

ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

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

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

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

Выпуск 1

2023

САРАТОВ

**Подписной индекс в каталоге
«Пресса России» – 29448**
Стоимость подписки – от 1190,70 руб.

Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи и массовых
коммуникаций
Свидетельство ПИ № ФС77-74153
от 29 октября 2018 г.

Журнал «Проблемы особо опасных
инфекций» является рецензируемым
изданием

Все рукописи проходят проверку
системой «Антиплагиат»

Журнал «Проблемы особо опасных
инфекций» индексируется в РИНЦ
и Scopus

Ответственность за достоверность
информации, содержащейся
в рекламных материалах,
несут рекламодатели

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

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

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

Проблемы особо опасных инфекций.
2023. Вып. 1. 166 с.

Подписано в печать 31.03.2023
Формат 60×84 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 19,3
Заказ 1633-23

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

© Федеральное казенное учреждение науки
«Российский научно-исследовательский
противочумный институт «Микроб»
Федеральной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека, 2023

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

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

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

Абдикаримов С.Т., докт. мед. наук, доцент (Бишкек, Кыргызстан)
Мотин В.Л., профессор (Галвестон, США)
Титов Л.П., докт. мед. наук, профессор, член-корр. НАН Беларуси,
иностранный член РАН (Минск, Беларусь)
Цогбадрах Нямдорж, канд. мед. наук (Улаанбаатар, Монголия)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

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

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

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

Ответственный секретарь

Т.Б. Караваева
Тел. (845-2) 51-82-22. Факс (845-2) 51-52-12
E-mail: jour@microbe.ru

Problemy Osobo Opasnykh Infektsii

Problems of Particularly Dangerous Infections

2023, Issue 1

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

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

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

Editorial Council

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Titov L.P., Doctor of Medical Science, Professor,
Corresponding Member of the NAS of Belarus, Foreign
Member of the RAS (Minsk, Belarus)

Toporkov A.V., Doctor of Medical Science (Volgograd,
Russia)

Tsogbadrakh Namdorj, Ph. D. (Ulaanbaatar, Mongolia)

Editorial Board

Alkhovsky S.V., Doctor of Biological Science,
Corresponding Member of the RAS (Moscow, Russia)

Andaev E.I., Doctor of Medical Science (Irkutsk, Russia)

Bugorkova S.A., Doctor of Medical Science (Saratov,
Russia)

Guliy O.I., Doctor of Biological Science (Saratov,
Russia)

Eroshenko G.A., Doctor of Biological Science (Saratov,
Russia)

Zharnikova I.V., Doctor of Biological Science
(Stavropol, Russia)

Karpunina L.V., Doctor of Biological Science, Professor
(Saratov, Russia)

Kras'ko A.G., Ph. D., Associate Professor (Minsk,
Belarus)

Kruglikov V.D., Doctor of Medical Science (Rostov-on-
Don, Russia)

Maletskaya O.V., Doctor of Medical Science, Professor
(Stavropol, Russia)

Meka-Mechenko T.V., Doctor of Medical Science
(Almaty, Kazakhstan)

Mikero A.N., Doctor of Biological Science (Saratov,
Russia)

Pen'evskaya N.A., Doctor of Medical Science, Associate
Professor (Omsk, Russia)

Popov N.V., Doctor of Biological Science, Professor
(Saratov, Russia)

Sayapina L.V., Doctor of Medical Science (Moscow,
Russia)

Smirnova N.I., Doctor of Biological Science, Professor
(Saratov, Russia)

Shemyakin I.G., Doctor of Biological Science, Professor
(Obolensk, Russia)

Shcherbakova S.A., Doctor of Biological Science
(Saratov, Russia)

Toporkov V.P., Doctor of Medical Science, Professor
(Saratov, Russia)

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

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

Editorial Office Address:

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

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Обзоры

Андаев Е.И., Никитин А.Я., Толмачёва М.И., Зарва И.Д., Яценко Е.В., Матвеева В.А., Сидорова Е.А., Колесникова В.Ю., Балахонов С.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г. 6

Вагайская А.С., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Бактериальные тени возбудителей особо опасных инфекций 17

Кривошеина Е.И., Карташов М.Ю., Tran Thi Nhai, Найденова Е.В. Новые данные о распространении вируса Нипах (*Henipavirus. Paramyxoviridae*) и методах его индикации и идентификации 27

Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа А.В., Борзенко М.А., Пичурина Н.Л., Павлович Н.В., Носков А.К., Транквилевский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Множественная лекарственная устойчивость клеток *F. tularensis* subsp. *holarctica*, анализ эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по туляремии на территории Российской Федерации в 2022 г. и прогноз на 2023 г. 37

Марченко В.Ю., Святченко С.В., Онхонова Г.С., Гончарова Н.И., Рыжиков А.Б., Максютков Р.А., Гаврилова Е.В. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России и мире в 2022 г. 48

Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В. Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. 56

Попов Н.В., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Иванова А.В., Марцоха К.С., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Чипанин Е.В., Холин А.В., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Ашибокков У.М., Газиева А.Ю., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Совершенствование эпидемиологического надзора за природными очагами чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2023 г. 67

Путинцева Е.В., Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Батурин А.А., Мачнева А.Ю., Антонов А.С., Зарубин Н.А., Топорков А.В. Лихорадка Западного Нила в Российской Федерации в 2022 г., прогноз заболеваемости на 2023 г. 75

Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифионов В.А., Зиятдинов В.Б., Маггеррамов Ш.В., Хусаинова Р.М., Транквилевский Д.В. Анализ эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г. 85

Оригинальные статьи

Иванова А.В., Сафронов В.А., Зубова А.А., Попов Н.В., Кожанова О.И., Матвеева Н.И., Вяткин И.Н., Щербакowa С.А., Кутырев В.В. Методические подходы к оценке экономического ущерба, связанного с заболеваемостью геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Российской Федерации 96

Reviews

Andaev E.I., Nikitin A.Ya., Tolmacheva M.I., Zarva I.D., Yatsmenko E.V., Matveeva V.A., Sidorova E.A., Kolesnikova V.Yu., Balakhonov S.V. Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2022 and Forecast of its Development for 2023

Vagaiskaya A.S., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. Bacterial Ghosts of the Causative Agents of Particularly Dangerous Infections

Krivosheina E.I., Kartashov M.Yu., Tran Thi Nhai, Naidenova E.V. New Data on the Dissemination of the Nipah Virus (*Henipavirus. Paramyxoviridae*) and Methods of its Indication and Identification

Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Kulikalova E.S., Kholin A.V., Mazepa A.V., Borzenko M.A., Pichurina N.L., Pavlovich N.V., Noskov A.K., Trankvilevsky D.V., Khranov M.V., Dyatlov I.A. Multidrug Resistance of *F. tularensis* subsp. *holarctica*, Epizootiological and Epidemiological Analysis of the Situation on Tularemia in the Russian Federation in 2022 and Forecast for 2023

Marchenko V.Yu., Svyatchenko S.V., Onkhonova G.S., Goncharova N.I., Ryzhikov A.B., Maksyutov R.A., Gavrilo E.V. Review on the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza around the World and in Russia in 2022

Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Mironova L.V., Monakhova E.V., Soboleva E.G., Chemisova O.S., Vodop'yanov A.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Men'shikova E.A., Podoyntsina O.A., Ezhova M.I., Evteev A.V. Cholera: Analysis and Assessment of Epidemiological Situation around the World and in Russia (2013–2022). Forecast for 2023

Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Ivanova A.V., Martsokha K.S., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Kholin A.V., Lopatin A.A., Dubyansky V.M., Ashibokov U.M., Gazieva A.Yu., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. Improvement of Epidemiological Surveillance of Natural Plague Foci of the Russian Federation and the Forecast of Their Epizootic Activity for 2023

Putintseva E.V., Udovichenko S.K., Nikitin D.N., Boroday N.V., Baturin A.A., Machneva A.Yu., Antonov A.S., Zarubin N.A., Toporkov A.V. West Nile Fever in the Russian Federation in 2022, the Incidence Forecast for 2023

Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Magerramov Sh.V., Khusainova R.M., Trankvilevsky D.V. Analysis of the Epidemiological Situation of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Russian Federation in 2022 and Forecast of its Development for 2023

Original articles

Ivanova A.V., Safronov V.A., Zubova A.A., Popov N.V., Kozhanova O.I., Matveeva N.I., Vyatkin I.N., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Methodological Approaches to Assessing the Economic Damage Associated with the Incidence of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Russian Federation

- Куклина Г.В., Ипатов С.С., Горшков А.С., Печенкин Д.В., Еремкин А.В., Кузнецовский А.В., Туманов А.С., Дармов И.В.** Получение и характеристика гибридом-продуцентов моноклональных антител к антигенам коронавируса SARS-CoV-2 105
- Миронова Л.В., Бондарюк А.Н., Сидорова Е.А., Боцалгин Н.О., Федотова И.С., Букин Ю.С., Пономарева А.С., Андаев Е.И., Балахонов С.В.** Популяционная геномика SARS-CoV-2 в субъектах Сибирского и Дальневосточного федеральных округов 111
- Никитин А.Я., Сорокина О.В., Андаев Е.И., Харлампьева Н.Ю., Балахонов С.В.** Влияние COVID-19 на заболеваемость людей трансмиссивными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами (на примере Красноярского края) 120
- Никифоров К.А., Оглодин Е.Г., Макашова М.А., Балькова А.Н., Уткин Д.В., Куклева Л.М., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В.** Разработка комплексной системы молекулярно-генетической идентификации штаммов *Yersinia pestis* 126
- Осина Н.А., Ситмбетов Д.А., Булгакова Е.Г., Чекареева С.С., Сазанова Е.В., Сеничкина А.М., Ляшова О.Ю., Осин А.В., Шчербакова С.А.** Внутривидовая дифференциация штаммов *Francisella tularensis* методом мультилокусной полимеразной цепной реакции с учетом результатов в режиме реального времени 132
- Панферова Ю.А., Токарев Н.К., Блинова О.В., Нафеев А.А., Сибеева Э.И.** Типирование некультивируемых изолятов *Coxiella burnetii* и *Coxiella*-подобных микроорганизмов, ассоциированных с клещами, с применением анализа нуклеотидной последовательности гена *16S* рРНК... 142
- Сеничкина А.М., Шарова И.Н., Магерамов Ш.В., Захаров К.С., Кузнецов А.А., Чекашов В.Н., Поршаков А.М., Корнеев М.Г., Проскурякова М.В., Кислицын Ю.В., Беляев А.И., Ким И.Б., Нурмагамбетова Л.Б., Козулина И.Г., Башмаков А.А., Башмакова А.А., Ковалевская А.А., Адилев Р.И., Григорьев М.П., Куклев Е.В., Гражданов А.К.** Результаты совместного эпизоотологического обследования трансграничных с Российской Федерацией природных очагов чумы и потенциально очаговых территорий Республики Казахстан в 2019–2022 гг. 148
- Шевцов А.Н., Пермяков С.А., Хапаев Н.Г., Зиганшин Р.Ш.** Новый способ вакцинации против сибирской язвы 157
- Kuklina G.V., Ipatov S.S., Gorshkov A.S., Pechenkin D.V., Eremkin A.V., Kuznetsovsky A.V., Tumanov A.S., Darmov I.V.** Obtaining and Characterization of Hybridomas Producing Monoclonal Antibodies against Coronavirus SARS-CoV-2 105
- Mironova L.V., Bondaryuk A.N., Sidorova E.A., Bochalgin N.O., Fedotova I.S., Bukin Yu.S., Ponomareva A.S., Andayev E.I., Balakhonov S.V.** Population Genomics of SARS-CoV-2 in the Constituent Entities of Siberian and Far Eastern Federal Districts 111
- Nikitin A.Ya., Sorokina O.V., Andayev E.I., Kharlamp'eva N.Yu., Balakhonov S.V.** The Effect of COVID-19 on the Incidence of Human Vector-Borne Infections Transmitted by Ixodid Ticks (Illustrated by the Example of Krasnoyarsk Territory) 120
- Nikiforov K.A., Oglochin E.G., Makashova M.A., Balykova A.N., Utkin D.V., Kukleva L.M., Eroshenko G.A., Kutyrev V.V.** Development of an Integrated System for Molecular-Genetic Identification of *Yersinia pestis* Strains 126
- Osina N.A., Sitmbetov D.A., Bulgakova E.G., Chekmareva S.S., Sazanova E.V., Senichkina A.M., Lyashova O.Yu., Osin A.V., Shcherbakova S.A.** Intraspecific Differentiation of *Francisella tularensis* Strains Using Multilocus Real-Time Polymerase Chain Reaction 132
- Panferova Yu.A., Tokarevich N.K., Blinova O.V., Nafayev A.A., Sibayeva E.I.** Typing of Uncultured Isolates of *Coxiella burnetii* and *Coxiella*-Like Microorganisms Associated with Ticks Using *16S* rRNA Gene Nucleotide Sequence Analysis 142
- Senichkina A.M., Sharova I.N., Magerramov Sh.V., Zakharov K.S., Kuznetsov A.A., Chekashov V.N., Porshakov A.M., Korneev M.G., Proskuryakova M.V., Kislitsyn Yu.V., Belyayev A.I., Kim I.B., Nurmagambetova L.B., Kozulina I.G., Bashmakov A.A., Bashmakova A.A., Kovalevskaya A.A., Adilov R.I., Grigor'ev M.P., Kuklev E.V., Grazhdanov A.K.** Results of a Joint Epizootiological Survey of Transboundary Natural Plague Foci of the Russian Federation and Potentially Focal Territories of the Republic of Kazakhstan in 2019–2022 148
- Shevtsov A.N., Permyakov S.A., Khapaev N.G., Ziganshin R.Sh.** New Method of Vaccination Against Anthrax 157

