на наличие возбудителей опасных инфекций.

В период работы саммита в ИЛ и БЛ МК СПЭБ в соответствии с приказом Управления Роспотребнадзора по Санкт-Петербургу от 02.09.2013 г. № 178 «Об обследовании объектов саммита» поступила для исследования 261 проба, проведено 2425 исследований методами МФА, ПЦР и ИХ с целью детекции возбудителей опасных инфекционных болезней 12 нозологий и 5 видов токсинов биологического происхождения.

В одной пробе воды из системы горячего водоснабжения гостиницы выявлена ДНК легионеллы. Позже из этой пробы была выделена культура возбудителя. Из 66 проб пищевых продуктов, исследованных методом ИХ на наличие биологических токсинов – ботулинического типов А и В, рицина, стафилококкового энтеротоксина, холерного токсина, в одной пробе выявлен стафилококковый энтеротоксин, и методом ПЦР подтверждено наличие ДНК *S. aureus*. Позже из этого образца была выделена культура токсигенного штамма *S. aureus* [2, 3].

Таким образом, в период проведения Универсиады-2013 и саммита для лабораторного обеспечения эпидемиологического надзора в период проведения ММ впервые были задействованы мобильные формирования МК СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб». При этом во время проведения Универсиады-2013 лабораторная база СПЭБ была задействована в полном составе после модернизации СПЭБ и создания МК. Объем и номенклатура работ МК СПЭБ во время проведения Универсиады-2013 полностью соответствовали мощности лабораторной базы, заявлен-

ной в Регламенте функционирования СПЭБ.

Анализ опыта организации лабораторного обеспечения во время проведения двух различных по своей специфике ММ (Универсиады-2013 и саммита) показал, что основным моментом, определяющим организацию лабораторных исследований, в том числе лабораторного контроля пищевых продуктов и объектов окружающей среды, является спектр поставленных задач. Последнее также определяет и тактику использования приданных сил, в частности, МК СПЭБ (в полном (усиленном) составе или в виде отдельных лабораторных модулей и групп специалистов). Продолжительность мероприятия, а также условия его проведения влияют на сроки выдачи ответа лабораторной службой, что является определяющим при выборе приоритетных методов и в целом – алгоритма исследований.

Принимая во внимание значительный объем работы, приходящийся на лабораторную базу, в рамках мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия ММ, основными принципами организации лабораторных исследований являются:

- выбор приоритетных показателей исследования;
- логистика системы отбора и доставки проб;
- приоритетное использование методов экспресс- и ускоренной диагностики (МФА, ИФА, ПЦР);
- автоматизация всех этапов исследования (пробоподготовка, микробиологические исследования и т.д.).

В ряде случаев такая организация лабораторных исследований не в полной мере отвечала требованиям современной нормативно-методической базы, преимущественно в части выдачи лабораторией ответа только на основании результатов экспресс- и ускоренных методов диагностики. Вместе с тем, учитывая значимость своевременной организации и проведения противоэпидемических мероприятий, решающее значение в выборе методов лабораторного исследования, на основании результатов которых будут приниматься решения о проведении таких мероприятий, имела не только диагностическая ценность методов, но и продолжительность анализа. Методом выбора в этом случае стал ПЦР-анализ, позволяющий проводить детекцию возбудителей в пробе в концентрации 10^3 м.к./мл в течение 6–8 ч. Кроме этого, использование ПЦР позволило осуществить многофакторный анализ, т.е. исследовать одну пробу на наличие нескольких возбудителей одновременно или определять несколько генетических маркеров одного возбудителя, что значительно повышало надежность получаемых результатов. Указанные подходы нашли отражение в методических рекоменда-

циях МР 4.2.0079/1-13 «Организация лабораторной диагностики инфекционных болезней, лабораторного контроля объектов окружающей среды при проведении массовых мероприятий».

Опыт организации лабораторных исследований в рамках обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в период проведения Универсиады-2013 и саммита был использован при организации аналогичных работ в период подготовки и проведения XXII Олимпийских и XI Паралимпийских зимних игр в Сочи в 2014 г.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. XXVII Всемирная летняя универсиада 2013 года в Казани. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия. Тверь: «Издательство «Триада»; 2013. 528 с.
2. Онищенко Г.Г., Кузькин Б.П., Ракитин И.А., Башкетова Н.С., Коржаев Ю.Н., Гречанинова Т.А., Дятлов И.А., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Щербакова С.А., Казакова Е.С., Шарова И.Н. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита «Группы двадцати» в Санкт-Петербурге в 2013 г. Сообщение 1. Эпидемиологические риски и основные направления мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки к проведению саммита. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 4:5–10.
3. Онищенко Г.Г., Кузькин Б.П., Ракитин И.А., Башкетова Н.С., Коржаев Ю.Н., Гречанинова Т.А., Дятлов И.А., Кутырев В.В., Топорков А.В., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Щербакова С.А., Казакова Е.С., Шарова И.Н. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в период подготовки и проведения саммита «Группы двадцати» в Санкт-Петербурге в 2013 г. Сообщение 2. Организация и приоритетные направления работы в период проведения саммита. *Пробл. особо опасных инф.* 2013; 4:11–15.

References

1. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors [XXVII World-Wide Summer Universiade in Kazan, 2013. Provision of Sanitary-Epidemiological Welfare of the Population]. Tver: "Triada" Publishing House; 2013. 528 p.
2. Onishchenko G.G., Kuz'kin B.P., Rakitin I.A., Bashketova N.S., Korzhaev Yu.N., Grechaninova T.A., Dyatlov I.A., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Kazakova E.S., Sharova I.N. [Sanitary-epidemiological welfare provision in the preparations to and management of the "G-20" Summit in Saint-Petersburg, 2013. Communication 1. Epidemiological risks and core operations for sanitary-epidemiological welfare provision in the preparations to the Summit]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 4:5–10.
3. Onishchenko G.G., Kuz'kin B.P., Rakitin I.A., Bashketova N.S., Korzhaev Yu.N., Grechaninova T.A., Dyatlov I.A., Kutyrev V.V., Toporkov A.V., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Kazakova E.S., Sharova I.N. [Sanitary-epidemiological welfare provision in the preparations to and management of the "G-20" Summit in Saint-Petersburg, 2013. Communication 2. Management and priority areas of anti-epidemic activities as regards "G-20" Summit campaign]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2013; 4:11–15.

Authors:

Kazakova E.S., Sharova I.N., Karnaukhov I.G., Portenko S.A., Krasovskaya T.Yu., Kuklev V.E., Naidenova E.V., Bil'ko E.A., Kas'yan I.A., Shcherbakova S.A., Toporkov A.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru

Об авторах:

Казакова Е.С., Шарова И.Н., Карнаухов И.Г., Портенко С.А., Красовская Т.Ю., Куклев В.Е., Найденова Е.В., Билько Е.А., Касьян И.А., Щербакова С.А., Топорков А.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru

Поступила 06.05.14.

И.И.Корсакова, Н.П.Храпова, Г.М.Напалкова, Л.В.Ломова, Т.В.Булатова

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УСКОРЕННОГО ЛИНЕЙНОГО ИММУНОЭЛЕКТРОФЕРЕЗА
ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИРОВАНИЯ БУРКХОЛЬДЕРИЙ**ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград,
Российская Федерация

Целью работы являлась разработка способа ускоренного линейного иммуноэлектрофореза для дифференцирования патогенных возбудителей сапа и мелиоидоза от непатогенных близкородственных буркхольдерий. Предлагаемая модификация метода позволила обнаружить антигены патогенных *B. pseudomallei* и *B. mallei* по наличию линий преципитата на границе геля-образца и геля с иммунными сыворотками. *B. thailandensis*, *B. cepacia* и *B. gladioli* таких линий преципитата не образовали, что дало возможность дифференцировать их от патогенных буркхольдерий. Способ ускоренного ЛИЭФ отличается простотой, быстротой исполнения, наглядностью. Метод пригоден для определения общих и специфических антигенов буркхольдерий, отбора иммунных сывороток, содержащих антитела к соответствующим антигенам, и может применяться как дополнительный аналитический метод выявления антигенов патогенных буркхольдерий.

Ключевые слова: сап, мелиоидоз, патогенные и непатогенные буркхольдерии, дифференциация, ускоренный линейный иммуноэлектрофорез.

I.I.Korsakova, N.P.Khrapova, G.M.Napalkova, L.V.Lomova, T.V.Bulatova

Application of the Rapid Linear Immune-Electrophoresis for Differentiation between *Burkholderia*

Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation

Objective of the study was to develop a method that would allow for rapid linear immune-electrophoresis to differentiate between pathogenic agents of glanders and melioidosis and non-pathogenic closely-related *Burkholderia*. The put-forward modification of the technique made it possible to detect the antigens of pathogenic *B. pseudomallei* and *B. mallei* due to the presence of precipitation lines in between the sample gel and the one with immune sera. *B. thailandensis*, *B. cepacia*, and *B. gladioli* did not form such precipitation lines, which in its turn provided for the possibility to differentiate between the mentioned ones and pathogenic *Burkholderia*. The rapid enhanced linear immune-electrophoresis is easy to perform and compelling, and takes little time. It is qualified for identification of heterogenic and specific antigens in *Burkholderia*, selection of immune sera containing antibodies to the existing antigens, and can be used as a supportive alternative analytical means for the detection of antigens of pathogenic *Burkholderia*.

Key words: glanders, melioidosis, pathogenic and non-pathogenic *Burkholderia*, differentiation, rapid linear immune-electrophoresis.

Кластер из трех близкородственных микроорганизмов, характеризующихся высокой схожестью, включает *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei* и *Burkholderia thailandensis*. Так, *B. thailandensis* и *B. pseudomallei* имеют сходство на уровне 94 % в составе аминокислот [7]. *B. thailandensis* может быть ошибочно определена как *B. pseudomallei* в процессе идентификации с помощью биохимических тестов, используемых в системах API 20NE, и латекс-агглютинации. Только 60 % из 58 штаммов *B. pseudomallei*, исследованных API 20NE, были установлены правильно, а 5 % из них отнесены к неидентифицированным микроорганизмам [5].

B. pseudomallei – подобные штаммы по способности ассимилировать L-арабинозу и по наличию на поверхности их клеток антигена 200 kDa подразделяются на вирулентные (Ara⁻) и авирулентные (Ara⁺) [4]. Недавними исследованиями установлено, что среди считающихся авирулентными штаммов *B. thailandensis* встречаются и такие, которые имеют приобретенный геномный материал, очень похожий на гены капсульного полисахарида *B. pseudomallei* [9]. Вирулентные штаммы возбудителей сапа и мелиоидоза способны вызывать острые и хронические заболевания у людей, в том числе с летальным исхо-

дом, а также использоваться в качестве компонентов биологического оружия [8, 10]. В последнем случае решающим фактором является быстрота обнаружения патогена [2].

Бактерии *Burkholderia cepacia*, обладающие значительным родством с буркхольдериями группы «*pseudomallei*», обитают во внешней среде и не являются патогенными для здоровых людей. Однако они способны вызывать респираторные заболевания у пациентов с кистозным фиброзом, а также нозокомиальные инфекции у лиц, находящихся на лечении в палатах интенсивной терапии [6]. В связи с вышеизложенным представляют интерес методы, позволяющие отличать патогенные *B. pseudomallei* и *B. mallei* от близкородственных непатогенных в обычных условиях буркхольдерий.

Целью работы являлась разработка способа ускоренного линейного иммуноэлектрофореза (ЛИЭФ) для дифференцирования патогенных возбудителей сапа и мелиоидоза от непатогенных близкородственных буркхольдерий.

Материалы и методы

Для работы использовали типичные штаммы

возбудителей сапа и мелиоидоза с полноценной антигенной структурой из коллекции Волгоградского научно-исследовательского противочумного института, а также штаммы 3 близкородственных видов буркхольдерий: *B. thailandensis*, *B. cepacia*, *B. gladioli*. Культивирование микроорганизмов, накопление биомассы, инаktivирование микробной взвеси и получение водно-солевых экстрактов (ВСЭ) проводили как описано [3].

Гипериммунные кроличьи и козьи сыворотки получали путем внутрикожных или подкожных введений ацетонвысушенных микробных клеток *B. pseudomallei* 100 с использованием полного или неполного адьюванта Фрейнда («Calbiochem», США) в соотношении 1:1 в 8–10 точек вдоль позвоночника четырехкратно с интервалом в 1 неделю возрастающими дозами антигенов. Курс иммунизации состоял из двух или четырех циклов с интервалом 30 сут. Взятие крови проводили на 7-е сутки после заключительной инъекции. В работе использовали сыворотки, активность которых в РИД была не ниже 1:16.

ЛИЭФ проводили в следующих условиях: пластинку GelBond («Lonza», Швейцария) размером 8,5×10 см заливали 10 мл 1% раствора агарозы («Calbiochem», США), приготовленного на трис-вероналовом буфере, содержащем 0,1 г лактата кальция и 0,7 г азида натрия в 1 л буфера (рН 8,6), разведенном в 5 раз (этот же буфер использовали в электродных отсеках). На расстоянии 1 см от края пластинки с анодной стороны вырезали полосу геля шириной 4–5 см. Гель растапливали, охлаждали до 48 °С, добавляли к нему 5–10 объемных процентов сыворотки, содержащей антитела к исследуемым антигенам, и снова заливали на пластинку. Между гелем с сывороткой и исследуемыми пробами антигенов оставляли контактную полосу геля шириной 1–2 мм. После застывания геля с сывороткой на границе с контактной полосой располагали прямоугольные гель-образцы с антигенами, подлежащими исследованию. Гель-образцы готовили так же, как сыворотку, внося в охлажденный гель 5–10 объемных процентов исследуемых антигенов. К краям геля прикладывали мостики из 5 слоев фильтровальной бумаги, смоченные электродным буфером. Электрофорез проводили при напряженности электрического поля (Н) – 4–5 В/см в течение 3–5 ч при комнатной температуре. После остановки электрофореза пластинку просматривали.

Результаты и обсуждение

Метод ЛИЭФ при напряженности электрического поля 1,5 В/см и температуре 10 °С в течение 18 ч был предложен [1] для определения характеристик большинства белков нормальных и патологических сывороток крови человека.

В процессе данного исследования были использованы различные условия постановки линейного иммуноэлектрофореза: применяли несколько буферных растворов с ионной силой 0,016–0,032 (трис-вероналовый с лактатом кальция, рН 8,6; барбитал-

трис-глициновый, рН 8,8), варьировали величину напряженности электрического поля (2–12 В/см), длительность (0,5–18 ч) и температуру (10–25 °С) проведения ЛИЭФ.

Только предлагаемая модификация метода позволила обнаружить антигены патогенных *B. pseudomallei* и *B. mallei* по наличию линий преципитата на границе гель-образца и геля с сыворотками иммунными кроличьими или козьими, содержащими антитела к искомому антигенному комплексу. Отрицательный результат указывал на отсутствие антигенов патогенных микроорганизмов, что дало возможность дифференцировать возбудители сапа и мелиоидоза от непатогенных близкородственных буркхольдерий. На рис. 1 представлены результаты изучения патогенных и непатогенных буркхольдерий в ускоренном ЛИЭФ. В пробе 4 наличие линии преципитата на границе гель-образца и геля с сывороткой иммунной свидетельствовало о присутствии антигенов патогенной *B. mallei*. Пробы 1, 2, 3 оказались отрицательными, так как линий преципитата не обнаружено.

Исследование штаммов по указанному признаку методом ускоренного ЛИЭФ в предлагаемых условиях с антителами, полученными к ВСЭ из ацетонвысушенных клеток возбудителей сапа и мелиоидоза, было использовано при изучении антигенного материала и сывороток. Наличие непрерывных преципитационных линий, образуемых расположенными рядом гель-образцами, свидетельствовало об идентичности исследуемых антигенов.

Результаты дифференцирования патогенных и непатогенных буркхольдерий и установления идентичности антигенов ускоренным ЛИЭФ показаны на рис. 2. Наличие линий преципитата на границе гель-образцов и геля с сывороткой иммунной говорило о присутствии в пробах 2 и 3 антигенов патогенных *B. pseudomallei* и *B. mallei*, а непрерывность преципитационных линий, образуемых расположенными рядом гель-образцами, – об идентичности искомых антигенов. ВСЭ *B. cepacia* и *B. thailandensis* не образовали линий преципитата на границе гель-образцов и геля с сывороткой иммунной.