Памяти коллег

- Памяти Алексея Константиновича Адамова 164
- Памяти Виктора Егоровича Безсмертного 165
- Правила для авторов 166

Revering the Memory of the Colleagues

- Of blessed memory of Aleksey K. Adamov 164
- Of blessed memory of Viktor E. Bezsmertny 165
- To authors 166

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-6-16

УДК 616.98:578.833.2(470)

Е.И. Андаев¹, А.Я. Никитин¹, М.И. Толмачёва¹, И.Д. Зарва^{1,2}, Е.В. Яцменко³, В.А. Матвеева⁴,
Е.А. Сидорова¹, В.Ю. Колесникова¹, С.В. Балахонов¹**Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г.**

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

Цель обзора – прогноз заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ) в Российской Федерации на 2023 г. на основе анализа эпидемиологической ситуации по КВЭ за 2012–2022 гг. В течение десятилетия наибольшая заболеваемость КВЭ наблюдалась в Сибирском, Приволжском и Уральском федеральных округах. В 2022 г. на второе место вышел Уральский федеральный округ, почти в два раза уменьшилась доля Северо-Западного федерального округа. Ранжирование территорий по заболеваемости КВЭ на уровне субъектов позволило отнести 16 из них к группе регионов с высокой эпидемической опасностью, 14 – к средней, 18 – к низкой. В 2022 г. заболеваемость КВЭ в стране возросла в 1,9 раза по сравнению с 2021 г. и составила 1,34 ‰. Несмотря на рост заболеваемости КВЭ в 2022 г., значимый тренд к ее снижению сохранился. Вирусофорность клещей, снятых с людей, в 2022 г. была ниже среднеевропейских значений при их изучении методами ПЦР и ИФА. Инфицированность клещей с объектов окружающей среды при использовании ПЦР была выше среднеевропейских значений, а ИФА – ниже. В 2022 г. против КВЭ привито 3,5 млн человек (вакцинировано и ревакцинировано). Экстренной профилактикой иммуноглобулином охвачено 24,5 % от числа пострадавших от присасывания клещей (дети – 34,3 %). Прогноз заболеваемости КВЭ на 2023 г. остается благоприятным. В стране ожидается снижение инцидентности КВЭ до (0,83±0,298) ‰. Вместе с тем среди пострадавших от присасывания клещей в 2022 г. произошел рост не только числа случаев КВЭ, но и доли клинических проявлений болезни, а также летальных случаев. Если эта закономерность сохранится, то заболеваемость КВЭ в 2023 г. будет выше прогнозируемой, особенно в субъектах с сильным ростом доли людей, заболевших КВЭ, среди пострадавших от присасывания клещей.

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

Корреспондирующий автор: Андаев Евгений Иванович, e-mail: e.andaev@gmail.com.

Для цитирования: Андаев Е.И., Никитин А.Я., Толмачёва М.И., Зарва И.Д., Яцменко Е.В., Матвеева В.А., Сидорова Е.А., Колесникова В.Ю., Балахонов С.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:6–16. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-6-16

Поступила 27.02.2023. Отправлена на доработку 15.03.2023. Принята к публ. 22.03.2023.

E.I. Andaev¹, A.Ya. Nikitin¹, M.I. Tolmacheva¹, I.D. Zarva^{1,2}, E.V. Yatsmenko³, V.A. Matveeva⁴,
E.A. Sidorova¹, V.Yu. Kolesnikova¹, S.V. Balakhonov¹**Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2022 and Forecast of its Development for 2023**

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

²Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation;

³Federal Service for Surveillance on Consumer's Rights Protection and Human Well-being, Moscow, Russian Federation;

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

Abstract. The aim of this review is to predict the incidence of tick-borne viral encephalitis (TBVE) in the Russian Federation for 2023 based on analysis of the epidemiological situation on TBVE during 2012–2022. Over the decade, the highest incidence of TBVE was registered in the Siberian, Volga and Ural Federal Districts. In 2022, the Ural Federal District took the second place, the share of the North-Western one decreased by almost two times. Ranking of territories according to the rate of TBVE incidence at the level of constituent entities has made it possible to attribute 16 of them to the group of regions with a high epidemic risk, 14 – to medium epidemic risk, and 18 – to a low epidemic risk. In 2022, the incidence of TBVE in Russia increased by 1.9 times compared to 2021, and amounted to 1.34 ‰. Despite the increase in the incidence of TBVE in 2022, a significant downward trend has been retained. The rate of infection of ticks removed from humans in 2022 was below the long-term average values. PCR and ELISA were applied for tests. Infection rate of ticks from environmental objects when studied by PCR was higher than the multi-year average values, and lower when studied by ELISA. In 2022, 3.5 million people were immunized against TBVE (vaccinated and revaccinated). Emergency immunoprophylaxis with immunoglobulin covered 24.5 % of the people affected by tick bites (children accounted for 34.3 %). The forecast for TBVE incidence in Russia in 2023 remains favorable. It is expected to be reduced to (0.83±0.298) ‰. However, there was not only an increase in the number of TBVE cases, but also the proportion of

clinical manifestations of the disease, as well as lethal outcomes among those who suffered from tick bites in 2022. If this pattern holds, the incidence of TBVE in 2023 will be higher than predicted, especially in the constituent entities where the share of individuals with manifest forms among those who suffered from tick bites has increased greatly.

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

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

Corresponding author: Evgeny I. Andaev, e-mail: e.andaev@gmail.com.

Citation: Andaev E.I., Nikitin A.Ya., Tolmacheva M.I., Zarva I.D., Yatsmenko E.V., Matveeva V.A., Sidorova E.A., Kolesnikova V.Yu., Balakhonov S.V. Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2022 and Forecast of its Development for 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 1:6–16. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-6-16

Received 27.02.2023. Revised 15.03.2023. Accepted 22.03.2023.

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

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

Tolmacheva M.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5710-5311>

Zarva I.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4225-5998>

Sidorova E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0279-5831>

Kolesnikova V.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2726-7050>

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

Клещевой вирусный энцефалит (КВЭ) – острая вирусная природно-очаговая трансмиссивная инфекция, возбудитель которой передается главным образом иксодовыми клещами; поражает центральную нервную систему и отличается полиморфизмом клинического течения [1]. Природные очаги КВЭ выявлены в Северной Евразии на территории Великобритании, Восточной Франции, Нидерландов и Норвегии, в странах Центральной и Восточной Европы, России, Казахстане, Монголии, Китае, Южной Корее и Японии. Заболеваемость КВЭ регистрируется в 35 странах Европы и Азии. Единичные случаи КВЭ известны в Бельгии, Боснии и Герцеговине, Болгарии, Дании, Молдавии, Нидерландах, Венгрии, Румынии, Сербии. На основе данных [2] с применением расчета 95 % доверительного интервала (ДИ) нами проведено ранжирование по среднемуголетнему показателю заболеваемости (СМП) КВЭ за 2012–2021 гг. эндемичных территорий, что позволило выделить страны с относительно низкой инцидентностью (до 1,3 случая на 100 тыс. населения, ‰_{0000}) – Казахстан, Норвегия, Германия, Греция, Польша, Италия, Монголия, Австрия, Беларусь, Финляндия; средней (1,3–5,9 ‰_{0000}) – Российская Федерация, Словакия, Швейцария, Лихтенштейн, Швеция, Чехия; высокой (свыше 6,0 ‰_{0000}) – Словения (6,3 ‰_{0000}), Эстония (7,4 ‰_{0000}) и Латвия (17,2 ‰_{0000}). Причем ситуация в ряде регионов остается напряженной: тенденция к росту заболеваемости за рассматриваемый период времени наблюдается в Швеции, Австрии, Финляндии, Швейцарии, Лихтенштейне и Норвегии. Таким образом, неблагоприятная по заболеваемости КВЭ ситуация проявляется в странах, как расположенных в непосредственной близости к Российской Федерации, так и в трансграничных природных очагах.

В Российской Федерации эндемичными по КВЭ являются 48 субъектов, на территории которых проживают около 66 млн человек. С начала XXI в. на протяжении двух десятилетий в стране происходит снижение заболеваемости КВЭ, что не исключает наличие субъектов со стабильной или даже ухудшающейся эпидемиологической обстановкой. К последним можно отнести Кировскую, Челябинскую, Тюменскую области, Республику Тыва.

По данным лабораторных исследований клинического и секционного материала показано, что заболевания КВЭ в РФ вызывает вирус трех субтипов: дальневосточного, сибирского и европейского. Роль остальных субтипов (байкальского, а также предполагаемых гималайского и единственного изолята «178-79» [3–7]) вируса в инфекционной патологии требует дальнейшего изучения.

На протяжении более чем 80-летнего периода изучения КВЭ выявлены изменения и преобразования, связанные с усилением мер специфической и неспецифической профилактики, антропогенной трансформацией природных очагов, вовлечением в эпидемический процесс городских жителей, и, как следствие, изменения в эпидемиологии и клинической картине КВЭ, что прослеживается на разных территориях [8].

Необходимо отметить, что после продолжительного в течение XXI в. снижения заболеваемости КВЭ в РФ в 2022 г. произошел рост активности эпидемического процесса, что может быть началом очередного макроцикла и требует усиления надзора за самой опасной нозологией, связанной с иксодовыми клещами. Ближайшие два-три года будут крайне важны для понимания складывающейся на территории РФ эпидемиологической ситуации по КВЭ.

Цель работы – прогноз заболеваемости КВЭ в Российской Федерации в 2023 г. на основе анализа эпидемиологической ситуации по клещевому вирусному энцефалиту за 2012–2022 гг.

Ретроспективный эпидемиологический анализ материалов о заболеваемости КВЭ в РФ проведен на основе данных государственной статистической отчетности «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за январь – декабрь 2022 г. в субъектах страны (форма № 1) и «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» за 2012–2021 гг. (форма № 2). Использована информация, получаемая Референс-центром ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора по мониторингу клещевого вирусного энцефалита из органов и учреждений Роспотребнадзора субъектов РФ. Для деления субъектов РФ на группы низкого, среднего и высокого эпидемиологического риска проявлений КВЭ ис-

пользован расчет границ 95 % доверительного интервала по значениям СМП заболеваемости.