Ускоренный ЛИЭФ позволил обнаружить общие и специфические антигены у патогенных и непатогенных буркхольдерий (рис. 3). Возбудители сапа и мелиоидоза выявлены в образцах 1, 2 и 4. При дли-

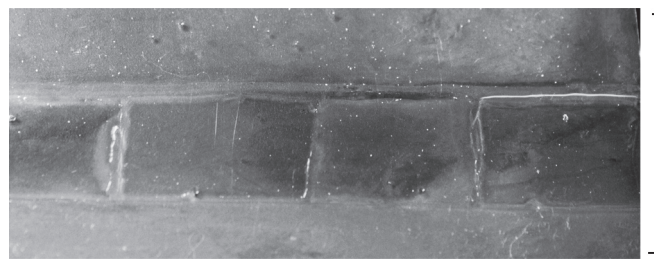


Рис. 1. Изучение патогенных и непатогенных буркхольдерий в ускоренном линейном иммуноэлектрофорезе (напряженность электрического поля – 4,8 В/см, время электрофореза – 4,5 ч при комнатной температуре). Использованы сыворотка кроличья к *B. pseudomallei* 100 и антигены:

1 – ВСЭ из ацетонвысушенных клеток *B. thailandensis* 264; 2 – *B. gladioli* 8495; 3 – *B. cepacia* 25416; 4 – *B. mallei* 10230

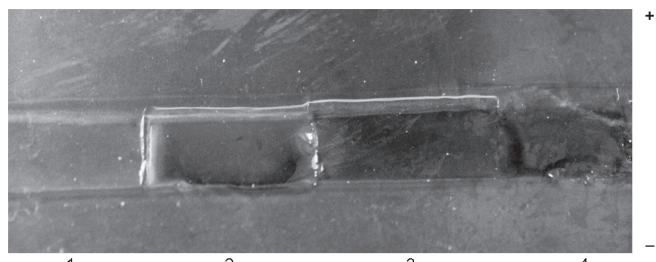


Рис. 2. Дифференцирование патогенных и непатогенных буркхолдерий и установление идентичности антигенов в ускоренном линейном иммуноэлектрофорезе (напряженность электрического поля – 4,2 В/см, время электрофореза – 5 ч при комнатной температуре). Использованы сыворотка козья к *B. mallei* 10230 и антигены:

1 – ВСЭ из ацетонвысушенных клеток *B. cepacia* 25416; 2 – *B. pseudomallei* 57576; 3 – *B. mallei* Ц-4; 4 – *B. thailandensis* 264

тельности ЛИЭФ 3,5 ч во всех пробах на расстоянии 5 см от контактной полосы были видны непрерывные преципитационные линии, что указывало на идентичность исследуемых общих антигенов штаммов *B. mallei*, *B. pseudomallei* и *B. cepacia*.

Таким образом, разработан способ ускоренного ЛИЭФ для дифференцирования патогенных возбудителей сапа и мелиоидоза от непатогенных близкородственных буркхолдерий, отличающийся простотой и наглядностью. Метод пригоден для определения общих и специфических антигенов буркхолдерий, отбора иммунных сывороток, содержащих антитела к соответствующим антигенам, и может применяться как дополнительный аналитический метод выявления антигенов патогенных буркхолдерий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аксельсен Н., Крелль Й., Вееке Б. Руководство по количественному иммуноэлектрофорезу. Методы и применение. М.: Мир; 1977. 216 с.
2. Антонов В.А., Илюхин В.И., Храпова Н.П., Прохвятилова Е.В., Викторов Д.В., Сенина Т.В., Будченко А.А., Ткаченко Г.А., Алексеева В.В., Захарова И.Б., Савченко С.С., Зинченко О.В., Сорокина Ю.И., Алексеев В.В. Современные подходы к диагностике сапа и мелиоидоза. Идентификация и типирование *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei*. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 2(112):46–50.
3. Корсакова И.И., Храпова Н.П., Напалкова Г.М., Ломова Л.В., Дрефс Н.М., Голосеев Ю.А., Булатова Т.В. Сравнительный анализ иммунохимических методов исследования антигенов патогенных буркхолдерий. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 3(113):82–5.
4. Храпова Н.П., Алексеев В.В., Корсакова И.И., Дрефс Н.М., Ломова Л.В., Булатова Т.В., Напалкова Г.М. Применение сапных и мелиоидозных моноклональных антител различной эпитопной направленности для обнаружения и идентификации патогенных буркхолдерий. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 1(107):66–9.
5. Glass M.B., Popovic T. Preliminary evaluation of the API 20NE and RapIDNF plus systems for rapid identification of *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei*. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(1):479–83.
6. Harding S.V., Sarkar-Tyson M., Oyston P.C.F., Titball R.W. Immunogenic proteins of *Burkholderia pseudomallei* and uses thereof. Patent WO/2008/017826. PCT/GB2007/002989, 14.02.2008.
7. Nieves W., Heang J., Asakrah S., Bentrup K.H., Roy C.J., Morici L.A. Immunospecific responses to bacterial elongation factor Tu during *Burkholderia* infection and immunization. *PLoS ONE*. 2010; 5(12):e14361.
8. Sarkar-Tyson M., Titball R.W. Progress toward development of vaccines against melioidosis: A review. *Clin. Ther.* 2010; 32(8):1437–45.
9. Sim B.M.Q., Chantratita N., Ooi W.F., Nandi T., Tewhey R., Wuthiekanun V., Thaipadungpanit J., Tumapa S., Ariyaratne P., Sung W.-K., Sem X.H., Chua H.H., Ramnarayanan K., Lin C.H., Liu Y., Feil E.J., Glass M.B., Tan G., Peacock S.J., Tan P. Genomic acquisition of a capsular polysaccharide virulence cluster by non-pathogenic *Burkholderia* isolates. *Genome Biol.* 2010; 11:R89.

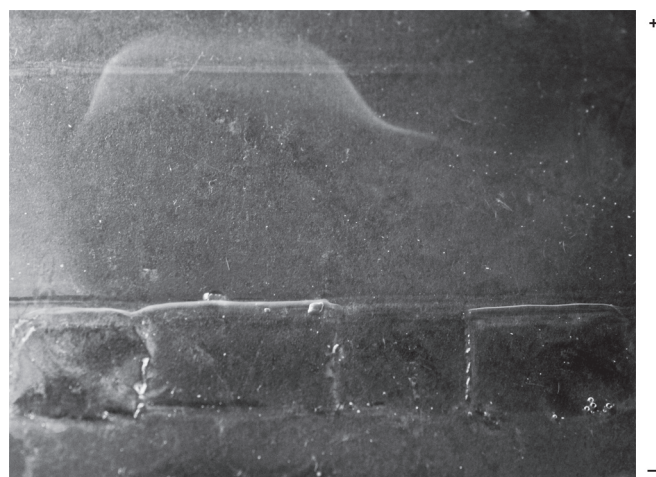


Рис. 3. Обнаружение общих и специфических антигенов у патогенных и непатогенных буркхолдерий в ускоренном линейном иммуноэлектрофорезе (напряженность электрического поля – 4,2 В/см, время электрофореза – 3,5 ч при комнатной температуре). Использованы сыворотка кроличья к *B. pseudomallei* 100 и антигены:

1 – ВСЭ из ацетонвысушенных клеток *B. pseudomallei* 57274; 2 – *B. mallei* 10230; 3 – *B. cepacia* 25416; 4 – *B. pseudomallei* 60913

10. Whitlock G.C., Robida M.D., Judy B.M., Qazi O., Brown K.A., Deeraksa A., Taylor K., Massey S., Loskutov A., Borovkov A.Y., Brown K., Cano J.A., Magee D.M., Torres A.G., Estes D.M., Sykes K.F. Protective antigens against glanders identified by expression library immunization. *Front Microbiol.* 2011; 2:227.

References

1. Aksel'sen N., Krell I., Veeke B. [Guidelines on Quantitative Immune-Electrophoresis. Techniques and Applications]. M.: Mir; 1977. 216 p.
2. Antonov V.A., Ilyukhin V.I., Khrapova N.P., Prokhvatilova E.V., Viktorov D.V., Senina T.V., Budchenko A.A., Tkachenko G.A., Alekseeva V.V., Zakharova I.B., Savchenko S.S., Zinchenko O.V., Sorokina Yu.I., Alekseev V.V. [Modern approaches to the detection of glanders and melioidosis. Identification and typing of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei*]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 2(112):46–50.
3. Korsakova I.I., Khrapova N.P., Napalkova G.M., Lomova L.V., Drefs N.M., Goloseev Yu.A., Bulatova T.V. [Comparative analysis of immunochemical methods applied for studies of pathogenic Burkholderia antigens]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 3(113):82–5.
4. Khrapova N.P., Alekseev V.V., Korsakova I.I., Drefs N.M., Lomova L.V., Bulatova T.V., Napalkova G.M. [Application of glanders and melioidosis monoclonal antibodies of different epitope specificity for pathogenic Burkholderia detection and identification]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 1(107):66–9.
5. Glass M.B., Popovic T. Preliminary evaluation of the API 20NE and RapIDNF plus systems for rapid identification of *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei*. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(1):479–83.
6. Harding S.V., Sarkar-Tyson M., Oyston P.C.F., Titball R.W. Immunogenic proteins of *Burkholderia pseudomallei* and uses thereof. Patent WO/2008/017826. PCT/GB2007/002989, 14.02.2008.
7. Nieves W., Heang J., Asakrah S., Bentrup K.H., Roy C.J., Morici L.A. Immunospecific responses to bacterial elongation factor Tu during *Burkholderia* infection and immunization. *PLoS ONE*. 2010; 5(12):e14361.
8. Sarkar-Tyson M., Titball R.W. Progress toward development of vaccines against melioidosis: A review. *Clin. Ther.* 2010; 32(8):1437–45.
9. Sim B.M.Q., Chantratita N., Ooi W.F., Nandi T., Tewhey R., Wuthiekanun V., Thaipadungpanit J., Tumapa S., Ariyaratne P., Sung W.-K., Sem X.H., Chua H.H., Ramnarayanan K., Lin C.H., Liu Y., Feil E.J., Glass M.B., Tan G., Peacock S.J., Tan P. Genomic acquisition of a capsular polysaccharide virulence cluster by non-pathogenic *Burkholderia* isolates. *Genome Biol.* 2010; 11:R89.
10. Whitlock G.C., Robida M.D., Judy B.M., Qazi O., Brown K.A., Deeraksa A., Taylor K., Massey S., Loskutov A., Borovkov A.Y., Brown K., Cano J.A., Magee D.M., Torres A.G., Estes D.M., Sykes K.F. Protective antigens against glanders identified by expression library immunization. *Front Microbiol.* 2011; 2:227.

Authors:

Korsakova I.I., Khrapova N.P., Napalkova G.M., Lomova L.V., Bulatova T.V. Volgograd Research Anti-Plague Institute, 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Об авторах:

Корсакова И.И., Храпова Н.П., Напалкова Г.М., Ломова Л.В., Булатова Т.В. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru

Поступила 15.05.13.

Н.А.Шишкова, А.Н.Мокриевич, В.М.Павлов, Л.И.Маринин, Г.М.Вахрамеева, Т.Ю.Кудрявцева,
И.А.Дятлов

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ CHI-ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ ОТ БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ БАЦИЛЛ

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболensk,
Российская Федерация

Целью работы было сравнение микроорганизмов, принадлежащих к шести различным видам рода *Bacillus*, по распределению подвижности ампликонов, полученных с использованием праймера, содержащего chi-последовательность *Bacillus subtilis*. В работе были проанализированы 30 штаммов *Bacillus anthracis* и близкородственных бацилл. Культуры выращивали на L-агаре и в L-бульоне при температуре 37 °C. ДНК выделяли из вегетативных культур *B. anthracis* и *Bacillus spp.* с использованием лизоцима и фенольной депротеинизации. Для однопраймерной ПЦР был сконструирован праймер ChiBs – 5'-CTAGGAGCGGG-3'. Однопраймерную амплификацию (30 циклов) проводили при температуре отжига 47 °C. Сравнительный анализ индивидуальных электрофоретических профилей ампликонов, полученных в реакции ПЦР с помощью праймера, содержащего chi-последовательность *B. subtilis*, позволяет выявлять генетическую внутривидовую вариабельность и проводить дифференциацию штаммов *B. anthracis* от атипичных штаммов и близкородственных видов бацилл.

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, дифференциация, ПЦР, chi-последовательность.

N.A.Shishkova, A.N.Mokrievich, V.M.Pavlov, L.I.Marinin, G.M.Vakhrameeva, T.Yu.Kudryavtseva, I.A.Dyatlov

Usage of chi-Sequence for Differentiation between the Strains of Anthrax Etiological Agent and Closely Related Bacilli

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

Objective of the study was to carry out comparison between the microorganisms appurtenant to six different species of *Bacilli* genus as regards mobility of the amplicons obtained using the primer that contained chi-sequence of *Bacillus subtilis*. Therewith, analyzed were 30 *Bacillus anthracis* strains and closely related bacilli. Cultures grew on L-agar and L-broth at 37 °C. DNA was isolated from vegetative *B. anthracis* and *Bacillus spp.* cultures introducing lysozyme and phenol de-proteinizing. In order to perform single-primer PCR constructed was ChiBs primer – 5'-CTAGGAGCGGG-3'. Single-primer amplification (30 cycles) was carried out at annealing temperature of 47 °C. Comparative analysis of individual electrophoretic amplicon profiles, obtained by means of ChiBs-primer PCR, allows for identification of genetic intraspecific variability and differentiation of *B. anthracis* strains from the atypical ones and closely related species of bacilli.

Key words: *Bacillus anthracis*, differentiation, PCR, chi-sequence.

Ежегодно в результате природных катаклизмов, расширения территорий строительства и сельскохозяйственного землепользования происходят случаи обнаружения и вскрытия скотомогильников, где сибиреязвенные микробы сохраняются десятилетиями. На территории Российской Федерации постоянно регистрируют единичные и реже – групповые случаи сибирской язвы у людей и животных, в том числе со смертельными исходами, в связи с чем возникает проблема своевременного выявления и идентификации выделенных из различных источников сибиреязвенных штаммов и тщательная дифференциация их от близкородственных видов.

Возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis* и другие члены группы *Bacillus cereus* филогенетически и таксономически очень тесно связаны, и некоторые авторы предполагают, что они принадлежат к одному виду [9]. По данным гибридизации, уровень гомологии хромосомных ДНК отдельных штаммов *B. anthracis* и *B. cereus* достигает 99 % [14], однако один микроорганизм вызывает летальную инфекцию, а другой является почвенным сапрофитом.

Для индикации *B. anthracis* используется ПЦР с

праймерами, комплементарными к генам сибиреязвенного токсина: *pag*, *lef* и *суа* плазмиды рХО1, гену *сар* плазмиды рХО2 и гену *Ba813* из хромосомы [13]. Однако данные праймеры выявляют и некоторые штаммы *B. cereus*. По мнению Roloff и соавт. [14], не всегда представляется возможным идентифицировать некоторые сибиреязвенные штаммы, в особенности те, которые утратили плазмиды вирулентности, с помощью молекулярных методов. В частности показано, что ДНК некоторых изолятов *B. cereus* содержит фрагменты, сходные более чем с половиной последовательностей открытых рамок считывания плазмиды рХО1 *B. anthracis*, причем основная часть ДНК-фрагментов *B. cereus* имела сходство от 80 до 98 % [9]. *B. anthracis* представляет собой вид бацилл с исключительно мономорфным геномом. Только в середине 90-х гг. американским исследователям [5] удалось обнаружить в геноме *B. anthracis* открытую рамку считывания *vtgA*, которая содержала повторяющиеся короткие нуклеотидные последовательности. Однако из-за высокой степени гомологии ДНК представителей группы *B. cereus*, указанный ген не позволяет отличить возбудителя сибирской язвы от

близкородственных видов [12].

Другими авторами в 2001 г. предложена схема типирования возбудителя сибирской язвы по 17 локусам мультилокусного анализа вариабельности нуклеотидных tandemных повторов MLVA [11]. Применение этого метода также, как и генотипирование по P.Keim *et al.* [10], позволяет проводить сравнительное изучение сибиреязвенных штаммов различного географического происхождения. В настоящее время для типирования штаммов *B. anthracis* широко используется MLVA по 25 локусам и SNP-анализ [4]. Наиболее полное внутривидовое типирование может быть осуществлено в результате анализа нуклеотидных последовательностей геномов изучаемых штаммов бацилл.

Одним из вариантов диагностических ПЦР является амплификация участков генома со «случайными» повторами в условиях нестрогого связывания коротких праймеров (RAPD-ПЦР). Данный метод широко используется для демонстрации генетического разнообразия и дистанции между родственными штаммами микроорганизмов ввиду его доступности и относительной дешевизны [15]. В геномах различных видов бактерий были обнаружены *chi*-сайты – короткие нуклеотидные последовательности, узнаваемые специфической нуклеазой, которые являются «горячими» точками гомологичной рекомбинации [6, 7, 8, 16, 17].

В настоящей работе для дифференциации штаммов возбудителя сибирской язвы от атипичных и близкородственных видов бацилл был использован метод однопраймерной ПЦР с праймером, содержащим *chi*-последовательность *B. subtilis*. Полученные этим методом данные были сравнены с результатами анализа *vtgA* локуса, гена *pag* и культурально-морфологических и биологических свойств.

Материалы и методы

Работа проведена на 30 штаммах из Государственной коллекции ФБУН ГНЦ ПМБ «ГКПМ-Оболensk». Культуры выращивали на плотной и жидкой питательных средах [2] при температуре 37 °С в течение 18 ч. Пробоподготовку, выделение ДНК из *B. anthracis* и *Bacillus spp.* проводили в соответствии с методическими указаниями «Обеззараживание исследуемого материала, инфицированного бактериями I–IV групп при работе методом ПЦР» [3].

Праймер, содержащий *chi*-последовательность *B. subtilis* из пяти нуклеотидов [8], фланкированную с обеих сторон пятью и одним нуклеотидом соответственно ChiBs – 5'-CTAGG-AGCGG-G-3', был синтезирован в ЗАО «Синтол». Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала 10х буфер для ДНК-полимеразы фирмы «Fermentas», Литва (75 мМ трис-HCl, pH 8,8, 20 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01 % Tween 20), 2,5 мМ MgCl₂, 0,4 пкМ праймера, 0,2 мкМ каждого дНТФ, 1 ед Taq ДНК-полимеразы фирмы «Fermentas», Литва и 50–

100 нг ДНК. Перед постановкой реакции матрицу прогревали при температуре 95 °С в течение 10 мин. Условия проведения ПЦР-амплификации: начальная денатурация 94 °С (3 мин); 30 циклов, состоящих из денатурации при 94 °С (30 с), отжига при 47 °С (30 с) и элонгации при 72 °С (1 мин); завершающая элонгация при 72 °С (5 мин). Амплификацию проводили на термоциклере «Applied biosystem 2700», США. Ампликоны разделяли электрофорезом в 1,8 % агарозном геле в буфере TEA [1], ДНК в геле окрашивали бромистым этидием. Фотодокументирование проводили с помощью системы для гель-документирования Vilber-Lourmat (Франция), при ультрафиолетовом освещении с использованием трансиллюминатора фирмы «Cole Parmer», США. Для определения размеров ампликонов применяли маркер молекулярных весов GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder, «Fermentas», Литва.