В работе применены стандартные методы вариационной статистики (расчет среднего значения ($\bar{X}$), величины ошибки средней арифметической (m), регрессионный анализ, нахождение границ доверительного интервала и др.) [9]. Районы со значениями инцидентности ниже ($\bar{X} - t \cdot m$), где t – величина критерия Стьюдента, относили к группе низкого эпидемиологического риска; входящие в интервал ($\bar{X} - t \cdot m$) > X_i < ($\bar{X} + t \cdot m$) – к группе среднего риска; со значениями выше ($\bar{X} + t \cdot m$) – к группе высокого эпидемиологического риска. Значимыми считали различия при уровне вероятности (P) ниже 0,05. Все расчеты выполнены в программе Excel.

Заболеваемость КВЭ за 2012–2022 гг. С начала XXI в. в РФ наблюдается устойчивое снижение заболеваемости КВЭ, которое продолжилось в анализируемый период (2012–2022 гг.). (рис. 1).

СМП заболеваемости КВЭ в РФ за десятилетний период 2012–2021 гг. составил 1,3 ‰, при темпе снижения 9,7 % (коэффициент детерминации R^2 для угла наклона линейного тренда равен 84,7 %; $P < 0,001$). Доля детей в структуре заболеваемости остается постоянной и составляет 12–14 % ежегодно.

Определяющую роль в формировании заболеваемости КВЭ по стране имеют: Сибирский (СФО), Приволжский (ПФО), Уральский (УФО) федеральные округа. В 2022 г. на второе место вышел УФО и почти в два раза уменьшилась доля Северо-Западного федерального округа (СЗФО) в сравнении со средне-многолетним значением.

Для сравнительной оценки степени риска заболевания КВЭ проведено ранжирование субъектов РФ по СМП за 2012–2021 гг. К группе территорий, где заболеваемость КВЭ не регистрируется, отнесены 9 субъектов Центрального (ЦФО), 6 субъектов Южного (ЮФО), все субъекты Северо-Кавказского (СКФО) федеральных округов, один субъект ПФО (Чувашская Республика), а также Камчатский край и

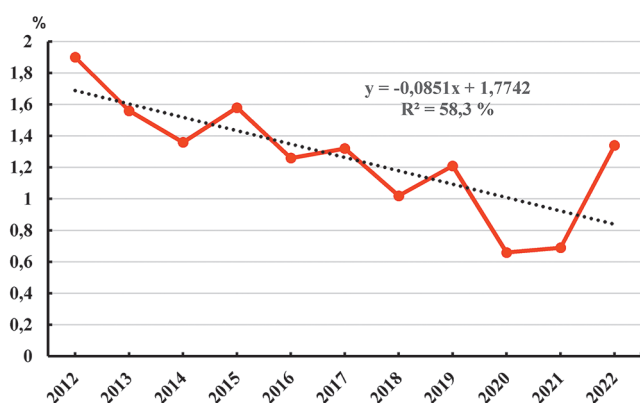


Рис. 1. Динамика заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в Российской Федерации за 2012–2022 гг. на 100 тыс. населения

Fig. 1. Dynamics of the incidence of tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2012–2022 per 100 thousand population

Чукотский автономный округ (АО). В Ненецком АО зарегистрирован один случай КВЭ в 2020 г., вероятно, завозного происхождения.

Ранжирование территорий по СМП заболеваемости КВЭ с применением 95 % ДИ позволило выделить группы субъектов низкого (от 0,0 до 0,79 ‰), среднего (0,8–3,37 ‰) и высокого (более 3,37 ‰) уровней заболеваемости (рис. 2).

К субъектам высокого эпидемиологического риска отнесены 16 регионов: в СФО – Красноярский край (10,8 ‰), Республика Алтай (8,1 ‰), Томская область (7,5 ‰), республики Тыва (7,1 ‰) и Хакасия (5,4 ‰), Новосибирская (5,0 ‰), Кемеровская (4,1 ‰) и Иркутская (3,8 ‰) области; ПФО – Кировская область (7,2 ‰), Пермский край (5,0 ‰); СЗФО – Архангельская (4,7 ‰), Вологодская (4,5 ‰) области, Республика Карелия (4,1 ‰); УФО – Тюменская область (4,3 ‰); ЦФО – Костромская (4,3 ‰) область; Дальневосточный федеральный округ (ДФО) – Республика Бурятия (3,6 ‰).

В группу со средним уровнем заболеваемости включены 14 территорий: в ПФО – Удмуртская Республика (3,4 ‰), Республика Башкортостан (0,8 ‰); в УФО – Курганская (3,3 ‰), Свердловская (2,5 ‰), Челябинская (2,2 ‰) области; в ДФО – Забайкальский (3,2 ‰) и Приморский (1,0 ‰) края; в СЗФО – Республика Коми (1,6 ‰), Ленинградская область (1,3 ‰), г. Санкт-Петербург (1,0 ‰), Псковская (1,2 ‰) и Калининградская (1,0 ‰) области; в СФО – Омская область (1,4 ‰) и Алтайский край (1,3 ‰).

Группа субъектов с низким уровнем заболеваемости включает 17 территорий: в УФО – Ханты-Мансийский АО – Югра (0,79 ‰); в ЦФО – Ярославская (0,76 ‰), Тверская (0,40 ‰), Ивановская (0,20 ‰) и Московская (0,02 ‰) области; в СЗФО – Новгородская область (0,66 ‰); в ДФО – Еврейская автономная область (0,53 ‰), Сахалинская область (0,49 ‰), Хабаровский край (0,40 ‰), Амурская область (0,17 ‰); в ПФО – Оренбургская (0,27 ‰), Ульяновская (0,11 ‰) и Нижегородская (0,09 ‰) области, республики Марий Эл (0,07 ‰) и Татарстан (0,06 ‰), Самарская область (0,04 ‰); в ЮФО – Республика Крым (0,08 ‰).

Внутри каждого субъекта эпидемиологическая обстановка по КВЭ крайне неоднородна, и для формирования риск-ориентированного подхода к профилактике болезни необходим анализ эпидемиического процесса на уровне административно-территориальных образований регионов РФ [10].

Эпидемиологическая ситуация по КВЭ в 2022 г. В эпидемический сезон в апреле – сентябре 2022 г. на территории РФ в медицинские организации (МО) по поводу укусов клещами обратились 502764 человека (345,40 ‰), что на 6,7 % больше средне-многолетнего показателя (469950), а также больше на 12,6 % в сравнении с 2021 г. – 446282 (309,49 ‰).

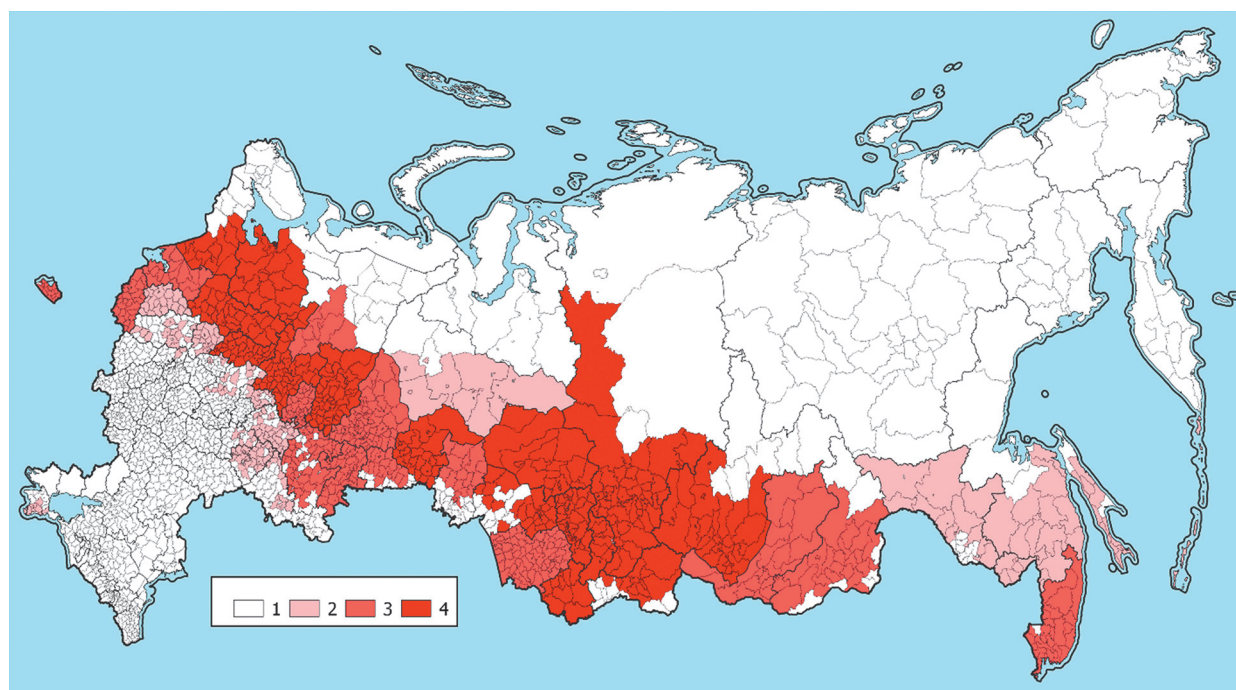


Рис. 2. Ранжирование территорий субъектов Российской Федерации по СМП заболеваемости КВЭ на 100 тыс. населения (2012–2021 гг.):

1 – незондированные территории; 2 – низкий уровень (до 0,79 ‰); 3 – средний уровень (от 0,8 до 3,37 ‰); 4 – высокий уровень (более 3,37 ‰)

Fig. 2. Ranking of territories of constituent entities of Russia according to the long-term average annual values of TBVE incidence per 100 thousand population (2012–2021):

1 – non-endemic territories; 2 – low level of epidemic risk (up to 0.79 ‰); 3 – medium level (from 0.8 to 3.37 ‰); 4 – high level of risk (more than 3.37 ‰)

Субъекты с наиболее высоким уровнем обращаемости пострадавшего от клещей населения приведены в табл. 1. За последние 10 лет максимальное число присасываний наблюдалось в 2019 г. (561247), а минимальное – в 2013 г. (385634).

Согласно данным официальной статистики, всего по стране зарегистрировано 1969 случаев заболевания КВЭ (1,34 ‰), в том числе у 280 детей до 17 лет включительно (0,92 ‰). Заболеваемость в стране возросла в 1,9 раза по сравнению с 2021 г., но не превысила максимального значения за десятилетний период (2716 случаев в 2012 г.).

В половине субъектов (в шести) с наиболее высоким уровнем пострадавших от присасывания клещей (табл. 1) инцидентность КВЭ в 2022 г. была выше, чем СМП в период до пандемии COVID-19 (2012–2019 гг.). Причем там, где заболеваемость возросла, этот показатель превысил верхнюю границу 95 % ДИ, а там, где снизилась, – остался в пределах ранее наблюдавшейся вариации или стал ниже порога ДИ.

По сравнению с заболеваемостью КВЭ в период до пандемии COVID-19 (СМП_{2012–2019}) в половине субъектов с наиболее высоким уровнем пострадавших от присасывания клещей показатель инцидентности в 2022 г. оказался выше.

По сравнению с 2021 г. увеличение показателей заболеваемости КВЭ в 2022 г. произошло во всех эндемичных по КВЭ федеральных округах: ЦФО

(с 0,07 до 0,13 ‰), СЗФО (с 0,79 до 0,97 ‰), ПФО (с 0,73 до 1,21 ‰), УФО (с 2,1 до 4,4 ‰), СФО (с 2,2 до 4,7 ‰), ДФО (с 0,21 до 1,08 ‰).

Наиболее активно эпидемический процесс протекал в Кировской области – 12,0 ‰ (в 2021 г. – 8,5 ‰), Республике Хакасия – 6,8 ‰ (1,7), Тюменской области – 6,4 ‰ (4,6), Красноярском крае – 8,7 ‰ (4,3), Республике Тыва – 18,5 ‰ (3,34), Курганской – 5,59 ‰ (1,22), Томской – 5,3 ‰ (3,0) областях, Удмуртской Республике – 5,5 ‰ (1,94) (табл. 1).

В 2022 г. произошло увеличение относительно СМП_{2012–2021} показателя заболеваемости в Кировской, Тюменской, Свердловской, Челябинской (4,2 ‰ против 2,1 ‰), Иркутской (4,5 против 3,8) областях, Ханты-Мансийском АО – Югре (1,7 против 0,8), Удмуртской Республике, республиках Тыва и Хакасия (6,7 против 5,4).

По сравнению с 2021 г. увеличение показателя заболеваемости более чем в 6 раз зарегистрировано в республиках Тыва, Бурятия, Приморском крае; более чем в 4 раза – в Республике Хакасия, Забайкальском крае, Курганской, Челябинской областях. В некоторых регионах, напротив, отмечено снижение заболеваемости: в Республике Алтай (с 6,8 до 4,1 ‰), Хабаровском крае (с 0,23 до 0,08 ‰), Оренбургской области (с 0,41 до 0,15 ‰), Республике Карелия (с 1,8 до 1,5 ‰). Примерно на том же уровне, как в 2021 г., сохранилась заболеваемость в республиках

Таблица 1 / Table 1

Субъекты Российской Федерации с наиболее высокой обращаемостью населения в МО по поводу присасывания клещей и заболеваемостью КВЭ в 2022 г.

Constituent entities of the Russian Federation with the highest appealability of the population to medical facilities regarding tick bites and the highest incidence of TBVE in 2022

Субъекты РФ Constituent entities of the Russian Federation	Обращаемость в 2022 г., ‰ Appealability in 2022, ‰	Клещевой вирусный энцефалит Tick-borne viral encephalitis			
		Заболеваемость в 2022 г., ‰ Incidence rate in 2022, ‰	Границы 95 % доверительного интервала для изменений СМП _{2012–2019} заболеваемости, ‰ 95 % confidence interval limits for changes in the long-term average annual values (LTAV) _{2012–2019} of incidence, ‰		
			СМП LTAV	нижняя граница lower limit	верхняя граница upper limit
Кировская область Kirov Region	2013,2	12,0 (↑)	7,5	5,0	10,0
Тюменская область Tyumen Region	1648,2	6,4 (↑)	4,5	3,9	5,2
Республика Алтай Altai Republic	1501,6	4,1 (↓)	8,5	0,1	8,7
Удмуртская Республика Udmurt Republic	1268,5	5,5 (↑)	3,8	2,8	4,9
Костромская область Kostroma Region	1227,0	3,3 (↓)	4,7	4,0	5,4
Томская область Tomsk Region	1199,2	5,3 (↓)	8,6	0,0	8,8
Свердловская область Sverdlovsk Region	1100,9	4,4 (↑)	2,7	2,3	3,1
Кемеровская область – Кузбасс Kemerovo Region – Kuznetsk Basin	1049,6	3,5 (↓)	4,4	3,7	5,2
Пермский край Perm Territory	868,4	3,0 (↓)	6,0	4,4	7,5
Республика Хакасия Republic of Khakassia	481,9	6,8 (↑)	6,4	4,1	8,7
Республика Тыва Tyva Republic	444,2	18,5 (↑)	8,4	5,8	11,0
Красноярский край Krasnoyarsk Territory	427,0	8,7 (↓)	12,3	1,0	14,1

Татарстан, Коми, Костромской, Калининградской, Омской областях, Алтайском крае.

В Еврейской автономной области выявлен случай КВЭ после 5-летнего отсутствия регистраций (последний случай был в 2016 г.).

По итогам эпидемического сезона 2022 г. первый случай КВЭ зарегистрирован в Республике Хакасия (СФО) в середине апреля. Последние 38 случаев отмечены в конце сентября (39-я календарная неделя) в 12 субъектах РФ из 4 ФО (СЗФО – 6; ПФО – 2; УФО – 20; СФО – 10 случаев) с наибольшим числом заболевших (15) в Свердловской области. Максимум доли случаев КВЭ наблюдали в июле и августе (32,2 и 30,4 % соответственно); в июне и сентябре (19,2 и 11,3 % соответственно). В сравнении с сезоном 2021 г. увеличилось число зарегистрированных случаев КВЭ в августе (2021 г. – 18,2 %) и уменьшилось в июле (2021 г. – 41,7 %).

В структуре заболеваемости КВЭ населения России преобладала возрастная группа 50 лет и старше (47,2 %), доля детей до 17 лет составила 14,2 %.

В социальной структуре наибольший удельный вес составляют работающее население (31,4 %), пенсионеры (30,5 %), неработающие лица (25,4 %), из других социальных групп (дети, студенты) – 13,1 %. В структуре заболевших доля городского населения в целом по стране составляет 65,5 %, сельского – 34,5 %.

В структуре клинических проявлений КВЭ в стране, как и в предыдущие годы, преобладала лихорадочная форма – 61,9 %, на втором месте по частоте встречаемости менингеальная – 22,2 %. В Вологодской области, республиках Карелия и Коми доля менингеальных форм в 1,5–2 раза превысила лихорадочные. В субъектах ДФО больные с менингеальной формой КВЭ зарегистрированы лишь в Республике Бурятия. Доля очаговых форм составила 13,3 %. Случаи хронического прогрессирующего течения отмечены в Челябинской области.

Важно отметить рост в 1,7–3,3 раза доли случаев с клиническими проявлениями КВЭ среди населения, обратившегося в МО после присасывания

клещей. Если в 2021 г. этот показатель равнялся 0,23; 0,34 и 0,11 % для РФ, СФО и ДФО соответственно, то в 2022 г. по этим же территориям он составил 0,39; 0,74 и 0,36 % соответственно.

Основным путем передачи КВЭ является трансмиссивный, реализуемый при присасывании клеща, инфицированного вирусом клещевого энцефалита (ВКЭ), однако имели место 12 случаев заражения КВЭ алиментарным путем, что составило 0,6 %. Заражение алиментарным путем выявлено в 6 субъектах РФ: в Кировской, Костромской, Тверской, Ярославской, Челябинской областях и г. Санкт-Петербурге.

В ходе эпидемиологического расследования на территории 7 субъектов РФ выявлено 28 случаев КВЭ завозного характера: г. Москва – 12, Республика Хакасия – 7, Республика Татарстан – 3, Московская и Нижегородская области – по 2, Республика Адыгея и Ямало-Ненецкий АО – по 1 случаю. Заражение произошло при посещении людьми природных очагов в других регионах страны, а также во время пребывания за границей (Республика Беларусь).

В 2022 г. в Российской Федерации зарегистрировано 49 летальных исходов КВЭ (14 случаев в 2021 г.): в Новосибирской (9), Челябинской (7), Кировской (6), Тюменской (5), Кемеровской (3), Свердловской (2), Томской (1) и Амурской (1) областях; Красноярском (5), Пермском (5) и Забайкальском (2) краях; Республике Хакасия (1); Ханты-Мансийском АО – Югре (1), Еврейской автономной области (1), г. Москве (2 завозных случая из Алтайского края и Челябинской области). Большинство погибших не были привиты против КВЭ, а также имело место позднее обращение за медицинской помощью.

Лабораторная экспресс-диагностика КВЭ.

В связи с высокой обращаемостью населения по поводу присасывания клещей, актуальным является расширение лабораторной сети для организации экспресс-диагностики переносчиков на их инфицированность возбудителями инфекций, передаваемых клещами, а также доступности лабораторных исследований для населения. В 2022 г. экспресс-диагностика клещей на наличие маркеров ВКЭ проведена в 274 лабораториях 50 субъектов РФ (всего лабораторий, проводящих диагностику клещей, – 429 в 77 субъектах РФ).

В эпидемический сезон 2022 г. с апреля по октябрь исследовано методами ИФА и ОТ-ПЦР на наличие маркеров ВКЭ 331972 экземпляра клещей, снятых с людей, и 62706 клещей с объектов окружающей среды. Зараженность клещей ВКЭ составила: снятых с людей – 1,22 % (СМП – 2,12 %); из окружающей среды – 1,57 % (СМП – 1,42 %).

По результатам, полученным в учреждениях Роспотребнадзора, в целом по стране частота обнаружения РНК ВКЭ в клещах, снятых с людей, составила 0,48 % (2021 г. – 0,72 %; СМП_{2015–2021} – 0,73 %), частота обнаружения антигена ВКЭ в ИФА – 1,41 % (2021 г. – 1,92 %; СМП_{2015–2021} – 3,36 %). С объектов окружающей среды по результатам ОТ-ПЦР – 1,38 %

(2021 г. – 0,31 %; СМП_{2015–2021} – 0,71), ИФА – 1,44 % (2021 г. – 1,85 %; СМП_{2015–2021} – 2,25 %) (рис. 3).

В лабораториях других учреждений, не относящихся к Роспотребнадзору, частота выявления РНК ВКЭ в клещах, снятых с людей, составила 1,54 %, вирусоформность по данным ИФА – 1,22 %.

В клещах, снятых с людей, наиболее высокая частота обнаружения РНК ВКЭ, превышающая СМП, характерна для Кемеровской (4,1 %), Томской (3,0 %) областей, Алтайского края (2,5 %).

Наиболее высокие показатели вирусоформности по данным ИФА зарегистрированы в Иркутской (5,8 %), Кемеровской (4,0 %) областях, Удмуртской Республике (3,0 %).

В 2022 г. в клещах, собранных с объектов окружающей среды, высокая частота встречаемости РНК ВКЭ установлена в Томской области (6,1 %), Республике Хакасия (4,0 %). Высокая

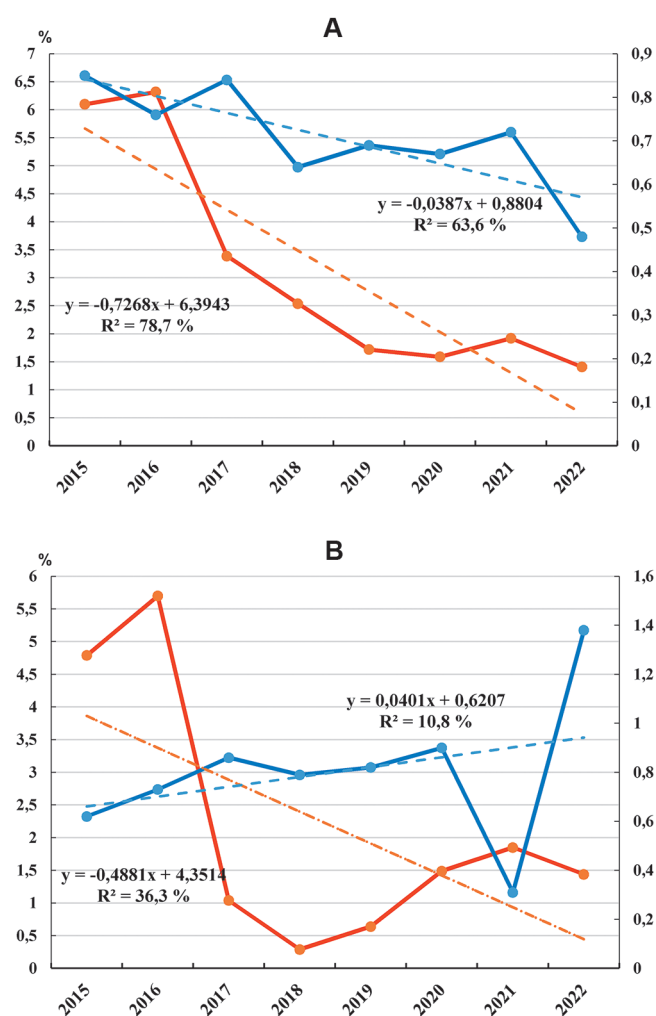


Рис. 3. Динамика вирусоформности клещей, исследованных методами ИФА и ПЦР, снятых с людей (А) и с объектов окружающей среды (В) в 2015–2022 гг.:

левая ось ординат при исследовании методом ИФА соответствует красной линии; правая – методом ПЦР – соответствует синей линии

Fig. 3. Dynamics of ixodid ticks infection rate (%), removed from people (A), environmental objects (B); studied by ELISA and RT-PCR methods in 2015–2022:

the left axis of ordinates, as studied by ELISA, corresponds to the red line; the right one, as studied by the PCR method, corresponds to the blue line

вирусофорность клещей по данным ИФА характерна для Республики Бурятия (10,5 %), Свердловской области (3,9 %).