Результаты и обсуждение

Профиль ампликонов, полученных с помощью ChiBs праймера, 21 штамма разных видов *B. anthracis* и 9 штаммов других видов бацилл показаны на рис. 1 и 2.

Ампликоны, полученные с помощью праймера ChiBs, для большей части штаммов *B. anthracis* имели размеры ~270 и ~1500 п.о. У штаммов *B. anthracis* 492/497 и *B. anthracis* 71/171 выявляются два мажорных ампликона размерами 350 и 700 п.о., а у штамма *B. anthracis* 747/8 – только один ампликон размером 350 п.о. Анализ штаммов, принадлежащих к другим видам рода *Bacillus*, показывает, что ChiBs праймер инициирует синтез набора фрагментов ДНК, различающихся по молекулярной массе и интенсивности для каждого вида бацилл, внутри видов также наблюдается полиморфизм (рис. 2).

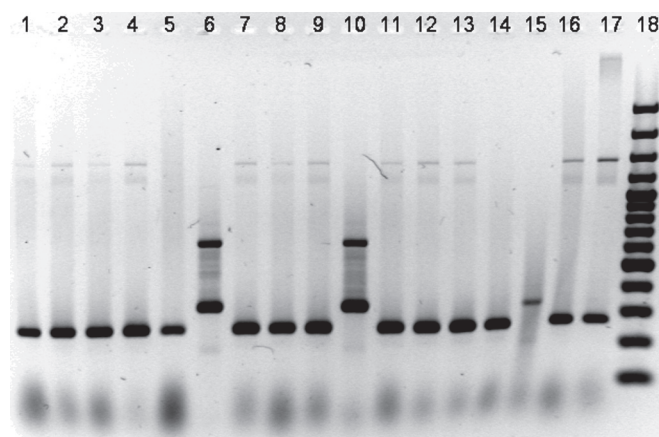


Рис. 1. Электрофореграмма ампликонов, полученных с праймером ChiBs и ДНК:

1 – *B. anthracis* 914/213, 2 – *B. anthracis* 1259, 3 – *B. anthracis* 1168/6-102, 4 – *B. anthracis* 1184, 5 – *B. anthracis* 1030/213, 6 – *B. anthracis* 492/497, 7 – *B. anthracis* 50/31, 8 – *B. anthracis* 28/83, 9 – *B. anthracis* 275/107-Д, 10 – *B. anthracis* 71/171, 11 – *B. anthracis* 363/17, 12 – *B. anthracis* 427/618, 13 – *B. anthracis* 546/714, 14 – *B. anthracis* 555/288, 15 – *B. anthracis* 747/8, 16 – *B. anthracis* 560/258, 17 – *B. anthracis* 71/12 (контроль), 18 – GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder

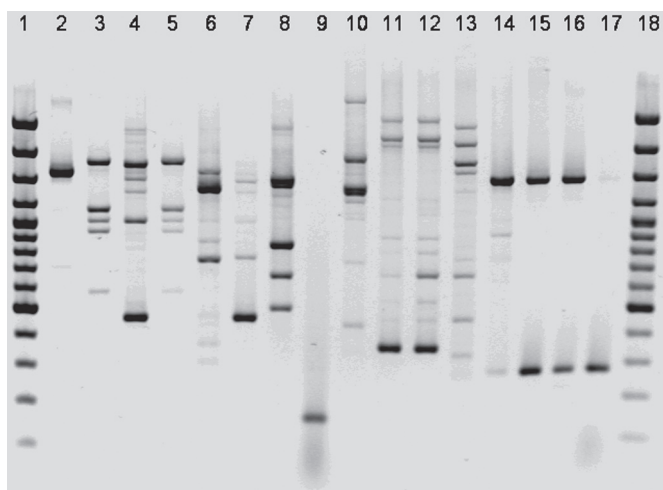


Рис. 2. Электрофореграмма ампликонов, полученных с праймером *ChiBs* и ДНК атипичных и близкородственных штаммов бацилл:

1, 18 – GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder, 2 – *B. cereus* BKM B-504, 310, 3 – *B. cereus* ATCC 9634, 4 – *B. cereus* ATCC 10702, 5 – *B. cereus* ATCC 1070, 6 – *B. brevis* 1409, 7 – *B. subtilis* 168, 8 – *B. subtilis* var. Niger, 9 – *B. thuringiensis* 1373, 10 – *B. megaterium* 1433, 11 – *B. anthracis* 10 (38 «Калуга»), 12 – *B. anthracis* 32 (603), 13 – *B. anthracis* 193 Куба II, 14 – *B. anthracis* Dakkar, 15 – *B. anthracis* 71/12, 16 – *B. anthracis* СТИ-1, 17 – *B. anthracis* СТИ Rif4 (дорожки 15–17 – типичные штаммы *B. anthracis*)

Как следует из данных, представленных на рис. 2, все штаммы близкородственных видов бацилл образуют в реакции ПЦР с помощью праймера *ChiBs* ампликоны, отличные от сибиреязвенного штамма *B. anthracis* 71/12 (Cap+, Tox+). Штаммы, отнесенные к сибиреязвенным – *B. anthracis* 10 (38 «Калуга»), *B. anthracis* 32 (603), *B. anthracis* 193 Куба II, образуют не характерные для сибиреязвенных ДНК ампликоны. У штамма *B. anthracis* 10 (38 «Калуга») и 32 (603) выявляются три ампликона размерами 350, 700 и > 1500 п.о., штамм *B. anthracis* 193 Куба II дает ампликоны размерами 320, 480, 700 и > 1500 п.о., штамм *B. anthracis* Dakkar – 270, 750, 900 и > 1500 п.о. Штамм Dakkar образует ампликоны, сходные с таковыми сибиреязвенного штамма 71/12, но отличающиеся по интенсивности полос.

Таким образом, сравнительный анализ индивидуальных электрофоретических профилей ампликонов, полученных в реакции ПЦР с помощью *ChiBs* праймера, выявил наличие генетической вариабельности среди исследуемых штаммов бацилл. Семь штаммов – *B. anthracis* 492/497, *B. anthracis* 71/171,

B. anthracis 747/8, *B. anthracis* 193 Куба II, *B. anthracis* Dakkar, *B. anthracis* 32 (603), *B. anthracis* 10 (38 «Калуга») имеют особенности нуклеотидной последовательности хромосомы, отличающие их от общего генотипа других исследованных в работе сибиреязвенных штаммов.

Поскольку нами выявлены генетические различия в ПЦР с праймером *ChiBs* у ряда штаммов *B. anthracis*, мы провели оценку действия специфических сибиреязвенных бактериофагов на эти культуры, а также определили ряд характеристик этих штаммов: характер роста в жидкой и на плотной питательных средах и вирулентность культур. Результаты представлены в таблице.

Для более подробного изучения атипичных штаммов *B. anthracis* поставили ПЦР с праймерами на наличие аллели *vrgA* и проверили их в ПЦР с праймерами к протективному антигену (результаты не представлены). Оказалось, что штаммы, отличающиеся в ПЦР с праймером *ChiBs*, также дают на электрофореграмме картину распределения ампликонов, полученных с праймерами, специфичными для *vrgA*, не характерную для сибиреязвенного микроба. У этих штаммов не выявляется также нуклеотидная последовательность гена протективного антигена. На основании проведенного анализа можно сказать, что семь штаммов – *B. anthracis* 492/497, *B. anthracis* 71/171, *B. anthracis* 747/8, *B. anthracis* 193 Куба II, *B. anthracis* Dakkar, *B. anthracis* 32 (603) и *B. anthracis* (38 «Калуга»), ранее отнесенные к *B. anthracis*, являются атипичными сибиреязвенными или могут быть отнесены к близкородственным видам бацилл.

Таким образом, проведенные исследования позволяют сделать заключение о том, что сравнительный анализ индивидуальных электрофоретических профилей ампликонов, полученных в реакции ПЦР с помощью праймера, содержащего *chi*-последовательность *B. subtilis*, позволяет выявлять генетическую внутривидовую вариабельность и проводить дифференциацию штаммов *B. anthracis* от атипичных штаммов и близкородственных видов бацилл.

Работа выполнена по государственному контракту № 33-Д от 08.08.13 г. в рамках реализации федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 годы)».

Биологические свойства атипичных штаммов *B. anthracis*

Штамм	Источник выделения	Бактериофаг			Наличие капсулы	Характер роста в жидкой и на плотной питательных средах	Вирулентность для мышей, LD ₅₀ спор
		Оболенск R6	Fah-VНИИВВиМ	Гамма-A26			
<i>B. anthracis</i> 492/497	Шкура КРС	-	-	-	-	Не типичный	> 10 ⁷
<i>B. anthracis</i> 71/171	Почва с места забоя	-	-	-	-	Не типичный	250
<i>B. anthracis</i> 747/8	Почва	-	-	-	-	Не типичный	2·10 ⁹
<i>B. anthracis</i> Dakkar	-	-	-	-	-	Не типичный	1·10 ⁷
<i>B. anthracis</i> 32 (603)	Вынужденно забитая корова	-	-	-	-	Не типичный	1·10 ⁸
<i>B. anthracis</i> 193 Куба II	Почва	-	-	-	-	Не типичный	> 10 ⁸
<i>B. anthracis</i> 10 (38 «Калуга»)	Труп коровы	-	-	-	-	Не типичный	> 10 ⁸
<i>B. anthracis</i> 71/12	2-я вакцина Ценковского	+	+	+	+	Типичный	30

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Молекулярное клонирование. М.: Мир; 1984. 479 с.
2. Маринин Л.И., Дятлов И.А., Мокриевич А.Н., Бахтеева И.В., Белова Е.В., Борзилов А.И., Комбарова Т.И., Кравченко Т.Б., Миронова Р.И., Попова В.М., Сомов А.Н., Титарова Г.М., Тюрин Е.А., Чекан Л.В., Шишкина О.Б., Шишкова Н.А. Методы изучения биологических свойств возбудителя сибирской язвы. Оболensk; 2009. 304 с.
3. Обеззараживание исследуемого материала, инфицированного бактериями I-IV групп при работе методом ПЦР. МУ 3.5.5.1034.01. М.: МЗ РФ; 2001. 8 с.
4. Рязанова А.Г., Еременко Е.И., Цыганкова О.И., Цыганкова Е.А., Куличенко А.Н. Использование методов молекулярного типирования *Bacillus anthracis* в референс-центре по мониторингу за возбудителем сибирской язвы. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 110(4):68–70.
5. Andersen G.L., Simchock J.M., Wilson K.H. Identification of a region of genetic variability among *Bacillus anthracis* strains and related species. *J. Bacteriol.* 1996; 178(1):377–84.
6. Biswas I., Maguin E., Ehrlich S.D., Gruss A.A. 7-base-pair sequence protects DNA from exonucleolytic degradation in *Lactococcus lactis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; 92:2244–8.
7. Chédin F., Kowalczykowski S.C. A novel family of regulated helicases/nucleases from Gram-positive bacteria: insights into the initiation of DNA recombination. *Mol. Microbiol.* 2002; 43:823–34.
8. Chédin F., Noirot P., Biaudef V., Ehrlich S.D. A five-nucleotide sequence protects DNA from exonucleolytic degradation by AddAB, the RecBCD analogue of *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 1998; 29:1369–77.
9. Helgason E., Okstad O.A., Caugant D.A., Johansen H.A., Fouet A., Mock M., Hegna I., Kolsto A.B. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* – one species on the basis of genetic evidence. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000; 66:2627–30.
10. Keim P., Price L.B., Klevytska A.M., Smith K.L., Schupp J.M., Okinaka R., Jackson P.J., Hugh-Jones M.E. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.* 2000; 182:2928–36.
11. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramisse F., Vergnaud G. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiol.* 2001; 1(2):2180–93.
12. Patra G., Vaissaire J., Weber-Levy M., Le Doujet C., Mock M. Molecular characterization of *Bacillus* strains involved in outbreaks of anthrax in France in 1997. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36:3412–14.
13. Ramisse V., Patra G., Garrigue H., Guesdon J.-L., Mock M. Identification and characterization of *Bacillus anthracis* by multiplex PCR analysis of sequences on plasmids pXO1 and pXO2 and chromosomal DNA. *FEMS Microbiol. Lett.* 1996; 145:9–16.
14. Roloff H., Glockner P., Mistele K., Böhm R. The taxonomic relationship between *B. anthracis* and *B. cereus* group, investigated by DNA-DNA hybridization and DNA amplification fingerprinting (DAF). Proceedings of the International Workshop on Anthrax. Ed. P. C. B. Turnbull. *Salisbury Medical Bulletin.* 1996; 87, Special Supplement:38–9.
15. Shangkuan Y.H., Chang Y.H., Yang J.F., Lin H.C., Shiao M.F. Molecular characterization of *Bacillus anthracis* using multiplex PCR, ERIC-PCR and RAPD. *Lett. Appl. Microbiol.* 2001; 65(3):139–45.
16. Smith G.R., Roberts C.M., Schultz D.W. Activity of Chi recombinational hot spots in *Salmonella typhimurium*. *Genetics.* 1986; 112:429–39.
17. Sourice S., Biaudef V., El. Karoui M., Ehrlich S.D., Gruss A. Identification of the Chi site of *Haemophilus influenzae* as several sequences related to the *Escherichia coli* Chi site. *Mol. Microbiol.* 1998; 27(5):1021–9.

References

1. Maniatis T., Fritch E., Sambruk G. [Molecular Cloning]. M.: Mir; 1984. 479 p.
2. Marinin L.I., Dyatlov I.A., Mokrievich A.N., Bakhteeva I.V., Belova E.V., Borzilov A.I., Kombarova T.I., Kravchenko T.B., Mironova R.I., Popova V.M., Somov A.N., Titareva G.M., Tyurin E.A., Chekan L.V., Shishkina O.B., Shishkova N.A. [Methods of Studies of Anthrax Agent Biological Properties]. Obolensk; 2009. 304 p.
3. [Decontamination of the test material infected with microorganisms of I-IV groups of pathogenicity when performing PCR. Methodological recommendations]. MR 3.5.5.1034.01. M.: RF Ministry of Health; 2001. 8 p.
4. Ryzanova A.G., Eremenko E.I., Tsygankova O.I., Tsygankova E.A., Kulichenko A.N. [Application of *Bacillus anthracis* molecular typing methods by the reference center for the anthrax agent monitoring]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 110(4):68–70.
5. Andersen G.L., Simchock J.M., Wilson K.H. Identification of a region of genetic variability among *Bacillus anthracis* strains and related species. *J. Bacteriol.* 1996; 178(1):377–84.
6. Biswas I., Maguin E., Ehrlich S.D., Gruss A.A. 7-base-pair sequence protects DNA from exonucleolytic degradation in *Lactococcus lactis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1995; 92:2244–8.
7. Chédin F., Kowalczykowski S.C. A novel family of regulated helicases/nucleases from Gram-positive bacteria: insights into the initiation of DNA recombination. *Mol. Microbiol.* 2002; 43:823–34.
8. Chédin F., Noirot P., Biaudef V., Ehrlich S.D. A five-nucleotide sequence protects DNA from exonucleolytic degradation by the RecBCD analogue of *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 1998; 29:1369–77.
9. Helgason E., Okstad O.A., Caugant D.A., Johansen H.A., Fouet A., Mock M., Hegna I., Kolsto A.B. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* – one species on the basis of genetic evidence. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000; 66:2627–30.
10. Keim P., Price L.B., Klevytska A.M., Smith K.L., Schupp J.M., Okinaka R., Jackson P.J., Hugh-Jones M.E. Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis reveals genetic relationships within *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.* 2000; 182:2928–36.
11. Le Flèche P., Hauck Y., Onteniente L., Prieur A., Denoeud F., Ramisse V., Sylvestre P., Benson G., Ramisse F., Vergnaud G. A tandem repeats database for bacterial genomes: application to the genotyping of *Yersinia pestis* and *Bacillus anthracis*. *BMC Microbiol.* 2001; 1(2):2180–93.
12. Patra G., Vaissaire J., Weber-Levy M., Le Doujet C., Mock M. Molecular characterization of *Bacillus* strains involved in outbreaks of anthrax in France in 1997. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36:3412–14.
13. Ramisse V., Patra G., Garrigue H., Guesdon J.-L., Mock M. Identification and characterization of *Bacillus anthracis* by multiplex PCR analysis of sequences on plasmids pXO1 and pXO2 and chromosomal DNA. *FEMS Microbiol. Lett.* 1996; 145:9–16.
14. Roloff H., Glockner P., Mistele K., Böhm R. The taxonomic relationship between *B. anthracis* and *B. cereus* group, investigated by DNA-DNA hybridization and DNA amplification fingerprinting (DAF). Proceedings of the International Workshop on Anthrax. Ed. P. C. B. Turnbull. *Salisbury Medical Bulletin.* 1996; 87, Special Supplement:38–9.
15. Shangkuan Y.H., Chang Y.H., Yang J.F., Lin H.C., Shiao M.F. Molecular characterization of *Bacillus anthracis* using multiplex PCR, ERIC-PCR and RAPD. *Lett. Appl. Microbiol.* 2001; 65(3):139–45.
16. Smith G.R., Roberts C.M., Schultz D.W. Activity of Chi recombinational hot spots in *Salmonella typhimurium*. *Genetics.* 1986; 112:429–39.
17. Sourice S., Biaudef V., El. Karoui M., Ehrlich S.D., Gruss A. Identification of the Chi site of *Haemophilus influenzae* as several sequences related to the *Escherichia coli* Chi site. *Mol. Microbiol.* 1998; 27(5):1021–9.

Authors:

Shishkova N.A., Mokrievich A.N., Pavlov V.M., Marinin L.I., Vakhrameeva G.M., Kudryavtseva T.Yu., Dyatlov I.A. State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obolensk.org

Об авторах:

Шишкова Н.А., Мокриевич А.Н., Павлов В.М., Маринин Л.И., Вахрамеева Г.М., Кудрявцева Т.Ю., Дятлов И.А. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., п. Оболensk. E-mail: info@obolensk.org

Поступила 30.01.14.

С.В.Генералов, Е.Г.Абрамова, Ж.В.Матвеева, И.М.Жулидов, Л.В.Савицкая, О.А.Лобовикова

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ МАСШТАБИРОВАННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ФИКСИРОВАННОГО ВИРУСА БЕШЕНСТВА ШТАММА «МОСКВА 3253» В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК VERO

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

Изучены параметры роллерного культивирования производственного штамма фиксированного вируса бешенства «Москва 3253» в клеточной культуре Vero. Культивирование целесообразно осуществлять при температуре 32 °С, в течение 4–5 сут при начальной дозе заражения 0,1 LD₅₀/кл. с использованием поддерживающей среды 199 с добавлением 0,1 % человеческого сывороточного альбумина либо 2 % сыворотки крупного рогатого скота. Оптимальный объем среды в роллерной бутылки при культивировании вируса бешенства штамма «Москва 3253» составляет от 200 до 400 мл и зависит от площади ростовой поверхности. Подобные условия обеспечивают получение культуральной жидкости с титром вируса бешенства в иммуноферментном анализе от 1:256 до 1:512. Культуральный вирус рекомендован в качестве основы для приготовления иммунизирующего материала с целью получения антирабического иммуноглобулина из сыворотки крови лошади.

Ключевые слова: бешенство, культура клеток, роллерное выращивание, антирабический иммуноглобулин.

S.V.Generalov, E.G.Abramova, Zh.V.Matveeva, I.M.Zhulidov, L.V.Savitskaya, O.A.Lobovikova

Optimization of Specifications for Scaled-Up Fixed Rabies Virus Cultivation (“Moscow 3253” Strain) in Vero Cell Culture

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

Studied are the parameters for roll-bottle cultivation of the production fixed rabies virus strain, “Moscow 3253”, in the Vero cell culture. Established is the fact that it is advisable to perform cultivation at 32 °C within 4–5 days, the initial infective dose being 0.1 LD₅₀/cell, using maintenance media 199 with admixture of 0.1 % human serum albumin or 2 % bovine serum. Optimum media volume in the roll-bottle for fixed rabies virus strain, “Moscow 3253”, cultivation is 200–400 ml. It depends upon the proliferating surface area. Specifications stated above provide for the obtainment of culture liquid with rabies virus titer – 1:256 – 1:512, if assayed in ELISA. This cultural virus is recommended as a basis for immunization material obtainment with a view to produce anti-rabies immunoglobulin from equine blood serum.

Key words: rabies, cell culture, roll-bottle cultivation, anti-rabies immunoglobulin.

Бешенство – особо опасное острое инфекционное заболевание человека, теплокровных диких и домашних животных, которое вследствие абсолютной летальности представляет серьезную проблему современного здравоохранения [10]. Клинические проявления бешенства после контакта с подозрительным животным возможно предупредить только при своевременной иммунизации антирабической вакциной. При тяжелых укусах пострадавшему наряду с вакциной показано введение специфического иммуноглобулина [5]. В последнем случае предпочтение отдается иммуноглобулину из сыворотки крови человека, однако данный препарат является достаточно дорогим и дефицитным. Поэтому в России для постэкспозиционной профилактики бешенства широко используют антирабический иммуноглобулин (АИГ), получаемый из лошадиной сыворотки. Единственным производителем АИГ на территории Российской Федерации является ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора. В процессе производства для иммунизации продуцентов используют антиген, полученный на основе фиксированного вируса бешенства, репродуцированного в мозговой ткани кроликов. В настоящее время, в соответствии с рекомендациями ВОЗ по исключению органо-тканевого антигена, актуальны исследования,

направленные на использование культурального рабического антигена [1, 2, 3]. Ранее нами была показана эффективность применения производственного штамма вируса бешенства «Москва 3253», репродуцированного в биореакторе на клеточной культуре Vero, для получения экспериментальных образцов кроличьего и лошадиного антирабического иммуноглобулина [1, 2]. В условиях производства АИГ возникает необходимость сочетания возможности максимального накопления вируса бешенства на клеточной культуре и эффективности технологического обслуживания процесса культивирования. На наш взгляд, оптимальным решением данной задачи является использование роллерного способа культивирования [6], при котором клеточный монослой располагается по всей внутренней цилиндрической поверхности горизонтально вращающихся сосудов (роллерных бутылей) и периодически омывается питательной средой. Роллерный способ находит применение в производстве различных вакцин [4, 10], в том числе антирабических [7, 8].

Целью данного исследования явилось экспериментальное обоснование условий масштабированного культивирования клеток Vero и фиксированного вируса бешенства роллерным способом для приготовления рабического антигена.

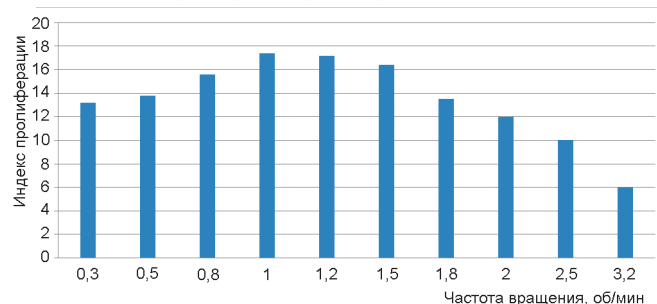
Материалы и методы

В работе использовали перевиваемую клеточную линию Vero, предварительно проверенную на отсутствие микоплазм [6], производственный штамм фиксированного вируса бешенства «Москва 3253», адаптированный к перевиваемой линии клеток Vero. Выращивание клеточной культуры осуществляли в CO_2 -инкубаторе (Sanyo) при 37°C в атмосфере 5 % CO_2 в культуральных флаконах с площадью поверхности 25, 75 и 150 см^2 . Роллерное культивирование проводили в закрытых сосудах для культивирования клеточных культур с площадью поверхности 850 и 1700 см^2 с применением инкубатора Incudrive D-I (Германия). Для выращивания клеток Vero использовали среду Игла MEM с добавлением 10 % сыворотки крупного рогатого скота. Репродукцию вируса осуществляли на поддерживающей среде 199 с добавлением человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) или сыворотки КРС. Для промывания клеточного монослоя от остатков среды и продуктов обмена использовали раствор Дальбекко (DPBS). Для открепления клеток с ростовой поверхности применяли раствор трипсина и версена в соотношении 1:2. Подсчет количества жизнеспособных клеток осуществляли в камере Горяева. При работе учитывали сроки образования монослоя, морфологию клеток и индекс пролиферации (ИП) – отношение конечной концентрации клеток к исходной.

Эффективность репродукции исследуемого штамма вируса бешенства оценивали титрованием вируса на белых мышах [9], а также методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора для лабораторной диагностики вируса бешенства (ФГУ «ФЦТРБ ВНИВИ», Казань). Постановку ИФА осуществляли в соответствии с инструкцией к набору. Учет ИФА проводили на спектрофотометре «Imark Biorad» при длине волны 490 нм .

Результаты и обсуждение

Задачей первого этапа исследования явился поиск оптимальных параметров культивирования клеточной культуры Vero роллерным способом. При роллерном выращивании почти вся внутренняя поверхность роллерных сосудов доступна для роста клеток, при этом в каждый момент времени со средой соприкасается только часть поверхности монослоя. Таким образом, уро-



Зависимость индекса пролиферации клеток Vero от частоты вращения роллерных сосудов. Культивирование клеток проводили в течение 96 ч. Начальная посевная концентрация $(0,2 \pm 0,05) \cdot 10^5$ кл./мл

жай биомассы зависит от частоты вращения роллерных бутылей, а также от соотношения поверхности монослоя к объему питательной среды. Частота вращения роллерных бутылей не должна быть слишком низкой, поскольку длительное нахождение клеток в газовой фазе ухудшает условия их питания. Слишком быстрое вращение может препятствовать прикреплению клеток к стенкам роллерной бутылки. В результате экспериментального выращивания показано (рисунок), что культивирование клеток Vero при частоте вращения менее 1,0 об./мин приводило к гибели клеток на 2-е и 3-и сутки; при частоте вращения более 1,5 об./мин имело место замедленное приращение клеток к поверхности бутылки, что оказывало негативное влияние на рост их популяции. На наш взгляд, оптимальным режимом является установка частоты вращения на уровне 0,3–0,5 об./мин в первые 24 ч выращивания для прикрепления клеток к стенкам сосуда, затем частоту вращения следует увеличить до 1,0–1,5 об./мин для обеспечения оптимального режима питания и газообмена клеточной биомассы. При культивировании на роллерных бутылях с площадью поверхности 850 см^2 достаточно 200 мл ростовой среды. Соответственно, при использовании роллерных бутылей с площадью поверхности 1700 см^2 необходимо 400 мл ростовой среды.

На следующем этапе осуществляли подбор условий культивирования производственного штамма вируса бешенства «Москва 3253» роллерным способом. В первой серии опытов оценивали влияние температуры культивирования и способа заражения клеточной культуры вирусом бешенства. Заражение клеток вирусом осуществляли как на клеточный монослой, сформированный на стенках роллерного сосуда, так и в клеточную суспензию в дозе 0,1 LD_{50} /кл. Культивирование вируса проводили в течение 96 ч при 32 и 37°C . Результаты эксперимента представлены в табл. 1.

Данные табл. 1 свидетельствуют, что наибольший выход вируса имеет место при заражении суспензии клеточной культуры и культивировании вируса при 32°C . Следует отметить, что при культивировании вируса при 37°C существует тенденция к уменьшению выхода целевого продукта, что, возможно, связано с частичной температурной инактивацией вируса.

Защиту от температурной инактивации обеспечивают добавки поддерживающей среды: человеческий сывороточный альбумин или сыворотка крупного рогатого скота [9]. В предыдущих экспериментах для культивирования вируса использовали поддерживающую среду 199 с содержанием ЧСА 0,1 %. Следует отметить, что человеческий сывороточный альбумин является достаточно дорогостоящим компонентом, поэтому в следующей серии экспериментов оценивали эффективность применения сыворотки КРС в различных концентрациях. При добавлении 1 % сыворотки КРС к среде 199 наблюдали накопление вируса бешенства в титре ИФА 1:64. Использование концентраций сыворотки КРС от 2 до 5 % приводило к увеличению титра до 1:256. Аналогичный результат был получен при контрольном выращивании с использованием среды с 0,1 % ЧСА. Таким образом,

Таблица 1

Влияние способа заражения и температуры культивирования на уровень накопления вируса бешенства

Способ заражения	Температура культивирования, °C	Титр вируса в ИФА	Инфекционная активность, LD ₅₀ /кл.
Монослой	32	1:64	3,1±0,5
Монослой	37	1:64	2,9±0,3
Суспензия	32	1:256	4,6±0,3
Суспензия	37	1:128÷1:256	4,1±0,3

экспериментальные данные обосновывают возможность замены ЧСА на сыворотку КРС в концентрации не менее 2 %.

В следующей серии опытов проводили изучение накопления вируса в культуре клеток Vero в зависимости от заражающей дозы и длительности культивирования. Заражение осуществляли в суспензию клеток в дозе 0,01; 0,1; 1,0 LD₅₀/кл. Культивирование проводили при 32 °C с использованием питательной среды 199 с 2 % содержанием сыворотки КРС в течение 7 сут. Анализ выхода вирусной биомассы осуществляли с 3-х суток культивирования. Результаты представлены в табл. 2.

Использование заражающей дозы 0,01 LD₅₀/кл приводит к увеличению времени накопления вируса бешенства на 1–2 сут, чем при использовании доз от 0,1 до 1,0 LD₅₀/кл. При этом заражение клеток вирусом в дозе 0,1 LD₅₀/кл является оптимальным, поскольку увеличение дозы заражения до 1,0 LD₅₀/кл не способствовало заметному увеличению активности вируса в ИФА. Оптимальный срок инкубации вируса бешенства составил 4–5 сут при заражающей дозе от 0,1 до 1,0 LD₅₀/кл. Увеличение срока инкубации в некоторых случаях способствовало снижению уровня накопления вируса бешенства, что можно объяснить частичной термической инактивацией.

Учитывая результаты проведенных исследований, следует заключить, что роллерное культивирование штамма фиксированного вируса бешенства «Москва 3253» в культуре клеток Vero следует осуществлять при температуре 32 °C в течение 4–5 сут при начальной дозе заражения 0,1 LD₅₀/кл с использованием поддерживающей среды 199 с добавлением 0,1 % ЧСА либо 2 % сыворотки КРС. Полученная в результате культивирования биомасса может быть использована в качестве основы для приготовления иммунизирующего материала с целью получения антирабического иммуноглобулина из сыворотки крови лошади.

Работа выполнена по Государственному контракту № 36-Д от 08.08.2013 г. в рамках реализации федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 гг.)».

Таблица 2

Влияние дозы заражения и времени культивирования на уровень накопления вируса бешенства

Доза заражения	Титр вируса в ИФА в зависимости от срока культивирования, сут				
	3	4	5	6	7
0,01	1:32	1:32÷1:64	1:64	1:128	1:256
0,1	1:64	1:128	1:256÷1:512	1:128÷1:256	1:128÷1:256
1,0	1:64	1:128	1:256÷1:512	1:256	1:256

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М., Лобовикова О.А., Савицкая Л.В., Минаева Л.Н., Галкина М.В., Михеева Т.А., Комиссаров А.В., Киреев М.Н., Никифоров А.К. Получение кроличьего антирабического иммуноглобулина с применением культурального антигена. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 2(112):78–81.
2. Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М., Лобовикова О.А., Свинцов Р.А., Комиссаров А.В., Киреев М.Н., Никифоров А.К. Культуральный антиген в технологии получения антирабического иммуноглобулина из сыворотки крови лошади. *Пробл. особо опасных инф.* 2012; 4(114):65–8.
3. Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Никифоров А.К., Матвеева Ж.В. Клеточные культуры в производстве гетерологичного антирабического иммуноглобулина. *Пробл. особо опасных инф.* 2010; 4(110):76–9.
4. Исаева Е.И., Мазуркова Н.А., Скарнович М.О., Трошкова Г.П., Шишкина Л.Н., Подчерняева Р.Я. Оптимизация роллерного культивирования вакцинных штаммов вирусов гриппа А и В в культурах клеток MDCK и Vero при использовании компонентов растительного происхождения. *Биотехнология.* 2010; 6:55–62.
5. Селимов М.А. Бешенство. М.: Медицина; 1978. 336 с.
6. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток: практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2010. 691 с.
7. Hurisa B., Mengesha A., Newayesilassie B., Kerga S., Kebede G., Bankovisky D., Metlin A., Urga K. Production of Cell Culture Based Anti-rabies Vaccine in Ethiopia. *Procedia in Vaccinology.* 2013; 7:2–7.
8. Jagannathan S., Chaansha S., Rajeeesh, Santhiya T., Charles C., Venkataramana K. Standardization and assessment of cell culture media quantities in roller polyethylene terephthalate bottles employed in the industrial rabies viral vaccine production. *Pak. J. Biol. Sci.* 2009; 12:1246–52.
9. Meslin F.-X., Kaplan M.M., Koprowski H., editors. Laboratory techniques in rabies. Geneva: WHO; 1996. 476 p.
10. Silva A., Deldago I., Sousa M., Carrondo M., Alves P. Scalable culture systems using different cell lines for the production of Peste des Petis ruminants vaccine. *Vaccine.* 2008; 26:3305–11.
11. WHO Expert Consultation on Rabies: first report. WHO technical report series 931. Geneva: WHO; 2004.121 p.