Профилактика КВЭ. Комплекс профилактических мероприятий включает специфическую вакцинопрофилактику (использование инактивированной вакцины), экстренную серопротекцию (введение в случае присасывания клещей в очагах иммуноглобулина человека против КВЭ), неспецифическую профилактику (борьба с переносчиками, использование средств индивидуальной защиты). Только использование комплексного подхода к профилактике позволяет обеспечить максимальную защиту населения на эндемичных по КВЭ территориях [11–15].

Следует отметить, что объемы всех профилактических мероприятий в 2022 г. возросли по отношению к 2021 г.

Вакцинация. Анализ мер специфической профилактики свидетельствует, что наиболее эффективной мерой профилактики КВЭ является вакцинация, объемы которой в последние восемь лет, за исключением 2020 г., существенно не меняются и достигли максимальной цифры в 2022 г. В 2022 г. против КВЭ привито 3,5 млн человек (вакцинировано – 1153697 и ревакцинировано – 2347877), что составило 101,72 и 97,16 % от плана соответственно. В 2021 г. было вакцинировано 2,88 млн человек; в 2020 г. – 2,09; в 2019 г. – 2,91.

Уровень выполнения плана вакцинации на 100 % и более достигнут в 26 эндемичных по КВЭ субъектах страны, свыше 80 % – более чем в 30 субъектах. Вместе с тем на ряде территорий выполнение плана по вакцинации населения в 2022 г. составило менее 75 % (в Костромской области и Забайкальском крае).

В 2022 г. доля привитых от КВЭ среди обратившихся по поводу присасывания клещей составила 10,4 % (51440 человек). При этом зарегистрировано 34 случая заболевания у привитых лиц (из них 11 – у детей), что составляет 1,7 % от общего числа заболевших.

Серопротекция. В 2022 г. экстренной профилактикой иммуноглобулином охвачено 24,5 % (в 2021 г. – 22,6 %) от общего числа пострадавших от присасывания клещей, в том числе детей – 34,3 % (в 2021 г. дети – 30,6 %). Несмотря на определенный дефицит иммуноглобулина, при его назначении не всегда учитывают результаты исследования присосавшихся к людям клещей на инфицированность вирусом, что ведет к перерасходу препарата. Косвенно на подобный подход к проведению серопротекции указывает очень высокий охват применения специфического иммуноглобулина, отмеченный в Тюменской области (94,5 %), Алтайском (75,6 %), Хабаровском (69,0 %) краях и Ханты-Мансийском АО – Югре (63,4 %).

Акарицидные обработки. Одним из основных мероприятий по неспецифической профилактике КВЭ являются акарицидные обработки. Данный метод универсален для защиты от всех инфекций,

передающихся иксодовыми клещами. Следует отметить тенденцию к росту оперативной площади акарицидных обработок на территории РФ в 2012–2022 гг. Минимум обработок был проведен в 2012 г. (81193 га), максимум – в 2022 г. (246255 га). Фактически площадь оперативных работ в 2022 г. на 21 % выше плановых показателей и на 5,6 % больше, чем было обработано в 2021 г. (233125 га). Наименьшее выполнение плановых показателей выявлено в Еврейской автономной области (80 %).

Отметим, что в большинстве субъектов РФ в 2022 г. акарицидные работы проводили только на территориях летних оздоровительных учреждений (ЛОУ) с кратностью 1,32; при этом не уделялось должного внимания территориям садоводческих кооперативов, мест массового отдыха населения. Важным элементом подъема эффективности акарицидных обработок является контроль за их качеством, который проведен на 65 % площадей, обработанных в 2022 г. На территориях ЛОУ контроль качества работ осуществлен на 100 % обработанных площадей. В 2022 г., несмотря на перевыполненный план акарицидных работ, на территориях ЛОУ зарегистрировано 11 случаев присасывания иксодовых клещей (в 2021 г. – 3). Эти случаи выявлены в ЛОУ Челябинской, Иркутской, Кемеровской, Воронежской, Псковской областей, Ханты-Мансийском АО – Югре, Краснодарском и Забайкальском краях.

Индивидуальная защита и санитарно-гигиеническое просвещение. Одним из важных элементов неспецифической профилактики является использование средств индивидуальной защиты от присасывания клещей (акарицидно-репеллентных, противоклещевых костюмов со специальной пропиткой), а также санитарно-гигиеническое просвещение населения эндемичных по КВЭ субъектов. Следует отметить, что эти меры профилактики в современный период рассматриваются как приоритетные, так как обеспечивают комплексную защиту от разных инфекций и минимизируют вред, наносимый окружающей среде. В 2022 г. в РФ проведено 2224 выступления специалистов по телевидению и 4546 – по радио, опубликовано 5692 статьи, напечатано более 530 тыс. листовок для населения. Наиболее активно пропаганда знаний о КВЭ и мерах профилактики болезни осуществлялась в СФО, ПФО и УФО.

Прогноз заболеваемости. Несмотря на рост заболеваемости КВЭ в Российской Федерации в 2022 г., значимый тренд ($R^2=58,3$ %; $P<0,05$) к ее снижению, по среднескользящим данным (2013–2022 гг.), сохранился (рис. 1).

Расчет ожидаемой заболеваемости КВЭ в РФ на 2023 г. на основе материалов 2013–2022 гг. (базовый период) остается благоприятным: 0,83 ‰_{0000} с 95 % ДИ возможных изменений от 0,14 до 1,52 ‰_{0000} (табл. 2).

В табл. 2 представлены данные по эндемичным по КВЭ федеральным округам, а также в 10 субъектах из них, характеризовавшихся максимальной заболе-

ваемостью. Отметим, что изменения, произошедшие в 2022 г., в характере течения у людей инфекционного процесса КВЭ (рост доли клинических проявлений и летальных случаев среди пострадавших от присасывания клещей) не были заложены в модель прогноза заболеваемости на 2022 г. Вероятно, этим объясняется, что по ряду территорий рост заболеваемости КВЭ превысил верхнюю границу 95 % ДИ прогноза на 2022 г.

Минимум инцидентности КВЭ характерен для ЦФО (не считая ЮФО со спорадическим уровнем заболеваемости: по одному больному в 2021 и 2022 гг.). При этом данные фактической и ожидаемой в ЦФО в 2022 г. заболеваемости практически совпали. Субъектом ЦФО с максимальным уровнем заболеваемости населения КВЭ является Костромская область, в которой отсутствует тренд к снижению интенсивности эпидемического процесса. Подъем инцидентности КВЭ в этом субъекте в 2022 г. не превысил СМП_{2012–2021}. Ожидаемая в 2023 г. заболеваемость КВЭ в Костромской области несколько выше, чем в 2022 г. (табл. 2).

В СЗФО сохранился значимый тренд ($R^2=78,4\%$; $P<0,001$) к снижению заболеваемости КВЭ (табл. 2). Ожидается, что в 2023 г. уровень инцидентности КВЭ составит $0,74\text{‰}$ с 95 % ДИ возможных изменений от 0,0 до $1,51\text{‰}$. Субъектами с максимальным уровнем заболеваемости КВЭ в СЗФО являются Архангельская и Вологодская области. В первой наблюдается тренд к снижению инцидентности, а во второй он отсутствует. Показатели заболеваемости КВЭ в 2022 г. в обоих субъектах ниже СМП_{2012–2021}, что позволяет сохранить стабильный по отношению к СМП эпидемиологический прогноз на 2023 г.

В ПФО характер изменения заболеваемости КВЭ в 2022 г. практически нивелировал многолетний тренд ($R^2=45,2\%$; $P<0,05$) к ее снижению (табл. 2). Рост заболеваемости КВЭ с $0,79\text{‰}$ (2021 г.) до $1,2\text{‰}$ находится в границах 95 % ДИ возможных изменений показателя. Ожидается, что в 2023 г. инцидентность КВЭ составит $1,1\text{‰}$ с 95 % ДИ от $0,79$ до $1,32\text{‰}$. Наибольшая заболеваемость КВЭ в ПФО характерна для Кировской области (СМП_{2012–2021} – $7,2\text{‰}$; границы 95 % ДИ – от $5,2$ до $9,9\text{‰}$), на территории которой снижение инцидентности КВЭ отсутствует, а прогноз на 2023 г. остается неблагоприятным. Заболеваемость КВЭ в субъекте в 2022 г. превысила СМП_{2012–2021}, достигнув уровня, наблюдавшегося в 2012–2019 гг. ($7,5\text{‰}$), то есть до пандемии COVID-19 (табл. 1).

В УФО характер изменения заболеваемости КВЭ в 2022 г. привел к нивелированию многолетнего тренда на ее снижение (табл. 2). Рост заболеваемости КВЭ с $2,1\text{‰}$ (2021 г.) до $4,4\text{‰}$ (2022 г.) превысил верхнюю границу 95 % ДИ прогнозируемых на этот сезон значений. Подобное расхождение прогнозируемых и фактических значений инцидентности КВЭ в 2022 г. может быть следствием не-

скольких причин (или их сочетанного действия), в том числе: а) роста числа людей, пострадавших от присасывания клещей (на $39,4\%$); б) увеличения доли клинических случаев КВЭ у людей, пострадавших от присасывания клещей (с $0,35$ до $0,52\%$; $t=5,3$; $P<0,001$); в) нарушения системы регистрации пострадавших от присасывания клещей в связи с перегруженностью МО другой работой в период пандемии COVID-19. Прогноз инцидентности КВЭ для УФО на 2023 г. дает значение $2,5\text{‰}$ с 95 % ДИ от $1,9$ до $3,1\text{‰}$ (табл. 2). Среди субъектов УФО наибольший уровень заболеваемости в 2022 г. наблюдался в Тюменской ($6,4\text{‰}$), Курганской ($5,6\text{‰}$) и Свердловской ($4,4\text{‰}$) областях. Причем в этих субъектах отсутствует снижение инцидентности болезни, а в Свердловской области этот показатель третий год растет.

В СФО в 2022 г. произошел рост заболеваемости КВЭ с $2,2\text{‰}$ (2021 г.) до $4,7\text{‰}$, что, однако, не повлекло изменения многолетнего значимого тренда ($R^2=86,0$; $P<0,001$) к ее снижению (табл. 2). Выявленная в 2022 г. заболеваемость КВЭ выходит за верхние границы 95 % ДИ прогноза на этот эпидемиологический сезон. Однако в отличие от УФО в СФО число людей, пострадавших от присасывания клещей, снизилось относительно 2021 г. на 3954 человека. Доля клинических случаев КВЭ выросла в СФО с $0,34\%$ в 2021 г. до $0,74\%$ в 2022 г. ($t=12,9$; $P<0,001$). Прогноз инцидентности КВЭ для СФО позволяет ожидать в 2023 г. этот показатель равным $2,8\text{‰}$ с 95 % ДИ от $0,19$ до $5,3\text{‰}$. Субъектом СФО с наибольшим уровнем заболеваемости КВЭ в 2022 г. стала Республика Тыва – $18,6\text{‰}$. Это не только значительно выше, чем в 2021 г. ($3,3\text{‰}$), но превосходит и СМП_{2012–2021} – $7,1\text{‰}$, а также верхнюю границу 95 % ДИ ($10,0\text{‰}$). Вместе с тем значимого тренда к росту заболеваемости КВЭ в республике не выявлено, поэтому прогноз на 2023 г. позволяет ожидать инцидентность на уровне $7,8\text{‰}$ (с 95 % ДИ от $3,9$ до $11,7\text{‰}$). Еще одним субъектом в СФО с постоянно высокой инцидентностью КВЭ является Красноярский край. В 2022 г. уровень заболеваемости КВЭ в субъекте составил $8,7\text{‰}$ (в 2021 г. – $4,3\text{‰}$). Несмотря на двукратный рост инцидентности КВЭ относительно предшествующего года, этот показатель не превысил уровня СМП_{2012–2021}, равного $10,8\text{‰}$, и находится в границах 95 % ДИ. Тренд к снижению заболеваемости КВЭ в субъекте сохранился. Прогноз на 2023 г. дает значение $5,0\text{‰}$ с 95 % ДИ возможных проявлений от $0,0$ до $11,8\text{‰}$.