References

1. Generalov S.V., Abramova E.G., Matveeva Zh.V., Zhulidov I.M., Lobovikova O.A., Savitskaya L.V., Minaeva L.N., Galkina M.V., Mikhееva T.A., Komissarov A.V., Kireev M.N., Nikiforov A.K. [Production of rabbit anti-rabies immunoglobulin using cultural antigen]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 2(112):78–81.
2. Generalov S.V., Abramova E.G., Matveeva Zh.V., Zhulidov I.M., Lobovikova O.A., Svintsov R.A., Komissarov A.V., Kireev M.N., Nikiforov A.K. [Cultural antigen in the technology for anti-rabies immunoglobulin obtainment from equine blood serum]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2012; 4(114):65–8.
3. Generalov S.V., Abramova E.G., Nikiforov A.K., Matveeva Zh.V. [Cell structures in heterologous anti-rabies immunoglobulin production]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 4(110):76–9.
4. Isaeva E.I., Mazurkova N.A., Skarnovich M.O., Troshkova G.P., Shishkina L.N., Podchernyaeva R.Ya. [Optimization of specifications for roll-bottle cultivation of the vaccine strains (Flu viruses A and B) in MDCK and Vero cell cultures using phytogetic components]. *Biotechnologiya.* 2010; 6:55–62.
5. Selimov M.A. [Rabies]. M.: Meditsina; 1978. 336 p.
6. Freshni R.Ya. [Animal Cell Culture: Practice Guidelines]. M.: BINOM; 2010. 691 p.
7. Hurisa B., Mengesha A., Newayesilassie B., Kerga S., Kebede G., Bankovisky D., Metlin A., Urga K. Production of Cell Culture Based Anti-rabies Vaccine in Ethiopia. *Procedia in Vaccinology.* 2013; 7:2–7.
8. Jagannathan S., Chaansha S., Rajeeesh, Santhiya T., Charles C., Venkataramana K. Standardization and assessment of cell culture media quantities in roller polyethylene terephthalate bottles employed in the industrial rabies viral vaccine production. *Pak. J. Biol. Sci.* 2009; 12:1246–52.
9. Meslin F.-X., Kaplan M.M., Koprowski H., editors. Laboratory techniques in rabies. Geneva: WHO; 1996. 476 p.
10. Silva A., Deldago I., Sousa M., Carrondo M., Alves P. Scalable culture systems using different cell lines for the production of Peste des Petis ruminants vaccine. *Vaccine.* 2008; 26:3305–11.
11. WHO Expert Consultation on Rabies: first report. WHO technical report series 931. Geneva: WHO; 2004.121 p.

Authors:

Generalov S.V., Abramova E.G., Matveeva Zh.V., Zhulidov I.M., Savitskaya L.V., Lobovikova O.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Генералов С.В., Абрамова Е.Г., Матвеева Ж.В., Жулидов И.М., Савицкая Л.В., Лобовикова О.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 11.10.13.

Т.М.Головинская, О.И.Цыганкова, А.Н.Куличенко

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ РЕПРОДУКЦИИ СИБИРЕЯЗВЕННЫХ БАКТЕРИОФАГОВ И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ИХ СВОЙСТВ И ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ

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

Проведена комплексная сравнительная оценка производственных и диагностических свойств сибиреязвенных бактериофагов Гамма А-26, Fah-ВНИИВВиМ, R/D-Ph-6, ВА-9, К ВИЭВ, Саратов, 186. Показано, что все бактериофаги обладают свойствами, необходимыми для производства их в виде препаратов: эффективно размножаются на жидких культурах авирулентного штамма *Bacillus anthracis* СТИ, в достаточной степени сохраняют специфическую активность при хранении при оптимальных температурах в течение двух лет и при кратковременных отклонениях температур от оптимальных значений. В большей степени выражены различия в диагностических свойствах изученных бактериофагов – специфической активности и специфичности. Выявлены группы бактериофагов, оптимальные для идентификации или для фаготипирования штаммов *B. anthracis*.

Ключевые слова: сибиреязвенные бактериофаги, условия репродукции, специфическая активность, специфичность, идентификация *B. anthracis*, фагорезистентность.

T.M.Golovinskaya, O.I.Tsygankova, A.N.Kulichenko

Development of Biotechnology for Anthrax Bacteriophages Reproduction, and Comparative Analysis of Their Properties Stability and Diagnostic Value

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Carried out has been complex comparative analysis of the production and diagnostic properties of such anthrax bacteriophages as Gamma A-26, Fah-RRIVV&M (Russian Research Institute of Veterinary Virology and Microbiology), R/D-Ph-6, BA-9, K RRIEV (Russian Research Institute of Experimental Veterinary), Saratov, and 186. It is revealed that all of the bacteriophages have the properties necessary for using them for preparation manufacturing purposes: they readily proliferate in liquid cultures of avirulent *Bacillus anthracis* strain – STI, and retain sufficient specific activity if stored at the optimum temperatures or, when exposed to short-term temperature excursions, within a period of two years. Most clearly expressed are the differences in diagnostic properties of the bacteriophages – specific activity and specificity. Put forward are the groups of bacteriophages that are the most relevant for identification or phage-typing of *B. anthracis* strains.

Key words: anthrax bacteriophages, reproduction terms and conditions, specific activity, specificity, *B. anthracis* identification, phage-resistance.

Лизабельность сибиреязвенными бактериофагами является одним из опорных тестов, позволяющих идентифицировать штаммы *Bacillus anthracis* [2].

Известные сибиреязвенные бактериофаги, выпускаемые в Российской Федерации, различаются по широте спектра лизируемых ими штаммов возбудителя сибирской язвы, а также по специфичности их действия [1, 4]. Некоторую противоречивость отдельных авторов по этому вопросу можно объяснять использованием ими различных вариантов бактериофагов, отличающихся концентрацией фаговых частиц, недостаточной представительностью использованных выборок культур *B. anthracis* и близкородственных сапрофитов, а также различиями в оценке результатов теста на фагочувствительность.

Целью исследования было определение оптимальных условий репродукции специфических сибиреязвенных бактериофагов Fah-ВНИИВВиМ, R/D-Ph-6, Гамма А-26, К ВИЭВ, ВА-9, Саратов и 186; изучение стабильности сохранения специфической активности при длительном хранении в регламентированных температурных условиях и при кратковременном воздействии повышенных температур; сравнение специфической активности и специфичности бактериофагов, оценка их диагностической ценности.

Материалы и методы

В опытах применялись коммерческие препараты бактериофагов: Fah-ВНИИВВиМ ($1 \cdot 10^8$ бляшкообразующих единиц (БОЕ)/см³), R/D-Ph-6 ($1 \cdot 10^8$ БОЕ/см³) в виде фаг-тест набора «Оболонск R1», Гамма А-26 ($1,1 \cdot 10^9$ БОЕ/см³), а также экспериментальные серии бактериофагов 186 ($2,3 \cdot 10^9$ БОЕ/см³), ВА-9 ($1,6 \cdot 10^9$ БОЕ/см³), Саратов ($8,6 \cdot 10^9$ БОЕ/см³), К ВИЭВ ($1,2 \cdot 10^9$ БОЕ/см³), которые были получены авторами в лаборатории сибирской язвы Ставропольского противочумного института. Допустимые значения показателей концентрации фаговых частиц и диагностического рабочего титра (ДРТ): препарат бактериофага должен содержать не менее $1,0 \cdot 10^7$ БОЕ/см³; ДРТ – наибольшее разведение бактериофага, дающее сливной лизис культур, не регламентирован для сибиреязвенных бактериофагов, но позволяет объективно оценить специфическую активность конкретной серии препарата.

В работе использовали штаммы, полученные из Коллекции патогенных микроорганизмов Ставропольского НИПЧИ: 114 штаммов *B. anthracis*, имеющие фенотипические и генотипические различия, и 74 штамма сапрофитных представителей рода

Bacillus (*B. cereus* – 18, *B. thuringiensis* – 14, *B. subtilis* – 15, *B. megaterium* – 7, *B. mesentericus* – 1, *B. species* (spp.) – 19. Контролем служил вакцинный штамм *B. anthracis* СТИ.

Для определения специфической литической активности и специфичности бактериофагов использовали чашечный метод. Результат оценивали визуально по четырехкрестовой системе. Полный лизис культуры на месте нанесения бактериофага оценивали на (++++); наличие единичных колоний культуры на фоне зоны ее лизиса в месте нанесения – (+++), резкое ослабление роста – (++), наличие единичных негативных колоний бактериофага на фоне сплошного роста культуры – (+), отсутствие лизиса – (–). Положительной считали пробу при оценке не менее чем (+++). Резистентные варианты культур получали, отбирая колонии из зон лизиса различными бактериофагами, отсеивали на агар Хоттингера и при получении хорошего роста ставили пробу на чувствительность ко всем бактериофагам.

Для оценки влияния различных факторов на эффективность репродукции бактериофагов и сохранение их специфической активности определяли ДРТ бактериофагов и концентрацию фаговых частиц методом агаровых слоев по Грациа [5] после воздействия соответствующих факторов или изменения отдельных условий и сравнивали с контрольными показателями.

Результаты и обсуждение

Одним из требований, предъявляемых к маточным бактериофагам, является эффективность их репродукции для получения препаратов с достаточно высокой концентрацией фаговых частиц. Независимо от регламентированных условий получения коммерческих препаратов была апробирована репродукция всех бактериофагов в одинаковых условиях. В качестве питательной среды использовали бульон Хоттингера (рН 7,4) с добавлением 0,2 % дрожжевого экстракта. В 50 мл питательной среды перед засевом добавляли 0,15 мл 10 % стерильного раствора хлористого кальция. Репродукцию бактериофагов проводили на авирулентном штамме *B. anthracis* СТИ.

Используя отраслевой стандарт мутности ФГУН ГИСК им. Л.А.Тарасевича (ОСО 42-28-59-85П 10 единиц), из 20-часовой вегетативной культуры *B. anthracis* СТИ готовили взвесь, 0,5 мл которой вносили в 50 мл жидкой питательной среды. После инкубирования при температуре 37 °С в течение 3 ч на орбитальном шейкере (150 об./мин) вносили 1 мл препарата бактериофага с концентрацией $4 \cdot 10^7$ БОЕ/мл³ и продолжали инкубирование еще в течение 24 ч в тех же условиях. Стерилизацию фаголизата производили фильтрованием через мембранные фильтры «Millipore» с диаметром пор 0,22 мкм.

Этим способом были получены экспериментальные серии фагов: Fah-ВНИИВВиМ ($3 \cdot 10^{10}$ БОЕ/см³), R/D-Ph-6 ($1,9 \cdot 10^{10}$ БОЕ/см³), 186 ($2,5 \cdot 10^{10}$ БОЕ/см³), ВА-9 ($2,8 \cdot 10^9$ БОЕ/см³), Саратов ($1,5 \cdot 10^{10}$ БОЕ/см³), К ВИЭВ ($1,2 \cdot 10^9$ БОЕ/см³), Гамма А-26 ($1,1 \cdot 10^9$ БОЕ/см³), что

свидетельствует о достаточно эффективной репродукции всех испытанных бактериофагов в стандартных условиях размножения на авирулентном штамме.

Важным условием в производстве диагностических бактериофагов является стабильность специфической активности, обеспечиваемая сохранением достаточной концентрации фаговых частиц на протяжении регламентированного срока годности. Хранение бактериофагов К ВИЭВ, ВА-9 в оптимальных условиях (4 ± 2) °С в течение двух лет практически не изменило их концентрации в отличие от фагов 186, Саратов и коммерческих препаратов бактериофагов Fah-ВНИИВВиМ, R/D-Ph-6 и Гамма А-26, у которых концентрация снизилась на порядок, но она все равно была регламентируемой. При этом все бактериофаги сохраняли специфическую литическую активность при применении в виде цельного препарата.

Изучение стабильности показателей специфической активности диагностических сибиреязвенных бактериофагов при кратковременном хранении в условиях температур, превышающих регламентированные (4 ± 2) °С, показало, что хранение бактериофагов Fah-ВНИИВВиМ, R/D-Ph-6, 186, Саратов, К ВИЭВ при температуре (25 ± 1) °С в течение 5 сут не изменило их начальную концентрацию фаговых частиц и ДРТ. Бактериофаги ВА-9 и Гамма А-26 оказались более чувствительными, и через 5 сут их концентрация понизилась до $1 \cdot 10^8$ БОЕ/мл³, при неизменном ДРТ (10^{-5}). Через 30 сут при указанном температурном режиме хранения у фагов Fah-ВНИИВВиМ, R/D-Ph-6 и 186 концентрация осталась прежней. Фаги Саратов, К ВИЭВ и ВА-9, Гамма А-26 снизили концентрацию до $1 \cdot 10^8$ БОЕ/мл³ и $1 \cdot 10^7$ БОЕ/мл³ соответственно. ДРТ снизился у всех бактериофагов на порядок, что не влияло на эффективность применения указанных препаратов в качественном тесте с использованием цельного препарата.

Изучение устойчивости сибиреязвенных бактериофагов 186 и R/D-Ph-6 к действию температур в диапазоне 30–100 °С, с интервалами 10 °С показало, что прогревание препаратов бактериофагов 186 и R/D-Ph-6 при температуре 30–50 °С в течение 15 мин не уменьшало концентрацию фаговых частиц в них. Оба бактериофага после воздействия температуры 60 °С снижали концентрацию на два порядка; при повышении температуры до 70 °С концентрация бактериофага 186 оставалась на том же уровне, а концентрация бактериофага R/D-Ph-6 уменьшалась еще на порядок. Оба бактериофага полностью инактивировались после нагревания до 90 °С.

При прогревании препарата бактериофага Гамма А-26 при температурах 30–50 °С концентрация фаговых частиц снижалась на порядок, а после воздействия температуры 60 °С резко падала еще на 5 порядков. В препарате, прогретом до 70 °С, определялись единичные негативные колонии фага. Таким образом, установлено, что бактериофаги 186 и R/D-Ph-6 обладают более выраженной устойчивостью к воздействию высоких температур по сравнению с

бактериофагом Гамма А-26.

Наиболее важными свойствами бактериофагов являются их специфическая активность и специфичность. Результаты исследования показали, что из 114 штаммов сибиреязвенного микроба чувствительными к литическому действию фагов Гамма А-26, ВА-9 и R/D-Ph-6 оказалось 99,1 %. Нечувствительным к бактериофагам Гамма А-26 и ВА-9 был штамм *B. anthracis* 71/12, а бактериофаг R/D-Ph-6 не лизировал бескапсульный штамм *B. anthracis* 140 П сар⁻.

Более узким спектром литического действия обладали фаги К ВИЭВ, Fah-ВНИИВВиМ, Саратов и 186 (рис. 1). Нечувствительными к фагу Fah-ВНИИВВиМ оказались 26 вирулентных штаммов, что составило 32,5 %, 25 штаммов – к фагу К ВИЭВ (31,3 %), 20 – к фагу Саратов (25 %) и 19 – к фагу 186 (23,7 %). Из группы атипичных по капсулообразованию штаммов отрицательный тест был у 16 штаммов (61,5 %) со всеми бактериофагами этой группы. Все 4 культуры с OSS-типом колоний [3] оказались нечувствительными к этим четырем бактериофагам.

Все исследуемые бактериофаги лизировали один атоксигенный штамм *B. anthracis* Δ Ames (pXO1⁻ pXO2⁺) и три бесплазмидных штамма: *B. anthracis* Δ СТИ, *B. anthracis* Sterne tox⁻, *B. anthracis* 228/4. Сибиреязвенные бактериофаги 186, К ВИЭВ и Саратов из экспериментальных серий, а также коммерческие препараты бактериофагов Fah-ВНИИВВиМ, R/D-Ph-6 не вызывали лизиса штаммов спорообразующих сапрофитов рода *Bacillus* и обладали 100 % специфичностью.

Проявления неспецифического лизиса наблюдались при действии как коммерческого бактериофага Гамма А-26, так и экспериментальной серии бактериофага ВА-9, которые лизировали одни и те же штаммы близкородственных сапрофитов (*B. subtilis* 35, 37, 336; *B. megaterium* 1, 2, 3). С целью сопоставления чувствительности указанных культур и *B. anthracis* к литическому действию бактериофагов Гамма А-26 и ВА-9 были определены значения ДРТ к шести штаммам сапрофитов и в качестве контроля к *B. anthracis* СТИ. Из шести штаммов сапрофитов наибольшей чувствительностью обладали культуры *B. subtilis* 336 и *B. megaterium* 3, которые лизировались обоими бактериофагами в разведениях $1 \cdot 10^{-3}$, остальные четыре культуры лизировались в разве-

дениях $1 \cdot 10^{-1} - 1 \cdot 10^{-2}$. ДРТ обоих бактериофагов для штамма *B. anthracis* СТИ составил $1 \cdot 10^{-5}$, что было на два порядка выше, по сравнению со значениями этого показателя по отношению к наиболее чувствительным сапрофитам рода *Bacillus*.

Оценку результатов теста на лизабельность специфическими бактериофагами проводили визуально по характеру изменений газонного роста тестируемой культуры в месте нанесения бактериофага: от полного лизиса культуры (++++ – положительный результат) до абсолютного отсутствия следов нанесения бактериофага (-) – отрицательный результат). Однако встречаются промежуточные варианты: наличие единичных или множественных изолированных колоний в зоне лизиса, заметно очерченная зона лизиса с покрывающей ее пленкой культуры (рис. 2)

Такие варианты зоны лизиса затрудняют четкую объективную оценку результатов теста. Их причиной является наличие в популяции исследуемых штаммов в различном соотношении чувствительных и резистентных к конкретному бактериофагу бактериальных клеток. Для идентификации культур *B. anthracis* предпочтительно применение наиболее вирулентных бактериофагов, способных эффективно лизировать все культурально-морфологические типы культур *B. anthracis*.

Нами была проведена работа по выделению резистентных культур и определение их чувствительности к различным сибиреязвенным бактериофагам. По специфической литической активности к 102 выделенным фагорезистентным вариантам штаммов *B. anthracis*, отобранных по признаку устойчивости к тому или иному бактериофагу, все бактериофаги можно разделить на 3 группы.

1. Бактериофаги К ВИЭВ, Fah-ВНИИВВиМ, Саратов, 186. По отношению к ним чаще всего выделялись культуры, резистентные к бактериофагам Fah-ВНИИВВиМ (32), К ВИЭВ (23), Саратов (20), 186 (17) – всего 92 культуры. Из них 89 культур (95,7 %) были резистентны к литическому действию всех бактериофагов этой группы, но лизировались бактериофагами Гамма А-26, R/D-Ph-6, ВА-9. Только 4 из отобранных культур отличались от них по спектру фагорезистентности. При этом две культуры из них были дополнительно чувствительны к бактериофагу 186, 1 культура – к бактериофагу Fah-ВНИИВВиМ и

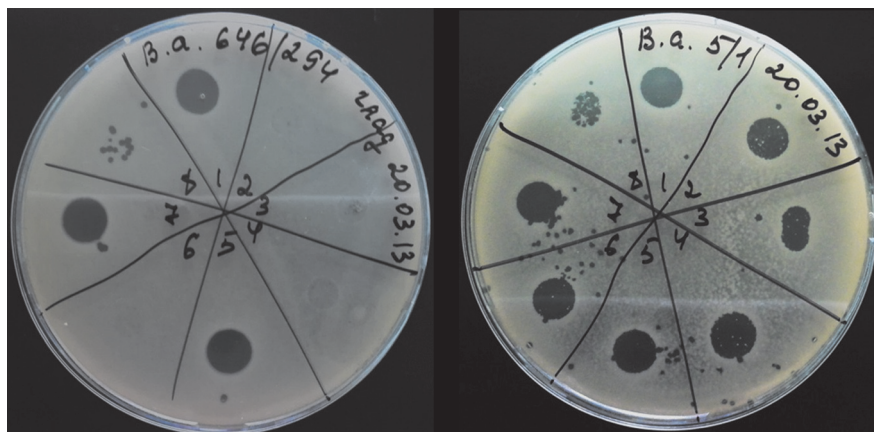


Рис. 1. Различная чувствительность штаммов *B. anthracis* к специфическому действию бактериофагов

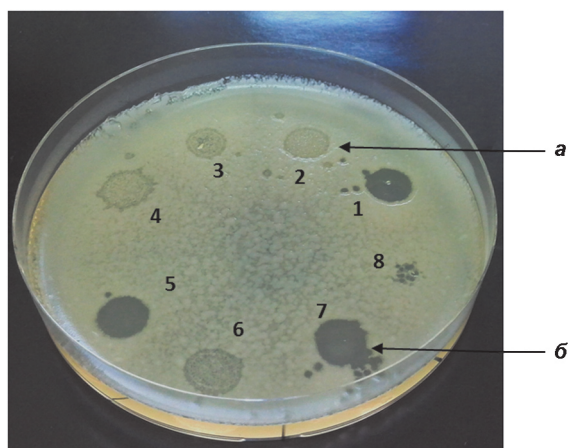


Рис. 2. Характеристика зоны лизиса штамма *B. anthracis* 1194 бактериофагами:

1 – Гамма А-26; 2 – К ВИЭВ; 3 – Fah-ВНИИВВиМ; 4 – Саратов; 5 – R/D-Ph-6; 6 – 186; 7 – ВА-9; 8 – R/D-Ph-6 в разведении 10^{-2} (а – зона лизиса с пленкой; б – прозрачная зона лизиса)

1 культура резистентна к действию всех бактериофагов. Совпадение результатов определения чувствительности к бактериофагам этой группы вариантов, выделенных по признаку резистентности к отдельным из них, составляло 96,8 %.

2. Бактериофаги Гамма А-26, ВА-9, по отношению к которым было выделено 8 фагорезистентных вариантов (ВА-9 – 5, Гамма А-26 – 3). Бактериофаги второй группы по воздействию на все 102 фагорезистентных варианта давали 100 % совпадение (92 положительных, 10 отрицательных) результатов. Все культуры, отобранные по признаку резистентности к бактериофагам первой группы, лизировались бактериофагами Гамма А-26 и ВА-9.

3. Бактериофаг R/D-Ph-6 несколько отличался по спектру литической активности от бактериофагов первой и второй групп. Он так же, как и бактериофаги Гамма А-26 и ВА-9, лизировал все культуры, выделенные по признаку резистентности к бактериофагам первой группы, но лизировал 5 из 8 (62,5 %) вариантов, выделенных по признаку резистентности к бактериофагам второй группы. Применение данного бактериофага позволило выделить наименьшее количество резистентных культур (2), которые оказались нечувствительны к действию всех бактериофагов.

В результате проведенных исследований показано, что диагностические сибирезывенные бактериофаги Fah-ВНИИВВиМ, R/D-Ph-6, Гамма А-26, 186, ВА-9, Саратов, К ВИЭВ обладают следующими свойствами: эффективно размножаются в жидкой культуре авирулентного штамма *B. anthracis* СТИ; в достаточной степени сохраняют специфическую активность при хранении при $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение двух лет и при кратковременных отклонениях условий хранения и транспортирования от регламентированных, если температура до 25°C , продолжительностью до 30 сут. В большей степени были выражены различия изученных бактериофагов по специфической активности и специфичности

Таким образом, наиболее предпочтительным для идентификации культур *B. anthracis* является приме-

нение бактериофагов Гамма А-26, ВА-9 и R/D-Ph-6, которые в нашем исследовании лизировали 99,1 % штаммов *B. anthracis* с различными фенотипическими и генотипическими свойствами. Для повышения специфичности теста на фаголизательность бактериофагами Гамма А-26 и ВА-9 представляется перспективной возможность их применения в пределах значений ДРТ, обеспечивающих лизис культур *B. anthracis*, и не лизирующих близкородственные сапрофиты.

Бактериофаги К ВИЭВ, Fah-ВНИИВВиМ, Саратов и 186, на наш взгляд, представляют интерес для фаготипирования штаммов сибирезывенного микроба, так как не лизируют значительное количество диплазмидных вирулентных и атипичных по капсулообразованию и морфологии колоний штаммов *B. anthracis*, или выявляют в их популяциях фагорезистентные варианты, многие из которых обладают сходными культурально-морфологическими свойствами, что может приводить к значительному проценту ошибок при идентификации штаммов возбудителя сибирской язвы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Головинская Т.М., Буравцева Н.П., Цыганкова О.И., Еременко Е.И. Сравнительное изучение литической активности и специфичности экспериментальных серий сибирезывенных бактериофагов Гамма А-26, К ВИЭВ, ВА-9 и Fah-ВНИИВВиМ. *Пробл. особо опасных инф.* 2011; 3(109):28–30.
2. Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы. МУК 4.2.2413-08. М.; 2008.
3. Маринин Л.И., Дятлов И.А., Мокриевич А.Н., Бахтеева И.В., Белова Е.В., Борзилов А.И., Комбарова Т.И., Кравченко Т.Б., Миронова Р.И., Попова В.М., Сомов А.Н., Титарева Г.М., Тюрин Е.А., Чебан Л.В., Шишкова О.Б., Шишкова Н.А. Методы изучения биологических свойств возбудителя сибирской язвы. М.: ЗАО МП «ГИГИЕНА»; 2009. 304 с.
4. Саяпина Л.В., Абдрашитова А.С., Касина И.В., Малахаева А.Н., Рашчепкин Л.И., Осин А.В., Ляшова О.Ю., Валова Т.В., Попов Ю.А., Микшис Н.И., Буравцева Н.П., Миронова Н.П., Лобовикова О.А., Мокриевич А.Н., Гэфан Н.Г. Характеристика нового бактериофага диагностического сибирезывенного Гамма А-26 жидкого. *Биопрепараты. Профилактика. Диагностика. Лечение.* 2011; 1(41):36–9.
5. Gratia A. Des relations numeriques entre bacteries lysogenes et particulers de bacteriophage. *Ann. Inst. Pasteu.* 1936; 57:652.

References

1. Golovinskaya T.M., Buravtseva N.P., Tsygankova O.I., Eremenko E.I. [Comparative study of lytic activity and specificity of anthrax bacteriophages Gamma A-26, K VIEV, VA-9 and Fah-VNIIVV&M batches]. *Probl. Osobo Opasn. Infek.* 2011; 3(109):28–30.
2. [Laboratory diagnostics and detection of anthrax agent. Methodological recommendations] MR 4.2.2413-08. M.; 2008.
3. Marinin L.I., Dyatlov I.A., Mokrievich A.N., Bakhteeva I.V., Belova E.V., Borzilov A.I., Kombarova T.I., Kravchenko T.B., Mironova R.I., Popova V.M., Somov A.N., Titareva G.M., Tyurin E.A., Cheban L.V., Shishkina O.B., Shishkova N.A. [Methods of Study of Anthrax Agent Biological Properties]. M.: "Gigiena"; 2009. 304 p.
4. Sayapina L.V., Abdrashitova A.S., Kasina I.V., Malakhaeva A.N., Rashchepkin L.I., Osin A.V., Lyashova O.Yu., Valova T.V., Popov Yu.A., Mikshis N.I., Buravtseva N.P., Mironova N.P., Lobovikova O.A., Mokrievich A.N., Gefan N.G. [Characteristics of a new liquid diagnostic anthrax bacteriophage – Gamma A-26]. *Biopreparaty. Profilaktika. Diagnostika. Lechenie.* 2011; 1(41):36–9.
5. Gratia A. Des relations numeriques entre bacteries lysogenes et particulers de bacteriophage. *Ann. Inst. Pasteu.* 1936; 57:652.

Authors:

Golovinskaya T.M., Tsygankova O.I., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Об авторах:

Головинская Т.М., Цыганкова О.И., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: snipchi@mail.stv.ru

Поступила 23.01.14.

УДК 616-036.22

С.Ю.Водяницкая¹, В.И.Прометной¹, Н.Р.Телесманич¹, Ю.В.Рыжков², О.В.Лях², И.В.Трут²,
Н.Г.Иванова¹, В.Д.Кругликов¹, О.С.Чемисова¹

РЕЗУЛЬТАТЫ ТРЕХЛЕТНЕГО МОНИТОРИНГА СУДОВЫХ БАЛЛАСТНЫХ ВОД В ПОРТАХ РОСТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

¹ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ²Управление Роспотребнадзора по Ростовской области, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Представлены результаты микробиологического мониторинга судовых балластных вод в морских портах Ростовской области. Материалом для исследования на наличие *Vibrio cholerae* служили пробы балластной воды судов, отобранные в мае–сентябре 2010–2012 гг. Исследовано 179 проб, отобранных на 127 судах. Из 30 выделенных в 2010–2011 гг. штаммов *V. cholerae* non O1/ non O139, серологическая принадлежность установлена у 13 штаммов. Применение в 2012 г. MALDI-TOF масс-спектрометрии повысило информативность исследований, расширило спектр и частоту бактериологических находок. Обнаружение вибрионов свидетельствует о реальной возможности заноса возбудителя холеры в акваторию Азовского моря.

Ключевые слова: холера, водяной балласт, морские суда, Азовское море.

S.Yu.Vodyanitskaya¹, V.I.Prometnoy¹, N.R.Telesmanich¹, Yu.V.Ryzhkov², O.V.Lyakh², I.V.Trut², N.G.Ivanova¹,
V.D.Kruglikov¹, O.S.Chemisova¹

Results of the Triennial Monitoring over the Ship's Ballast Water at the Ports of the Rostov-Region

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation; ²Rospotrebnadzor Administration in the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russian Federation

Demonstrated are the results of microbiological monitoring over the ship's ballast water at the sea ports of the Rostov region. Analyzed for the presence of *Vibrio cholerae* are the samples of the ship's ballast water collected within the period of May–September 2010–2012, a total of 179 samples collected from 127 ships. Among 30 *V. cholerae* non O1/ non O139 strains isolated in 2010–2011 only 13 have been identified serologically. Application of MALDI-TOF mass spectrometry in 2012 has enhanced informational capacity of the investigations. It has expanded the range and increased the frequency of bacteriological findings. The detection of vibrios implies possibility of *V. cholerae* importation into the aquatic area of Azov Sea.

Key words: cholera, water ballast, sea ships, Azov Sea.

Как известно, одной из актуальных опасных инфекционных болезней человека является холера, вспышки и эпидемии которой и сегодня регистрируются на всех континентах. Существенное значение в распространении холеры принадлежит различным видам транспорта, в том числе водному, причем холерные вибрионы могут быть занесены не только больными и носителями, но и с балластными и сточными водами судов. Так, занос возбудителя холеры в страны Южной Америки в 1991 г. эксперты ВОЗ полностью связывают с морскими судами.

На территории Ростовской области действуют три пункта пропуска через Государственную границу Российской Федерации для водного транспорта – в портах Ростова-на-Дону, Азова и Таганрога. По данным специалистов Управления Роспотребнадзора по Ростовской области, в эти порты ежегодно заходит свыше 8 тыс. судов, а сбрасываемый ими балласт достигает около 1 млн тонн воды в год.

Операции по смене балласта, производимые в акваториях портов, являются в настоящее время закономерными процессами судоходства, приводящи-

ми к важнейшей экологической проблеме – заносу различных видов морских обитателей, в том числе бактерий, патогенных для человека [2]. В связи с этим Международной морской организацией в 2004 г. принята Международная конвенция по контролю и управлению судовыми балластными водами и осадками. В «Стандарт качества балластной воды» включены показатели отсутствия токсигенных холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп.

В настоящий момент ряд государств уже предъявляют требования к судам, заходящим в их порты, по контролю и управлению судовыми балластными водами для предотвращения заноса патогенных микроорганизмов. Российской Федерацией Конвенция одобрена в 2007 г. В соответствии с требованиями Конвенции РФ необходимо начать управление балластными водами уже с 2014 г., поэтому для подготовки к выполнению стандартов по управлению качеством балластных вод осталось не так много времени.

В России и за рубежом активно ведутся исследования по обеспечению экологической безопасности балластной воды судов [1, 2, 3, 5, 7], а также исследо-

вания морской воды с имитацией условий нахождения ее в балластных танках [6, 8].

В порты Ростовской области заходят сухогрузные суда смешанного (река–море) плавания, предназначенные для перевозки насыпных и тарно-штучных грузов, а также танкеры, перевозящие сырую нефть и нефтепродукты.

Целью данной работы явилось изучение возможности заноса холерных вибрионов в бассейн Азовского моря балластными водами судов с учетом особенностей их конструкции, а также поиск в судовом балласте других представителей рода *Vibrio*.

Материалом для исследования служили пробы балластных вод, отобранные в мае–сентябре 2010–2012 гг. на судах, прибывающих из-за рубежа в порты Ростовской области: Таганрог (2010–2012 гг.) и Азов (2011–2012 гг.). Пробы отбирали специалисты санитарно-карантинных пунктов портов и направляли в Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт – Референс-центр по мониторингу за холерой. Лабораторное исследование водяного балласта на наличие холерных и других вибрионов проводили в соответствии с МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры», МУК 4.2.1793-03 «Лабораторная диагностика заболеваний, вызываемых паразитическими и другими патогенными для человека вибрионами».

Чистые культуры и подозрительные колонии холерных вибрионов, выделенные в 2012 г. бактериологическим методом, исследовали с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа в автоматическом режиме с программным обеспечением Biotyper. При исследовании использовали прямое нанесение чистой культуры одноразовой бактериологической петлей в виде мазка на MSP-чип с последующим насаиванием на образец 1 мкл насыщенного раствора матрицы (α -Циано-4-гидроксикоричная кислота в 50 % ацетонитрила и 2,5 % трифторуксусной кислоты). После нахождения уникального набора масс-спектров анализатором выдавался наиболее вероятный результат в виде значения Score. Учет проводили по шкале показателей Score в диапазоне от 0 до 3. Считали, что значения 2,300–3,000 указывают на высокую вероятность идентификации вида (+++), значения более 2,000–2,2999 – на надежную идентификацию рода бактерий и возможную идентификацию вида (++), значения 1,700–1,999 – на возможную идентификацию рода (+), менее 1,700 – на отсутствие надежной идентификации.

В 2010–2012 гг. на борту прибывающих в порты Ростовской области судов находилось от 499 до 3131 тонны судового балласта. Из всех обследованных на наличие холерных вибрионов судов в порту Таганрог, по среднескользящим данным, сухогрузы составили 79,8 %, танкеры – 20,2 %.

Температура балластной воды при отборе варьировала в пределах от 15 до 28 °С. При этом смена первого судового балласта проводилась в акватории Черного моря, ограниченной координатами

40° 55' N – 45° 27,6' N и 29° 08' E – 36° 44,7' E. Смена балласта при переходе в Азовское море проводилась в пределах координат 44° 54,7' N – 46° 53,6' N и 36° 30,2' E – 37° 48,4' E. При заходе судов в порт Азов через р. Дон проводилась дополнительная смена балласта на «нулевом километре».

В 2010 г. специалистами института исследовано 55 проб балластной воды, отобранной в порту Таганрог на 43 судах. *V. cholerae* non O1/non O139 обнаружены в 13 пробах. В 2011 г. исследовано 62 пробы судового балласта, из них 41 проба доставлена из порта Таганрог, 21 проба – из порта Азов. *V. cholerae* non O1/non O139 в 2011 г. обнаружены в 16 пробах, отобранных на судах в порту Таганрог, и в одной пробе, отобранной на судне в порту Азов. Из 30 выделенных штаммов *V. cholerae* non O1/non O139 в 2010–2011 гг. серологическая принадлежность установлена у 13 штаммов, относящихся к семи серогруппам (O2, O3, O13, O16, O18, O67, O81).

В 2012 г. исследовано 62 пробы, отобранные на 54 судах, из них 40 – в порту Таганрог, 22 – в порту Азов. Исследования проводили двумя методами: классическим бактериологическим и с применением MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа. При традиционном микробиологическом исследовании *V. cholerae* non O1/non O139 обнаружены в 12 пробах. Одновременно с этим при параллельном исследовании образцов на MALDI-TOF спектрометре ежемесячно в течение всего сезона (май–сентябрь) нами была выявлена 31 культура, идентифицированная масс-спектрометром как *V. albensis* со значением Score (средняя величина) – 1,862, свидетельствующем о надежной идентификации рода и возможной идентификации вида.