В ДФО в 2022 г. произошел рост заболеваемости КВЭ с $0,21\text{‰}$ (2021 г.) до $1,1\text{‰}$. Тренд к снижению заболеваемости отсутствует, хотя число пострадавших от иксодовых клещей относительно 2021 г. снизилось на 7892 человека (на $31,8\%$). Среди пострадавших от присасывания клещей доля заболевших КВЭ в 2021 г. составила $0,11\%$ (18 случаев), а в 2022 г. – $0,36\%$ (88 случаев), то есть возросла

Таблица 2 / Table 2

Прогноз заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом на 2023 г.
Forecast of the incidence of tick-borne viral encephalitis in 2023

Федеральные округа страны и субъекты с наибольшей заболеваемостью КВЭ (случаев в 2022 г., $\frac{0}{1000}$) Federal Districts of Russia and constituent entities with the highest incidence rate of TBVE (cases in 2022, $\frac{0}{1000}$)	Инцидентность КВЭ в 2022 г., $\frac{0}{1000}$ TBVE incidence in 2022, $\frac{0}{1000}$	СМП ₂₀₁₂₋₂₀₂₁ , 95 % ДИ, $\frac{0}{1000}$ LTAV ₂₀₁₂₋₂₀₂₁ , 95 % CI, $\frac{0}{1000}$			*Наличие тренда заболеваемости по данным 2012–2021 гг. (R^2 ; $P <$) *Incidence trend according to 2012–2021 data (R^2 ; $P <$)	Прогноз заболеваемости КВЭ на 2023 г. и границы 95 % ДИ возможных изменений (по данным за 2013–2022 гг.), $\frac{0}{1000}$ TBVE incidence forecast for 2023 and 95% confidence interval of its possible changes according to data for 2013–2022, $\frac{0}{1000}$		
		среднее значение mean value	нижний порог lower threshold	верхний порог upper threshold		ожидаемое значение expected value	нижний порог lower threshold	верхний порог upper threshold
РФ (1,3) Russia Federation (RF) (1.3)	1,3	1,3	0,2	1,1	↓ (84,7; 0,001)	0,83	0,14	1,52
ЦФО (0,13) Central Federal District (CFD) (0.13)	0,13	0,14	0,10	0,19	Нет / no change	0,13	0,10	0,17
Костромская область (3,3) Kostroma Region (3.3)	3,3	4,3	3,4	5,1	Нет / no change	4,0	3,3	4,8
СЗФО (0,97) Northwestern Federal District (NWFD) (0.97)	0,97	1,8	0,1	1,6	↓ (78,4; 0,001)	0,74	0,0	1,5
Архангельская область (3,2) Arkhangelsk Region (3.2)	3,2	4,2	0,0	4,2	↓ (72,8; 0,001)	0,97	0,0	4,2
Вологодская область (1,7) Vologda Region (1.7)	1,7	4,5	3,1	5,9	Нет / no change	3,5	2,6	4,4
ЦФО (1,2) Volga Federal District (VFD) (1.2)	1,2	1,1	0,0	1,5	↓ (45,2; 0,05)	1,1	0,8	1,3
Кировская область (12,0) Kirov Region (12.0)	12,0	7,2	5,1	9,4	Нет / no change	7,6	5,2	9,9
УФО (4,4) Ural Federal District (UFD) (4.4)	4,4	2,4	2,0	2,7	Нет / no change	2,5	1,9	3,1
Тюменская область (6,4) Tyumen Region (6.4)	6,4	4,3	3,7	5,0	Нет / no change	4,5	3,7	5,3
Курганская область (5,6) Kurgan Region (5.6)	5,6	3,3	1,9	4,9	Нет / no change	3,1	2,1	4,0
Свердловская область (4,4) Sverdlovsk Region (4.4)	4,4	2,5	2,0	3,0	Нет / no change	2,6	2,0	3,2
СФО (4,7) Siberian Federal District (SFD) (4.7)	4,7	4,9	0,4	3,9	↓ (86,0; 0,001)	2,8	0,19	5,3
Красноярский край (8,7) Krasnoyarsk Territory (8.7)	8,7	10,8	0,0	10,0	↓ (77,3; 0,001)	5,0	0,0	11,8
Республика Тыва (18,6) Tuva Republic (18.6)	18,6	7,1	4,1	10,0	Нет / no change	7,8	3,9	11,7
ДФО (1,1) Far Eastern Federal District (FEFD) (1.1)	1,1	0,60	0,44	0,76	Нет / no change	0,65	0,45	0,84
Республика Бурятия (4,6) Republic of Buryatia (4.6)	4,6	3,6	2,6	4,6	Нет / no change	3,6	2,6	4,6
ЮФО Southern Federal District (SFD)					спорадическая sporadic			

Примечание: * при наличии тренда рассчитывали коэффициент детерминации (R^2) в % и значимость ($P <$) угла наклона линии регрессии.

Note: * in the presence of a trend, the coefficient of determination (R^2) in % and the significance ($P <$) of the regression line slope angle were calculated. LTAV – Long-term average annual value.

в 3,3 раза ($t=4,9$; $P<0,001$). Выявленная в 2022 г. заболеваемость КВЭ находится в границах 95 % ДИ ожидаемых на этот год ее значений. Прогнозируется, что в 2023 г. инцидентность КВЭ составит 0,65 ‰ с 95 % ДИ от 0,45 до 0,84 ‰. В 2022 г. наибольшая инцидентность КВЭ на территории ДФО наблюдалась в Республике Бурятия – 4,6 ‰ (в 2021 г. – 0,7 ‰), причем тренд к снижению заболеваемости отсутствует. СМП_{2012–2021} инцидентности КВЭ в республике равен 3,6 ‰. Ожидается, что в 2023 г. заболеваемость КВЭ в Республике Бурятия составит 3,6 ‰ с 95 % ДИ возможных изменений показателя от 2,6 до 4,6 ‰.

В настоящее время наиболее широко для прогноза КВЭ и других зоонозов применяют либо экстраполяционную модель с анализом единственного временного ряда заболеваемости, либо факторный подход с выявлением действия на изучаемый процесс различных его предикторов [16]. Любая модель прогноза КВЭ реализуется при отсутствии существенных отклонений от многолетних норм в действии абиотических (температура, высота снежного покрова, количество осадков и т.д.), биотических (обилие прокормителей клещей – переносчиков вируса), антропогенных (поллютанты, процессы урбанизации, изменение ландшафтов и т.п.) и социально-экономических (активность людей и иммунный статус населения, связанные с пандемией COVID-19 [17, 18], местные традиции и т.д.) факторов. Рост объемов профилактических мер в субъектах страны также отражается на инцидентности КВЭ.

В эпидемический сезон 2022 г. произошел рост заболеваемости КВЭ. Причем в ряде субъектов характер действия факторов, влияющих на эпидемический процесс, изменился разнонаправленно. В этой ситуации применяемый нами алгоритм экстраполяционного прогноза, так же как и факторные модели, пока не может дать корректную оценку ожидаемого уровня заболеваемости КВЭ [9]. В случае пролонгации действия изменившихся факторов на 2023 г. наш прогноз может быть занижен, особенно для районов, где число контактов людей с клещами и доля людей, заболевших КВЭ, среди пострадавших от присасывания клещей выросли в наибольшей степени: УФО, СФО (Красноярский край, Республика Тыва), ДФО (Республика Бурятия, Забайкальский край). В связи с этим целесообразно усилить надзор за природными очагами инфекций, передаваемых иксодовыми клещами, эффективнее развивать использование мер индивидуальной профилактики, разработать модель прогноза, учитывающую новые реалии эпидемического процесса. В целом по РФ эпидемиологическая обстановка по КВЭ в 2023 г. будет на уровне СМП, сложившегося во втором десятилетии XXI в. до пандемии COVID-19.

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

Список литературы

1. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М.: Комментарий; 2013. 463 с.
2. Erber W., Schmitt H.-J., Janković T.V. TBE-epidemiology by country – an overview. Chapter 12a. In: Dobler G., Erber W., Bröker M., Schmitt H.-J., eds. The TBE Book. 5th ed. Singapore: Global Health Press; 2022. DOI: 10.3344/26613980_12a-5.
3. Dober G., Tkachev S. General epidemiology of TBE. Chapter 11. In: Dobler G., Erber W., Bröker M., Schmitt H.-J., eds. The TBE Book. 5th ed. Singapore: Global Health Press; 2022. DOI: 10.3344/26613980_11-5.
4. Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Verkhozina M.M., Kozlova I.V., Tkachev S.E., Plyusnin A., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Zlobin V.I. Genotyping and characterization of the geographical distribution of tick-borne encephalitis virus variants with a set of molecular probes. *J. Med. Virol.* 2010; 82(6):965–76. DOI: 10.1002/jmv.21765.
5. Dai X., Shang G., Lu S., Yang J., Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China. *Emerg. Microb. Infect.* 2018; 7(1):74. DOI: 10.1038/s41426-018-0081-6.
6. Kozlova I.V., Demina T.V., Tkachev S.E., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Verkhozina M.M., Karan L.S., Dzhioev Yu.P., Paramonov A.I., Suntsova O.V., Savinova Yu.S., Chernovanova O.O., Ruzek D., Tikunova N.V., Zlobin V.I. Characteristics of the Baikal subtype of tick-borne encephalitis virus circulating in Eastern Siberia. *Acta Biomedica Scientifica.* 2018; 3(4):53–60. DOI: 10.29413/ABS.2018-3.4.9.
7. Злобин В.И., редактор. Клещевой энцефалит в XXI веке. М.: Наука; 2021. 471 с.
8. Колясников Н.М., Герасимов С.Г., Ишмухаметов А.А., Погодина В.В. Эволюция клещевого энцефалита за 80-летний период: основные проявления, вероятные причины. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2020; 19(3):78–88. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-78-88.
9. Елисеева И.И., Юзбашев М.М. Общая теория статистики: учебник. М.: Финансы и статистика; 2006. 656 с.
10. Туранов А.О., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Балахонov С.В., Шашина Н.И. Дифференциация территории Забайкальского края по заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:108–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-108-114.
11. Романенко В.В., Есюнина М.С., Киличина А.С. Опыт реализации программы массовой иммунизации населения против клещевого энцефалита в Свердловской области. *Вопросы вирусологии.* 2007; 52(6):22–5.
12. Пеньевская Н.А. Оценка эффективности этиотропной профилактики инфекций, передающихся иксодовыми клещами: проблемы теории и практики. Омск: ИЦ «Омский научный вестник»; 2010. 232 с.
13. Лучинина С.В., Семенов А.И., Степанова О.Н., Погодина В.В., Герасимов С.Г., Щербинина М.С., Колесникова Л.И., Суслова Т.А. Вакцинопрофилактика клещевого энцефалита в Челябинской области: масштабы вакцинации, популяционный иммунитет, анализ случаев заболевания привитых. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2016; 15(1):67–76. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-1-67-76.
14. Морозова О.В., Бахвалова В.Н., Потапова О.Ф., Гришечкин А.Е., Исаева Е.И. Анализ соответствия четырех вакцинных штаммов современным изолятам вируса клещевого энцефалита сибирского типа. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2012; 5:67–75.
15. Шандаля М.Г., Германт О.М., Шашина Н.И., Осипова Н.З., Пакскина Н.Д., Царенко В.А., Гаврилов М.М. О неспецифической профилактике клещевого энцефалита, иксодового клещевого боррелиоза (болезни Лайма), крымской геморрагической лихорадки и других инфекций, возбудителей которых передают иксодовые клещи (по состоянию на 2010 г.). *Дезинфекционное дело.* 2010; 2:36–41.
16. Rubel F., Brugger K. Operational TBE incidence forecasts for Austria, Germany, and Switzerland 2019–2021. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021; 12(1):101579. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101579.
17. Proal A.D., VanElzakker M.B. Long COVID or post-acute sequelae of COVID-19 (PASC): An overview of biological factors that may contribute to persistent symptoms. *Front. Microbiol.* 2021; 12:698169. DOI: 10.3389/fmicb.2021.698169.
18. Czarnowska A., Kapica-Topczewska K., Garkowski A., Chorąży M., Tarasiuk J., Kochanowicz J., Kulakowska A., Zajkowska J. Severe tick-borne encephalitis in a patient recovered from COVID-19. *Ticks Tick Borne Dis.* 2022; 13(4):101940. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2022.101940.

References

1. Korenberg E.I., Pomelova V.G., Osin N.S. [Natural-Focal Infections Transmitted by Ixodidae Ticks]. M.: "Commentary"; 2013. 463 p.

2. Erber W., Schmitt H.-J., Janković T.V. TBE-epidemiology by country – an overview. Chapter 12a. In: Dobler G., Erber W., Bröker M., Schmitt H.J., eds. The TBE Book. 5th ed. Singapore: Global Health Press; 2022. DOI: 10.33442/26613980_12a-5.
 3. Dober G., Tkachev S. General epidemiology of TBE. Chapter 11. In: Dobler G., Erber W., Bröker M., Schmitt H.-J., eds. The TBE Book. 5th ed. Singapore: Global Health Press; 2022. DOI: 10.33442/26613980_11-5.
 4. Demina T.V., Dzhiyev Yu.P., Verkhozina M.M., Kozlova I.V., Tkachev S.E., Plyusnin A., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Zlobin V.I. Genotyping and characterization of the geographical distribution of tick-borne encephalitis virus variants with a set of molecular probes. *J. Med. Virol.* 2010; 82(6):965–76. DOI: 10.1002/jmv.21765.
 5. Dai X., Shang G., Lu S., Yang J., Xu J. A new subtype of eastern tick-borne encephalitis virus discovered in Qinghai-Tibet Plateau, China. *Emerg. Microb. Infect.* 2018; 7(1):74. DOI: 10.1038/s41426-018-0081-6.
 6. Kozlova I.V., Demina T.V., Tkachev S.E., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Verkhozina M.M., Karan L.S., Dzhiyev Yu.P., Paramonov A.I., Suntsova O.V., Savinova Yu.S., Chernovanova O.O., Ruzek D., Tikunova N.V., Zlobin V.I. Characteristics of the Baikal subtype of tick-borne encephalitis virus circulating in Eastern Siberia. *Acta Biomedica Scientifica.* 2018; 3(4):53–60. DOI: 10.29413/ABS.2018-3.4.9.
 7. Zlobin V.I., editor [Tick-Borne Encephalitis in The 21st Century]. Moscow: Nauka; 2021. 471 p.
 8. Kolyasnikova N.M., Gerasimov S.G., Ishmukhametov A.A., Pogodina V.V. [Evolution of tick-borne encephalitis over an 80-year period: main manifestations, probable causes]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2020; 19(3):78–88. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-78-88.
 9. Eliseeva I.I., Yuzbashev M.M. [General Theory of Statistics: Textbook]. Moscow: "Finance and Statistics"; 2006. 656 p.
 10. Turanov A.O., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Balahonov S.V., Shashina N.I. [Differentiation of Transbaikalian Territory by tick-borne viral encephalitis incidence]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):108–114. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-108-114.
 11. Romanenko V.V., Eshyuna M.S., Kilyachina A.S. [Experience in implementing the program of mass immunization of the population against tick-borne encephalitis in the Sverdlovsk Region]. *Voprosy virusologii [Problems of Virology]*. 2007; (6):22–5.
 12. Penevskaya N.A. [Evaluation of the Effectiveness of Etiotropic Prevention of Infections Transmitted by Ixodic Ticks: Problems of Theory and Practice] Omsk: Publishing Center "Omsk Scientific Bulletin"; 2010. 232 p.
 13. Luchinina S.V., Semenov A.I., Stepanova O.N., Pogodina V.V., Gerasimov S.G., Shcherbinina M.S., Kolesnikova L.I., Suslova T.A. [Vaccinal prevention of tick-borne encephalitis in the Chelyabinsk Region: dynamics of vaccination, population immunity, analysis of TBE cases in vaccinated persons]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2016; 15(1):67–76. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-1-67-76.
 14. Morozova O.V., Bakhvalova V.N., Potapova O.F., Grishchkin A.E., Isaeva E.I. [Analysis of the conformity of four vaccine strains to contemporary isolates of tick-borne encephalitis virus of Siberian type]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2012; 5(66):3–10.
 15. Shandala M.G., Germant O.M., Shashina N.I., Osipova N.Z., Pakskina N.D., Tsarenko V.A., Gavrilov M.M. [Regarding non-specific prophylaxis of tick-borne encephalitis, Ixodidae tick-borne borreliosis (Lyme disease), Crimean hemorrhagic fever and other infections, the causative agents of which are transmitted by ixodic ticks (as of 2010)]. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]*. 2010; (2):36–41.
 16. Rubel F., Brugger K. Operational TBE incidence forecasts for Austria, Germany, and Switzerland 2019–2021. *Ticks Tick Borne Dis.* 2021; 12(1):101579. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2020.101579.
 17. Proal A.D., VanElzakker M.B. Long COVID or post-acute sequelae of COVID-19 (PASC): An overview of biological factors that may contribute to persistent symptoms. *Front. Microbiol.* 2021; 12:698169. DOI: 10.3389/fmicb.2021.698169.
 18. Czarnowska A., Kapica-Topczewska K., Garkowski A., Chorąży M., Tarasiuk J., Kochanowicz J., Kulakowska A., Zajkowska J. Severe tick-borne encephalitis in a patient recovered from COVID-19. *Ticks Tick Borne Dis.* 2022; 13(4):101940. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2022.101940.
- Authors:**
 Andaev E.I., Nikitin A.Ya., Tolmacheva M.I., Sidorova E.A., Kolesnikova V.Yu., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.
 Zarva I.D. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Irkutsk State Medical University; Irkutsk, Russian Federation.
 Yatsmenko E.V. Federal Service for Surveillance on Consumer's Rights Protection and Human Well-being. 18, Bld. 5 and 7, Vadkovsky Lane, Moscow, 127994, Russian Federation.
 Matveeva V.A. Federal Center of Hygiene and Epidemiology. 19a, Varshavskoe Highway, Moscow, 117105, Russian Federation. E-mail: gsen@fcgie.ru.
- Об авторах:**
 Андаев Е.И., Никитин А.Я., Толмачёва М.И., Сидорова Е.А., Колесникова В.Ю., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.
 Зарва И.Д. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока; Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Иркутский государственный медицинский университет; Иркутск, Российская Федерация.
 Яцменко Е.В. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский пер., 18, стр. 5 и 7.
 Матвеева В.А. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии. Российская Федерация, 117105, Москва, Варшавское ш., 19а. E-mail: gsen@fcgie.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-17-26

УДК 616.9:579.61

А.С. Вагайская, С.В. Дентовская, А.П. Анисимов

Бактериальные тени возбудителей особо опасных инфекций

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

Бактериальные тени представляют собой неповрежденные оболочки бактериальных клеток, которые освобождаются от своего содержимого через поры, сформированные с помощью мягких методов биологического или химического воздействия. Методология получения бактериальных теней повышает безопасность убитых вакцин, сохраняя при этом их антигенность за счет щадящих процедур приготовления. Более того, бактериальные тени могут быть одновременно носителями нескольких антигенов или плазмидных ДНК, кодирующих белковые эпитопы. В последние годы наблюдается рост интереса к разработке прототипов вакцин и систем доставки биологически активных веществ на основе бактериальных теней. В настоящем обзоре обсуждается прогресс в разработке данного типа препаратов за последние годы. Рассмотрены различные способы получения бактериальных теней, их преимущества и ограничения при использовании. Подробно описан лизис бактерий, опосредованный фагами, молекулярные манипуляции с генами лизиса, трудности, возникающие при масштабировании биотехнологического производства бактериальных теней, и пути их преодоления. Рассмотрено использование бактериальных теней в качестве альтернативных убитых вакцин, адъювантов, рекомбинантной антигенной платформы, носителя плазмидной ДНК на моделях возбудителей особо опасных инфекций бактериальной этиологии.

Ключевые слова: бактериальные тени, вакцины, *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Brucella* spp., *Burkholderia* spp., *Bacillus anthracis*.

Корреспондирующий автор: Вагайская Анастасия Сергеевна, e-mail: vagaiskaya.anastasiya@gmail.com.

Для цитирования: Вагайская А.С., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Бактериальные тени возбудителей особо опасных инфекций. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:17–26. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-17-26

Поступила 16.01.2023. Принята к публ. 09.03.2023.

A.S. Vagaiskaya, S.V. Dentovskaya, A.P. Anisimov

Bacterial Ghosts of the Causative Agents of Particularly Dangerous Infections

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

Abstract. Bacterial ghosts are intact walls of bacterial cells that are relieved of their contents through pores formed by mild biological or chemical methods. Methodology for generating bacterial ghosts increases the safety of killed vaccines while maintaining their antigenicity through milder preparation procedures. Moreover, bacterial ghosts can simultaneously carry several antigens or plasmid DNAs encoding protein epitopes. In recent years, there has been a growing interest in the development of prototype vaccines and systems for delivery of biologically active substances based on bacterial ghosts. This review discusses the progress in the development of this type of medications over the last years. Various methods of obtaining bacterial ghosts, their advantages and limitations are considered. The phage-mediated lysis of bacteria, molecular manipulations with lysis genes, difficulties encountered in scaling the biotechnological production of bacterial ghosts, and ways to overcome them are described in detail. The use of bacterial ghosts as alternative killed vaccines, adjuvants, recombinant antigenic platform, carrier of plasmid DNA by the models of pathogens of particularly dangerous infections of bacterial etiology is investigated.

Key words: bacterial ghosts, vaccines, *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Brucella* spp., *Burkholderia* spp., *Bacillus anthracis*.

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

Corresponding author: Anastasiya S. Vagaiskaya, e-mail: vagaiskaya.anastasiya@gmail.com.

Citation: Vagaiskaya A.S., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. Bacterial Ghosts of the Causative Agents of Particularly Dangerous Infections. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:17–26. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-17-26

Received 16.01.2023. Accepted 09.03.2023.

Vagaiskaya A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7280-3660>

Dentovskaya S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1996-8949>

Anisimov A.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5499-7999>

Известно, что суммарно на разработку одной современной вакцины уходит примерно 10–15 лет (базовые исследования – 2–4 года; доклинические испытания – до 2 лет; первая фаза клинического этапа – 1–5 лет; вторая фаза – 2–3 года; третья – 5 лет и более). Однако в ряде ситуаций допускается экстренный выпуск препаратов – вакцина проходит все необходимые этапы проверки в сокращенном варианте, как в случае вакцин для профилактики COVID-19

или лихорадки Эбола [1]. Два приведенных выше примера связаны с вирусными инфекциями, возбудители которых устроены гораздо проще, чем бактериальные патогены. Если у вирусов геном включает в среднем не более 10 генов, то у бактерий – уже несколько тысяч [2]. Соответственно различается и количество кодируемых ими белков.

Для ускорения процессов разработки и регистрации вакцинных препаратов предложена техно-

логия модульных вакцин (вакцинных платформ). Технология опирается на предварительно создаваемый «конструктор», включающий базовые носители (платформы) на основе прототипов уже известных патогенов и модульные антигены. Наличие таких заранее приготовленных наборов, чьи базовые носители и модульные антигены успешно прошли фазу II клинических испытаний, может ускорить разворачивание производства вакцин [3].

Комплексный подход к исследованиям повышает готовность здравоохранения к пандемиям за счет использования гибких модульных вакцин на основе прототипов патогенов, универсальных для целых групп родственных бактерий, обладающих перекрестно реагирующими антигенами [4]. Использование универсальных платформ способствует снижению стоимости и времени разработки вакцин [3].