В соответствии с современной таксономией *V. albensis* отнесен к виду *V. cholerae* в качестве биовара *albensis* [5]. В нашем исследовании все культуры вибрионов, первоначально выданные в автоматическом режиме как *V. albensis*, по фенотипическим признакам были идентифицированы как *V. cholerae* non O1/non O139 и не агглютинировались холерными сыворотками O1 и O139. Следует отметить, что протеомные профили *V. cholerae* не содержатся в базе данных MALDI Biotyper. Частота обнаружения *V. cholerae* non O1/non O139 серогрупп в исследуемой балластной воде в 2010 г. составила 23,6 %, в 2011 г. – 27,6 %. При использовании в 2012 г. классического метода и MALDI-TOF спектрометрии она достигла 69,4 %.

При анализе полученных результатов обращает внимание обнаружение *V. cholerae* non O1/non O139 в течение трех лет подряд в пробах балластной воды судов, прибывших из Турции и Украины, в течение двух лет – в пробах балластной воды судов, прибывших из Израиля, Румынии, Италии, Испании.

При исследовании балластной воды на наличие галофильных вибрионов классическим бактериологическим методом специалистами института в 2011 г. обнаружены в пробах следующие микроор-

ганизмы: *V. damsela*, *V. fluvialis*, *V. harveyi*, *V. mimicus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*. В 2012 г. с помощью масс-спектрометрии были идентифицированы патогенные и непатогенные вибрионы. Впервые нами обнаружены редкие виды непатогенных вибрионов, ранее не выделявшиеся в акваториях морских портов Ростовской области, в том числе *V. brasiliensis* и *V. rotiferianus*, отсутствующие в Руководстве по систематике бактерий Берджи (2005 г.).

Таким образом, нами показана реальная возможность заноса патогенных и непатогенных вибрионов в бассейн Азовского моря с балластными водами грузовых судов класса река–море, прибывающих в порты Ростовской области, что может способствовать развитию неблагоприятной эпидемиологической ситуации, аналогичной событиям в странах Южной Америки в 1991 г. Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии повысило информативность наших исследований, расширило спектр и частоту бактериологических находок. Полученные результаты определяют дальнейшую перспективу исследований – поиск наиболее эффективных средств деконтаминации балласта.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Водяницкая С.Ю., Лях О.В., Рыжков Ю.В., Ломов Ю.М., Прометной В.И., Кругликов В.Д. Проблемы водного балласта: современные аспекты. *Эпидемиол. и инф. бол.* 2011; 5:18–22.
2. Звягинцев А.Ю., Селифонова Ж.П. Исследования балластных вод коммерческих судов в морских портах России. *Рос. журн. биол. инвазий.* 2008; 2:22–33.
3. Altug G., Gurun S., Cardak M., Ciftci P.S., Kalkan S. The occurrence of pathogenic bacteria in some ships' ballast water incoming from various marine regions to the Sea of Marmara, Turkey. *Mar. Environ. Res.* 2012; 81:35–42.
4. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Gammaproteobacteria. Garrity G.M., editor. 2nd ed. New York: Springer; 2005. Vol. 2B. P. 1108.
5. Cohen N.J., Slaten D.D., Marano N., Tappero J.W., Wellman M., Albert R.J., Hill V.R., Espey D., Handzel T., Henry A., Tauxe R.V. Preventing maritime transfer of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(10):1680–2.
6. Emami K., Askari V., Ullrich M., Mohinudeen K., Anil A.C., Khandeparker L., Burgess J.G., Mesbahi E. Characterization of bacteria in ballast water using MALDI-TOF Mass Spectrometry. *PLoS One.* 2012; 7(6):e38515.

One. 2012; 7(6):e38515.

7. Lovell S.J., Drake L.A. Tiny stowaways: analyzing the economic benefits of a US Environmental Protection Agency permit regulating ballast water discharges. *Environ. Manage.* 2009; 43:546–55.
8. Wennberg A.C., Tryland I., Ostensvik O., Monshaugen M., Liltved H. Effect of water treatment on the growth potential of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* in seawater. *Mar. Environ. Res.* 2013; 83:10–5.

References

1. Vodyanitskaya S.Yu., Lyakh O.V., Ryzhkov Yu.V., Lomov Yu.M., Prometnoy V.I., Kruglikov V.D. [Water ballast issues: modern aspects]. *Epidemiol. Infek. Bol.* 2011; 5:18–22.
2. Zvyagintsev A.Yu., Selifonova Zh.P. [Investigations of commercial ships' ballast water at the ports of Russia]. *Ros. Zh. Biol. Invazii.* 2008; 2:22–33.
3. Altug G., Gurun S., Cardak M., Ciftci P.S., Kalkan S. The occurrence of pathogenic bacteria in some ships' ballast water incoming from various marine regions to the Sea of Marmara, Turkey. *Mar. Environ. Res.* 2012; 81:35–42.
3. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. The Gammaproteobacteria. Garrity G.M., editor. 2nd ed. New York: Springer; 2005. Vol. 2B. P. 1108.
5. Cohen N.J., Slaten D.D., Marano N., Tappero J.W., Wellman M., Albert R.J., Hill V.R., Espey D., Handzel T., Henry A., Tauxe R.V. Preventing maritime transfer of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18(10):1680–2.
6. Emami K., Askari V., Ullrich M., Mohinudeen K., Anil A.C., Khandeparker L., Burgess J.G., Mesbahi E. Characterization of bacteria in ballast water using MALDI-TOF Mass Spectrometry. *PLoS One.* 2012; 7(6):e38515.
7. Lovell S.J., Drake L.A. Tiny stowaways: analyzing the economic benefits of a US Environmental Protection Agency permit regulating ballast water discharges. *Environ. Manage.* 2009; 43:546–55.
8. Wennberg A.C., Tryland I., Ostensvik O., Monshaugen M., Liltved H. Effect of water treatment on the growth potential of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* in seawater. *Mar. Environ. Res.* 2013; 83:10–5.

Authors:

Vodyanitskaya S.Yu., Prometnoy V.I., Telesmanich N.R., Ivanova N.G., Kruglikov V.D., Chemisova O.S. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M.Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru
Ryzhkov Yu.V., Lyakh O.V., Trut I.V. Rosпотребнадзор Administration in the Rostov Region. 17, 18th Line, Rostov-on-Don, 344109, Russian Federation.

Об авторах:

Водяницкая С.Ю., Прометной В.И., Телесманич Н.Р., Иванова Н.Г., Кругликов В.Д., Чемисова О.С. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru
Рыжков Ю.В., Лях О.В., Трут И.В. Управление Роспотребнадзора по Ростовской области. Российская Федерация, 344109, Ростов-на-Дону, ул. 18 линия, 17. E-mail: master@61.rospotrebнадzor.ru

Поступила 13.03.14.

И.С.Казина, Е.В.Яшина, А.И.Богачева

ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКОЙ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ МОРДОВИЯ ЗА 2009–2012 гг.*ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Мордовия», Саранск, Российская Федерация*

За период с 2009 по 2012 год в Республике Мордовия зарегистрирован 321 случай заболеваний геморрагической лихорадкой с почечным синдромом. В динамике эпидемического процесса ГЛПС наблюдается стойкая тенденция к росту заболеваемости, что связано с повышением качества и эффективности клинической и лабораторной диагностики, а также с активизацией природных очагов этого заболевания на территории Республики Мордовия. Анализ половозрастной структуры заболеваемости ГЛПС показал, что болеет преимущественно активное, трудоспособное население в возрасте от 20 до 50 лет. Заболеваемость мужского населения в 3 раза выше женской. В РМ к эпидемиологическим особенностям для ГЛПС относят цикличность эпидемиологических подъемов, осенне-зимнюю сезонность, преимущественное заболевание городских жителей, преобладание бытового типа заражения.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, природно-очаговые инфекционные болезни, заболеваемость, природные очаги.

I.S.Kazina, E.V.Yashina, A.I.Bogacheva

HFRS Morbidity Rates in the Territory of the Republic of Mordovia in 2009–2012*Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Mordovia, Saransk, Russian Federation*

In the territory of Mordovia registered have been 321 cases of HFRS infection over the period of 2009–2012. Following the pattern of dynamics as regards HFRS epidemiological process, one can observe lingering tendency to the increment in morbidity rates, associated with the enhancement of quality and efficacy of clinical and laboratory diagnostics of the disease, as well as with activation of natural HFRS foci in the territory of Mordovia. Analysis of the gender-age structure of HFRS incidence has revealed that most liable to the infection is active, employable population, 20 to 50 years old. Morbidity rates for the male strata of the population are three times higher than for female. Epidemiological peculiarities of HFRS morbidity, characteristic of the Republic of Mordovia, are as follows: recurrence of epidemiological upsurge, autumn-winter seasonality, predominance of urban dwellers cohort and household route of infection.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome, natural-focal infectious diseases, morbidity rate, natural foci.

При проведении анализа структуры и результативности проводимых мониторинговых исследований природно-очаговых и зоонозных инфекций установлено, что на территории Республики Мордовия (РМ) на протяжении ряда лет сохраняется напряженная эпизоотическая и эпидемическая обстановка по природно-очаговым инфекциям. Так, на фоне тенденции снижения заболеваемости лептоспирозами с 2005 г. в республике регистрируется уровень заболеваемости, превышающий среднефедеративный: в 2007–2008 гг. – в 20, 2009 г. – в 6 раз, 2011 г. – в 7,3, в 2012 г. – 5,3 раза.

Многолетний анализ заболеваемости клещевым боррелиозом показывает, что в Мордовии ежегодно регистрируется заболеваемость на уровне от 0,8 до 4,7 на 100 тыс. населения. Заболеваемость людей туляремией не регистрируется в течение многих лет. В то же время активно продолжают функционировать природные очаги туляремии на территории всех районов республики, что подтверждается данными лабораторных исследований объектов внешней среды. В 2012 г. из объектов внешней среды, из мышевидных грызунов антиген туляремии выделен в 3 пробах из 113 исследованных грызунов – 2,7 % (2011 г. – 9,6 %, 2010 г. – 5,6 %, 2009 г. – 12,8 %), из членистоногих

(клещей) – в 4 пробах из 80 исследованных – 5,0 % (2011 г. – 6,3 %, 2010 г. – 8,8 %, 2009 г. – 22,5 %). В 2011 г. исследовано 110 проб воды открытых водоемов (таяя вода), антиген туляремии выделен в 6 пробах – 5,5 % (2011 г. – 1,8 %, 2010 г. – 10,9 %, 2009 г. – 11,0 %). Кроме того, исследовано 115 проб погачей, антиген туляремии выделен в 5 пробах – 4,3 % (2011 г. – 2,6 %, 2010 г. – 8,7 %, 2009 г. – 12,2 %).

Особенно следует отметить высокий уровень заболеваемости геморрагическими лихорадками с почечным синдромом (ГЛПС), которые по частоте встречаемости занимают первое место среди природно-очаговых инфекций. В Мордовии ГЛПС регистрируют с 1964 г. Наиболее высокие показатели заболеваемости за весь период регистрации заболевания отмечены в 1997 г. – 16,2, 2003 г. – 18,2, 2007 г. – 20,2, 2008 г. – 26,1 на 100 тыс. населения. Заболеваемость ГЛПС неуклонно увеличивалась на протяжении всего периода регистрации, если средняя заболеваемость за период с 1964 по 1977 год не превышала 0,8 на 100 тыс. населения, то за 1992–1996 гг. она достигла 4,7, за 1999–2003 гг. – 10,5 на 100 тыс. населения, начиная с 2004 г. в динамике эпидемического процесса геморрагической лихорадки с почечным синдромом наблюдается стойкая тенденция

к росту заболеваемости. Показатели заболеваемости населения республики превышают аналогичные показатели по Российской Федерации: в 5,5 раз в 2007 г., в 4,7 в 2011 г., в 3,4 раза в 2012 г. Подобная ситуация связана как с активизацией природных очагов этого заболевания, так и с повышением качества и эффективности клинической и лабораторной диагностики на территории республики.

Природные очаги ГЛПС функционируют на территории всех районов республики, наиболее активные из них выявлены в Больше-Березниковском, Больше-Игнатовском, Кочкуровском, Лямбирском, Старо-Шайговском, Темниковском районах, где показатели заболеваемости по месту заражения составляли от 35,0 до 71,5 на 100 тыс. населения (по РМ в среднем – 14,8 за период 2009–2012 гг.).

При анализе возрастной структуры заболеваемости ГЛПС за 2009–2012 гг. обращает на себя внимание значительное превышение заболеваемости в возрастных группах 40–49 лет – 3,8 на 100 тыс. населения (2011 г. – 4,4, 2010 г. – 1,7, 2009 г. – 4,4, 2009 г. – 3,4), 20–29 лет – 3,6 на 100 тысяч населения (2011 г. – 4,8, 2010 г. – 2,5, 2009 г. – 4,2) и 50–59 лет – 3,6 (2011 г. – 4,9, 2010 г. – 1,9), 30–39 лет – 2,9 (2011 г. – 4,2, 2010 г. – 2,4, 2009 г. – 4,2). Заболеваемость мужского населения в 3 раза выше женской и составила 12,4 на 100 тыс. населения (2011 г. – 16,1, 2010 г. – 8,8, 2009 г. – 14,5); заболеваемость ГЛПС среди женщин в 2012 г. – 3,8 (2011 г. – 4,2, 2010 г. – 1,3, 2009 г. – 3,5). За анализируемый период времени заболеваемость среди городского населения превысила уровень заболеваемости сельского населения и составила 18,9 и 12,6 соответственно (2011 г. – 21,7 и 18,5, 2010 г. – 11,6 и 7,9, 2009 г. – 12,8 и 4,9).

По многолетним наблюдениям, случаи ГЛПС регистрируются в течение всего календарного года. В 2012 г. подъем заболеваемости наблюдался в осенне-зимний период (10,9 на 100 тыс. населения), особенно выраженный в январе–феврале 2012 г., на эти месяцы пришлось 34,1 % от общего числа случаев ГЛПС за год, в период март–август 2012 г. показатели заболеваемости варьировали с 0,1 до 1,4 на 100 тыс. населения.

В 2011 г. подъем заболеваемости наблюдался в осенне-зимний период (133 случая или 15,9 на 100 тыс. населения), с пиком в ноябре–декабре 2011 г. (49,1 % от общего числа случаев), в марте–августе 2011 г. показатели заболеваемости варьировали с 0,1 до 2,5 на 100 тыс. населения. Профессиональная группа риска по заражению ГЛПС практически отсутствует, хотя, анализируя профессиональный состав заболевших ГЛПС, можно отметить, что основная часть приходится на рабочих, служащих и неработающих – 30,4; 30,4 и 14,8 % соответственно, аналогично и в 2011 г. на долю рабочих приходилось 28,4 %, служащих –

26,0 %, неработающих – 19,5 %.

Анализ условий заражения населения ГЛПС по сезонам свидетельствует, что в летне-осеннее время оно происходит при кратковременном посещении леса, проживании на даче. В зимний период (декабрь–февраль) значительно преобладают бытовые заражения, произошедшие непосредственно по месту жительства (в доме или подсобных помещениях) или связанные с производственной деятельностью.

Ведущим путем заражения инфекцией в 2012 г. явился контакт населения с мышевидными грызунами и их выделениями в быту – 24,4 % (2011 г. – 26 %, 2010 г. – 32 %), в лесу – 15,6 % (2011 г. – 16,6 %, 2010 г. – 13,1 %), в 8,8 % случаев заражения наблюдались при контакте с выделениями грызунов на рабочих местах (2011 г. – 8,3 %, 2010 г. – 4,8 %), при работе на даче – 10,4 % (2011 г. – 7,7 %, 2010 г. – 15,5 %), при уходе за животными – 8,2 %, при работах с сеном, соломой, фуражом – 4 % (2011 г. – 6,5 %, 2010 г. – 4,8 %).

В республике осуществляется работа по обеспечению мониторинга возбудителей зоонозных и природно-очаговых инфекционных болезней. Так, за 2012 г. было обследовано на ГЛПС 113 грызунов (2011 г. – 125), антиген выделен в двух (1,8 %) случаях (в 2011 и 2010 гг. – 3,2 %, 2009 г. – 6,4 %). Ежегодно проводится серологический мониторинг – анализ иммунной структуры населения на ГЛПС. В 2012 г. при обследовании доноров крови антитела к вирусу ГЛПС обнаружены в 1,5 %, в 2011 г. – в 2,0 % случаях.

Проблема геморрагической лихорадки с почечным синдромом на территории Республики Мордовия продолжает оставаться актуальной, в эпидемический процесс вовлечены практически все районы территории с совокупным уровнем заболеваемости выше среднефедеративного. С целью оптимизации надзора за природно-очаговыми заболеваниями необходимо продолжить мероприятия по эпидемиологическому надзору, в т.ч. по серологическому мониторингу, по проведению комплексного эпизоотологического и молекулярно-генетического мониторинга на территории для выявления и характеристики природных очагов этих инфекций, а также с целью последующей разработки комплекса профилактических мероприятий.

Authors:

Kazina I.S., Yashina E.V., Bogacheva A.I. Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Mordovia. 1a, Dalnaya St., Saransk, 430030, Russian Federation. E-mail: cgie@moris.ru

Об авторах:

Казина И.С., Яшина Е.В., Богачева А.И. Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Мордовия. Российская Федерация, 430030, Саранск, ул. Дальняя, 1а. E-mail: cgie@moris.ru

Поступила 26.12.13.

Е.В.Найденова, С.А.Портенко, Е.С.Казакова, И.Г.Карнаухов, А.В.Черкасов, С.А.Щербакова,
В.В.Кутырев

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНОМНОГО АНАЛИЗА В УСЛОВИЯХ МОБИЛЬНОГО КОМПЛЕКСА СПЭБ

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

В работе описан первый опыт использования геномного анализа в условиях мобильного комплекса СПЭБ во время проведения XXVII Всемирной летней Универсиады-2013 в Казани. В результате было проведено 16S рРНК секвенирование штамма *Salmonella enterica*, выделенного от больного. Для этого использовали набор «MicroSEQ 500 16S rDNA Bacterial Identification Kits» (Applied Biosystems, США), позволяющий секвенировать фрагменты ДНК (500 пар нуклеотидов) гена 16S рРНК исследуемых бактерий.

Ключевые слова: мобильный комплекс СПЭБ, геномный анализ, сальмонеллы.

E.V.Naidenova, S.A.Portenko, E.S.Kazakova, I.G.Karnaukhov, A.V.Cherkasov, S.A.Shcherbakova, V.V.Kutyrev

Experience in Genome Analysis Use in SAET Mobile Complex Facilities

Russian Research Anti-Plague Institute, Saratov, Russian Federation

Described is the first-ever experience in genome analysis use in SAET mobile complex facilities, obtained during the XXVII World-wide Summer Universiade in Kazan, 2013. Carried out was 16S rRNA sequencing of *Salmonella enteric* strain isolated from an infected. For that matter, employed was "MicroSEQ 500 16S rDNA Bacterial Identification Kits" (Applied Biosystems, USA), which allows for sequencing of DNA fragments (500 bp) of 16S rRNA gene in the bacteria under investigation.

Key words: SAET mobile complex, genome analysis, Salmonella.

Новые технологии секвенирования ДНК дают возможность достаточно быстро и с высокой эффективностью определять особенности строения бактериальных геномов, что позволяет выявить некультивируемые или труднокультивируемые формы бактерий, установить таксономическое положение ранее неизвестных микроорганизмов, провести идентификацию выделенных бактериальных штаммов. Это особенно важно при проведении оперативных исследований, выполняемых как в стационарных лабораториях, так и в лабораториях мобильных формирований, в том числе мобильного комплекса СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб» (МК СПЭБ).

Во время подготовки и проведения XXVII Всемирной летней Универсиады-2013 в Казани был задействован МК СПЭБ РосНИПЧИ «Микроб» в рамках обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и для усиления лабораторной и противоэпидемической служб. МК СПЭБ оснащен современным оборудованием для проведения диагностических исследований, в том числе и геномного анализа.

В ходе проведения диагностических исследований классическим бактериологическим методом из фекалий от больного с симптомами острой кишечной инфекции был выделен штамм *Salmonella enterica* № 26. Исследуемый материал засеивали методом истощения на плотные питательные среды: агар Эндо, висмут-сульфитный агар (ВСА), среда Плоскирева и инкубировали при температуре (37±1) °С до появления видимого роста. В качестве среды обогащения

использовали селенитовый бульон (в соотношении 1:5), через 6 ч инкубации при температуре (37±1) °С проводили высевы на среду Эндо и ВСА. При просмотре посевов отбирали подозрительные колонии, каждую из которых отсеивали на среду Клигlera для учета ферментативных свойств и на скошенный агар Хоттингера (рН 7,2) для изучения биохимических и серологических свойств. Для определения фаголизательности культуры посевы производили на чашки с агаром Хоттингера, рН 7,2.

Идентификацию родовой принадлежности по биохимической активности проводили с использованием тест-системы API 20E и ПО APIweb (BioMerieux, Франция). Исследуемый штамм идентифицирован как *Salmonella spp.* с вероятностью 89,0 %. Тест на фаголизательность сальмонеллезным бактериофагом был положительным. Серологическое типирование осуществляли в реакции агглютинации на стекле с моно- и поливалентными О- и Н-сыворотками. Для реакции агглютинации с О-сыворотками культуру отбирали с верхней части скошенного агара, для агглютинации с Н-сыворотками – конденсат с нижней части скошенного агара. Выделенная культура агглютинировалась на ++++ в реакции с поливалентной сывороткой основных групп (А, В, С, D, Е), О-6, О-7, О-9, О-12, О-vi и не агглютинировалась с сыворотками О-1, Н-f, Н-g, Н-m. Полученные результаты не позволили отнести выделенную культуру ни к одной из групп А, В, С, D или Е в соответствии со схемой классификации сальмонелл по Кауффман-Уайта.

Для дальнейшей идентификации выделенного

штамма был применен геномный анализ. С этой целью использовали набор «MicroSEQ 500 16S rDNA Bacterial Identification Kits» (Applied Biosystems, США), который позволяет амплифицировать и секвенировать фрагменты ДНК (500 пар нуклеотидов) гена 16S рРНК исследуемых бактерий. Колонии выращивали на агаре Хоттингера (рН 7,2). ДНК выделяли из изолированных колоний, ресуспендированных в 100 мкл стерильной дистиллированной воды, с использованием набора для выделения «GeneJET PCR Purification Kit» (Fermentas, США) в соответствии с прилагаемым протоколом. Для проведения реакции амплификации использовали стандартный набор «FAST MicroSEQ 500 16S rDNA PCR Kit». Амплификацию проводили в соответствии с инструкцией к набору с помощью амплификатора «БИС112» (НовосибБиоПрибор, Россия). Результаты реакции учитывали методом электрофореза в 2 % агарозном геле. Продукты амплификации очищали набором «CentriSep Column» (Applied Biosystems, США).

Геномный анализ фрагментов амплификации осуществляли с использованием циклического секвенирования по методу Сенгера на амплификаторе «БИС112» (НовосибБиоПрибор, Россия), с последующей очисткой продуктов амплификации на колонках с сефадексом «CentriSep Column» (Applied Biosystems, США), далее полученные образцы анализировали методом капиллярного электрофореза на приборе «ABI-310 PRISM™ Genetic Analyzer» (Applied Biosystems, США).

Сравнительный анализ полученных нуклеотидных последовательностей проводили с использованием алгоритма BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) и программного обеспечения MEGA 5.0. В результате работы были получены нуклеотидные последовательности, на 82 % гомологичные 16S рРНК сальмонелл, что позволило идентифицировать полученный штамм как *Salmonella enterica*.

Учитывая, что традиционно применяемая для типирования сальмонелл схема Кауффман-Уайта, основанная на различиях по О-, Н- и Vi-антигенам и включающая более 2500 сероваров, требует наличия большого количества дорогостоящих сывороток для серотипирования свежесеквенированных штаммов [2, 4], поэтому для идентификации и дифференциации сальмонелл в последние годы используют геномный

анализ [1], в том числе 16S рРНК секвенирование, что позволяет значительно сократить время и трудозатраты при проведении исследований [3].

Идентификация выделенных штаммов классическими бактериологическими методами занимает от 18 до 20 ч. Время проведения анализа методом секвенирования, включая все этапы, составило 9 ч.

Таким образом, впервые в полевых условиях на базе мобильного комплекса СПЭБ были проведены исследования методом геномного анализа, в результате которых проведена идентификация по 16S рРНК штамма *Salmonella enterica*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baddam R., Thong K.L., Avasthi T.S., Shaik S., Yap K.P., Teh C.S., Chai L.C., Kumar N., Ahmed N. Whole-genome sequences and comparative genomics of *Salmonella enterica* serovar Typhi isolates from patients with fatal and nonfatal typhoid fever in Papua New Guinea. *J. Bacteriol.* 2012; 194:5122–3.
2. Guibourdenche M., Roggentin P., Mikoleit M., Fields P.I., Bockemuhl J., Grimont P.A.D., Weill F.-X. Supplement 2003–2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res. Microbiol.* 2010; 161:26–9.
3. Hellberg R.S., Haney C.J., Shen Y., Cheng C.M., Williams-Hill D.M., Martin W.B. Development of a custom 16S rRNA gene library for the identification and molecular subtyping of *Salmonella enterica*. *J. Microbiol. Methods.* 2012; 91(3):448–58.
4. Hendriksen R.S. A global *Salmonella* surveillance and laboratory support project of the World Health Organization. 4th Ed. April 2003.

References

1. Baddam R., Thong K.L., Avasthi T.S., Shaik S., Yap K.P., Teh C.S., Chai L.C., Kumar N., Ahmed N. Whole-genome sequences and comparative genomics of *Salmonella enterica* serovar Typhi isolates from patients with fatal and nonfatal typhoid fever in Papua New Guinea. *J. Bacteriol.* 2012; 194:5122–3.
2. Guibourdenche M., Roggentin P., Mikoleit M., Fields P.I., Bockemuhl J., Grimont P.A.D., Weill F.-X. Supplement 2003–2007 (No. 47) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Res. Microbiol.* 2010; 161:26–9.
3. Hellberg R.S., Haney C.J., Shen Y., Cheng C.M., Williams-Hill D.M., Martin W.B. Development of a custom 16S rRNA gene library for the identification and molecular subtyping of *Salmonella enterica*. *J. Microbiol. Methods.* 2012; 91(3):448–58.
4. Hendriksen R.S. A global *Salmonella* surveillance and laboratory support project of the World Health Organization. 4th Ed. April 2003.

Authors:

Naidenova E.V., Portenko S.A., Kazakova E.S., Karnaukhov I.G., Cherkasov A.V., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Найденова Е.В., Портенко С.А., Казакова Е.С., Карнаухов И.Г., Черкасов А.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 16.04.14.

К 70-ЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ВЛАДИМИРА ПЕТРОВИЧА ТОПОРКОВА

22 марта 2014 г. исполнилось 70 лет доктору медицинских наук, профессору, известному эпидемиологу – Топоркову Владимиру Петровичу.

Целеустремленность, неиссякаемая энергия, интерес к науке помогли Владимиру Петровичу пройти путь от эпидемиолога Черноземельского и Элистинского противочумных отделений до заведующего отделом эпидемиологии Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб».

Основные направления научной деятельности Владимира Петровича связаны с совершенствованием научно-методических основ эпидемиологического надзора, разработкой новых принципов санитарной охраны территории и методологии их реализации применительно к современным эпидемиологическим, социально-экономическим и геополитическим условиям, разработкой современной стратегии борьбы с инфекционными болезнями в рамках реализации инициатив Российской Федерации в соответствии с решениями саммитов стран «Группы восьми» и основных направлений ВОЗ по имплементации ММСП (2005 г.), разработкой современной методологии и технологии обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в зонах чрезвычайных ситуаций, в том числе возникающих в условиях стихийных бедствий и антропогенных катастроф, формированием нового научного направления в эпидемиологии – концепции широкого формата биологической безопасности.

В.П.Топорков является автором более 200 на-



учных работ, в том числе 2 коллективных монографий, 3 книг и более 50 нормативно-методических документов федерального и межгосударственного уровней внедрения. При личном участии Владимира Петровича разработаны и внедрены 3 Межгосударственные программы по борьбе с опасными инфекционными болезнями на территории государств-участников СНГ, подготовлены и проведены 11 межгосударственных научно-практических конференций.

Своим богатым научным и практическим опытом Владимир Петрович щедро делится с молодыми учеными. Под его руководством защищена одна докторская и семь кандидатских диссертаций.

За заслуги перед медицинской наукой и здравоохранением Владимир Петрович отмечен нагрудными знаками «Отличник здравоохранения», «Почетный работник Роспотребнадзора», почетным званием «Заслуженный работник здравоохранения Российской Федерации».

Коллектив Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» сердечно поздравляют Владимира Петровича Топоркова с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, счастья, долгих лет жизни, талантливых учеников и новых научных свершений на благо отечественного здравоохранения

*Редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций», весь коллектив Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» сердечно поздравляют с юбилеем **Наталью Давыдовну Пакскину**, кандидата медицинских наук, начальника Отдела организации санитарной охраны территории Управления эпидемиологического надзора Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, и желают ей счастья, здоровья и больших творческих успехов.*

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

При направлении статьи в редакцию журнала «Проблемы особо опасных инфекций» следует соблюдать следующие правила:

1. Присылать один распечатанный экземпляр статьи и электронную копию на компакт-диске или по электронной почте. Каждая статья должна иметь направление от учреждения, в котором она выполнена, экспертное заключение и лицензионный договор о предоставлении права использования произведения.

2. Размер статей (включая таблицы, рисунки, резюме и список литературы) не должен превышать у оригинальных – 8 стр. (шрифт Times New Roman, размер шрифта 12, межстрочный интервал 1,5, поля 2 см), обзоров – 12–14 стр., кратких сообщений – 4 стр. Краткие сообщения представляются без таблиц и рисунков.

3. Оригинальная статья должна состоять из разделов: материалы и методы, результаты и обсуждение. К оригинальным, проблемным статьям, обзорам и кратким сообщениям должны прилагаться резюме и ключевые слова. Резюме и ключевые слова должны быть на русском и английском языках.

4. Резюме должно отражать основное содержание статьи (не менее 100 и не более 250 слов). Для оригинальных статей резюме должно быть структурированным. В нем должны быть отражены цели, материалы и методы и выводы. Использование сокращений и условных обозначений в резюме не рекомендуется.

5. В начале статьи указываются: инициалы и фамилия авторов, название работы, названия учреждений – мест работы всех авторов, их должности и контактная информация (почтовый адрес с указанием индекса, телефон, адрес электронной почты). Статья должна быть подписана всеми авторами с указанием фамилии, имени и отчества (полностью).

6. Количество иллюстраций не должно превышать 3 (либо 3 рис., либо 3 табл., либо 3 в совокупности).

7. Место расположения таблиц и рисунков в тексте отмечать ссылками на полях (только в распечатанных экземплярах).

8. Таблицы не должны дублировать графики, должны иметь краткое название, быть компактными, с «шапками», точно отражающими содержание граф. Числа в таблицах должны быть статистически обработаны. Цифровой материал из таблиц не должен повторяться в тексте статьи.

9. Рисунки должны быть четкими. Количество обозначений должно быть сведено к минимуму. Все объяснения следует давать в подрисуночной подписи.

10. Родовые и видовые названия микроорганизмов, инфраподвидовые категории, наименования семейств должны соответствовать принятым Международным таксономическим комитетом («Руководство по систематике бактерий Берги», 9 изд.). Первый раз название микроорганизма пишется полностью (*Shigella flexneri*), далее род – только одной прописной буквой, вид – полностью со строчной (*S. flexneri*). Наименования семейств пишутся полностью.

11. Сокращение слов, имен, названий (кроме общепринятых сокращений, мер физических и математических величин и терминов) допускается только с первоначальным указанием полного названия.

12. Математические формулы должны быть тщательно выверены.

13. В списке литературы (в оригинальных статьях – не более 15 источников, проблемных и обзоров – не более

50, кратких сообщениях – не более 5–8) приводятся работы отечественных и зарубежных авторов за последние 10 лет и печатаются в алфавитном порядке (сначала русские авторы, потом – иностранные). В тексте дается ссылка на порядковый номер списка (в квадратных скобках), а не на фамилию и годы.

В списке литературы приводятся авторы работы, название статьи, название журнала или сборника, год, номер, страницы. Названия журналов должны быть сокращены в соответствии со стилем, принятым в Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov>). Для книг и патентов давать точное название.

Например, статьи в журналах:

Halpern S.D., Ubel P.A., Caplan A.L. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. N. Engl. J. Med. 2002; 347(4):284–7.

Необходимо перечислить всех авторов статьи.

Книги и другие монографии

Физические лица в качестве авторов:

Martin E.W. Hazards of medication. 2nd ed. Ruskin A., Napke E., Alexander S., Kelsey F.O., Farage D.J., Mills D.H., Elkas R.W., editors. Philadelphia: Lippincott; 1978. 686 p.

Редакторы, составители в качестве авторов:

Celli L., editor. The elbow: traumatic lesions. Warr A., translator. Vienna (Austria): Springer-Verlag; 1991. 203 p.

Ссылки должны быть сверены авторами с оригинальными документами. Автор несет ответственность за правильность библиографических данных.

Не допускаются ссылки на издания, недоступные для большинства читателей. К ним относятся приказы, распоряжения, ведомственные издания и инструкции, ГОСТы, ТУ, тезисы конференций, симпозиумов, пленумов, съездов, авторефераты докторских и кандидатских диссертаций и неопубликованные работы.

14. Фамилии иностранных авторов при упоминании в тексте статьи даются в иностранной транскрипции.

15. Требования к электронным вариантам статей: файлы с текстом и подрисуночными подписями должны быть в формате DOC (редактор Microsoft Word) или RTF; рисунки и фотографии – в отдельных файлах в формате TIFF (разрешение – 300 пикс/дюйм); диаграммы и графики должны быть выполнены в программе Excel (в отдельных файлах в формате xls). Рисунки, фотографии, диаграммы и графики не вставлять в текст в программе Microsoft Word.

16. При невыполнении настоящих правил статьи не принимаются и отсылаются авторам на дооформление.

17. Редакция оставляет за собой право редактировать статьи, сокращать или исправлять, а также публиковать их в виде кратких сообщений (4–5 стр. текста с резюме и литературой без рисунков и таблиц). Вся работа проводится по авторскому оригиналу. После сокращения работа направляется на согласование автору.

18. Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование.

19. В случае отклонения статьи по рецензии редакция направляет автору мотивированный отказ.

20. Публикация – бесплатная.

Статьи направлять по адресу:

410005, Саратов, Университетская, 46.

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб».

Тел. (845-2) 51-82-22. Факс (845-2) 51-52-12.

E-mail: jour@microbe.ru