Одним из наиболее перспективных базовых носителей в составе модульных вакцин являются бактериальные тени (Bacterial Ghost, BG). Классические BG представляют собой клеточные оболочки грамотрицательных бактерий, лишенные цитоплазматического содержимого, но сохранившие морфологию всех структур клеточной поверхности. Оригинальная технология получения бактериальных теней опирается на способность белка E бактериофага ϕ X174 формировать трансмембранные туннельные структуры, пронизывающие внутреннюю и внешнюю мембраны бактерий. BG – инновационная система доставки вакцин, лекарств или биологически активных веществ. Структура частиц и свойства поверхности BG нацеливают их непосредственно на первичные антигенпрезентирующие клетки. Кроме того, BG обладают адьювантными свойствами и индуцируют усиленный гуморальный и клеточный иммунный ответ на антигены-мишени. Множественные антигены нативной оболочки BG и рекомбинантные белковые или ДНК-антигены могут быть объединены в одном типе BG. Антигены могут быть представлены на цитоплазматической или внешней мембране BG. Лекарства или протективные антигены также могут быть загружены во внутренний просвет или периплазматическое пространство BG. После отмывки BG могут храниться при комнатной температуре в виде лиофилизата. Рабочий цикл от посева производственной культуры до концентрата BG, готового к лиофилизации, не превышает суток, что соответствует критериям быстрого производства вакцин. Широкий спектр возможного применения в сочетании со сравнительно низкой себестоимостью производства делает платформу BG привлекательной технологией для конструирования вакцин и адресной доставки биологически активных веществ [5].

Получение бактериальных теней

Генно-инженерные методы. Бактериофаги – одни из самых распространенных биологических

объектов, были впервые идентифицированы в начале XX в. [6]. Полиэдрические бактериофаги либо частично повреждают, либо полностью разрушают бактериальный пептидогликан для освобождения фагового потомства [7]. Двухцепочечные ДНК-фаги используют сложную систему лизиса – холин-эндолизинную систему. Простые одноцепочечные ДНК- или РНК-фаги лизируют клетки хозяина за счет ингибирования биосинтеза клеточной стенки всего одним лизирующим белком [7], что удобно для биотехнологических манипуляций. Вначале была исследована литическая активность гена *L* фага MS2 – первого секвенированного одноцепочечного РНК-фага. Позднее подробно изучен ген лизиса *E* первого секвенированного одноцепочечного ДНК-фага ϕ X174. Оба бактериофага с литическим жизненным циклом способны инфицировать широкий спектр представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Белок E фага ϕ X174 – гидрофобный белок, который локально нарушает синтез пептидогликана бактерий за счет ингибирования активности фермента фосфо-N-ацетилмурамоил-пентапептидной транслоказы (MraY) [8]. Лизис, опосредованный белком E, осуществляется путем слияния внутренней и внешней мембран, ведущего в активно растущих клетках к образованию трансмембранного туннеля от 40 до 400 нм в диаметре, расположенного на экваторе или на полюсах клеток [9]. Под действием осмотического давления через образовавшуюся пору бактериальная клетка освобождается от содержимого, сохраняя при этом исходную форму.

Для обеспечения регулируемого лизирующего эффекта гены лизиса клонируют в плазмидном векторе, содержащем для обеспечения стабильности наследования маркер – ген устойчивости к антибиотикам [9] или ген аспартатполуальдегиддегидрогеназы (*asd*) [10]. Эффективность лизиса зависит от экспрессирующей кассеты, которая включает промоторную область, управляющую транскрипцией гена лизиса, и его репрессор [11]. Индукцию лизиса клеток обычно начинают в средней или поздней фазе экспоненциального роста бактериальной культуры и контролируют путем измерения ее оптической плотности. Наиболее распространенной регуляторной системой является кассета экспрессии с термоиндуцибельным промотором pL/pR фага λ [12] и термочувствительным репрессором cI857, предотвращающим экспрессию при температурах ниже 37 °C [13]. Полученные бактериальные тени подвергают лиофилизации, после чего они могут храниться при комнатной температуре на протяжении нескольких лет [14].

Для получения BG используют и другие литические гены. BG *Escherichia coli*, *Acinetobacter calcoaceticus* и *Pseudomonas stephensi* были получены путем передачи в них плазмиды pDKL02, кодирующей литические гены *S* (холин), *R* (эндолизин) и *Rz* (спанин) бактериофага λ [15]. W. Zhu *et al.* [16] при получении BG *E. coli* повысили литическую эффективность до 99,99 % на логарифмической стадии

роста путем конструирования литической плазмиды (mE-L-SNA), кодирующей синтез белка E, слитого со стафилококковой нуклеазой A (SNUC). Q. Tian *et al.* [17] получили BG *Streptococcus pullorum* путем слияния гена антимикробного пептида SMAP29 с литическим геном E бактериофага ϕ X174. Через 24 ч после индукции лизиса жизнеспособные бактерии в препарате BG не были обнаружены. Для получения BG *Yersinia pestis* была использована литическая способность холин-эндолизинной системы чумного диагностического бактериофага Л-413С [18].

Стремление разработать безопасные BG на основе грамположительных микроорганизмов инициировало исследования по поиску новых фагов с новыми лизирующими генами. Вирулентный фаг Lcb против *Lactobacillus casei* ATCC 393 выделен из ферментированных овощей [19]. Показано, что продукт гена холина (*Hocb*) данного фага способен успешно проникать в клетки *L. casei* [20].

Снижение эффективности лизиса при крупномасштабном производстве бактериальных теней является ключевым препятствием для полной гарантии отсутствия в препарате жизнеспособных клеток [21, 22]. Введение мутации в литический ген белка E (mE) для корректировки рабочих условий [12, 21], использование новых литических генов холин-эндолизинной системы [23], добавление дополнительных генов нуклеаз к литическим кассетам [13, 24, 25] или включение в их состав генов противомикробных пептидов [17, 26], применение антибиотиков на этапах отмывки препаратов [26, 27], лиофилизация BG для уничтожения всех жизнеспособных клеток [28] применяются для улучшения результатов лизиса и обеспечения высоких выходов безопасного конечного продукта.

Химические методы. В качестве подхода к созданию BG применяют несколько щадящих методов химической обработки для образования пор в стенке микробной клетки. Использование химических методов позволяет устранить опасения, связанные с использованием векторных плазмид, которые могут нести гены возможных факторов патогенности или гены устойчивости к антибиотикам [29].

«Губчатый» метод является наиболее часто используемым химическим процессом приготовления BG, в котором с помощью химических реагентов создаются поры в клеточной оболочке бактерий и клеточное содержимое удаляют путем центрифугирования. A.A. Amara *et al.* [30] разработали протокол получения бактериальных теней *E. coli* с использованием субингибирующих концентраций NaOH, ДСН, H₂O₂ и CaCO₃. S.A. Sheweta *et al.* [31] приготовили «губчатые» BG путем инкубации *Acinetobacter baumannii* Ali190 в смеси NaOH, Na₂CO₃ и в растворе H₂O₂. S. Rabea *et al.* [32] создали новый химический метод приготовления BG, выращивая штамм *Salmonella enterica* serovar Typhimurium в течение 24 ч в питательной среде с добавлением 7 % Tween 80, затем pH среды снижали на 1 ч до 3,6 до-

бавлением молочной кислоты. Tween 80 вызывал растворение гидрофобных компонентов внешней мембраны бактерии, что облегчало образование пор, вызванное внезапным снижением pH. В другом биохимическом методе BG были созданы путем инкубации бактерий в искусственном синтетическом амфифильном пептиде (MAP) [33]. Кроме того, для получения BG *Actinobacillus pleuropneumoniae* использовали антимикробный пептид *Limulus* наряду с высоким гидростатическим давлением [34]. Свиной миелоидный противомикробный пептид (PMPA36) применили для получения BG *Brucella abortus* [35], лизоцим использовали для получения BG *Bacillus stearothermophilus* [36], а слитый белок PMPA36-лизоцим – для BG *Salmonella* Typhimurium [37]. Протокол обработки NaOH-МІС в сочетании с пенициллином/стрептолизином используют для получения BG *Streptococcus agalactiae* [38] или в сочетании с HCl – для получения BG *Bacillus* spp. [39].

Химический процесс получения BG может проводиться на любой стадии роста бактерий и требует только разбавления культуры до ОП₆₀₀=0,1. Кроме того, химический метод получения бактериальных теней не ограничивается только грамотрицательными бактериями, поскольку он также эффективен для грамположительных бактерий и дрожжей [40]. Химический метод прост, быстр и не изменяет трехмерную морфологию клеток, за исключением образования отверстий. Однако химические вещества могут денатурировать поверхностные антигены. Лишние отверстия могут нарушить свойство контролируемого высвобождения внутриклеточного содержимого. Таким образом, методы генной инженерии по-прежнему являются наиболее широко используемыми методами получения бактериальных теней.

Бактериальные тени возбудителей особо опасных инфекций

***Escherichia coli*.** STEC (Shiga-toxin producing *E. coli*) – штаммы, вызывающие ГУС (гемолитико-уремический синдром). Классическая технология конструирования бактериальных теней с помощью гена литического белка E фага ϕ X174 разработана и детально исследована в конце 1980-х гг. в Венском университете группой W. Lubitz на лабораторных штаммах *E. coli*. Вспышка в 2011 г. в Германии токсикоинфекций, вызванных STEC O104:H4, и установление того, что заболеваемость ГУС в мире составляет от 0,2 до 4,28 на 100 тыс. детского населения в год, а летальность в острый период колеблется от 2,5 до 12 % [41], возобновили интерес к конструированию эшерихиозных BG-вакцин, но преимущественно против Шига-токсин-продуцирующих штаммов *E. coli*, отнесенных ко II группе патогенности.

В нескольких сериях экспериментов было показано, что введение мышам BG энтерогеморрагической *E. coli* O157:H7 двукратно алиментарно [42], однократно ректально [43], однократно внутривенно

шинно [44] или телятам, как основному резервуару возбудителя, путем двукратной подкожной инъекции [45] индуцировало клеточный и гуморальный иммунный ответ и обеспечивало защиту иммунизированных животных от алиментарного заражения гетерологичными серотипами кишечной палочки.

BG штамма *E. coli*, экспрессирующего два иммунологически различных варианта Шига-анатоксина, успешно индуцировали антитоксинальную и антиадгезионную иммунную защиту у мышей против энтерогеморрагической *E. coli* O157:H7 [46]. Другие исследователи в качестве антитоксина к токсинам использовали BG *E. coli*, одновременно экспрессирующей Gb3-рецепторы к Шига-токсинам Stx1 и Stx2 [47]. BG *E. coli* O157:H7, экспрессирующей VP1-антиген вируса ящура, защищали мышей и их детенышей от инфекции, вызванной *E. coli* O157:H7, и вирусного заболевания [48].

BG *E. coli* O78:K80, несущие внешний домен матричного белка 2 и гены нуклеопротеина вируса птичьего гриппа, а также иммунодоминантные эпитопы генов гибридного белка и гемагглютинин-нейраминидазы вируса болезни Ньюкасла, индуцируют активацию врожденного и приобретенного иммунитета против вирусов и патогенной кишечной палочки [49]. Оральное введение BG *E. coli*, содержащих плазмидную ДНК, кодирующую эпитопы OmpU и VMH *Vibrio mimicus*, вызывало защитный иммунный ответ [50]. При создании противораковых вакцин установлено, что бактериальные тени *E. coli*, применяемые отдельно [51] или заполненные лизатом опухоли [52], индуцировали более сильную активацию и созревание дендритных клеток, чем липополисахариды.

***Vibrio cholerae*.** Другим наиболее исследованным с середины 1990-х гг. в университете Вены бактериальным видом для производства BG являются *Vibrio cholerae* (II группа патогенности). Установлено, что бактериальные тени холерного вибриона, продуцируемые при экспрессии клонированного гена лизиса *E* бактериофага ϕ X174, обладают адъювантными свойствами и являются иммуногенными. Мыши, иммунизированные внутрибрюшинно BG *V. cholerae* (O1), показали более высокий уровень вибриоспецифических сывороточных IgG и вибриоцидных антител, чем после введения инактивированных нагреванием холерных вирионов [53]. Хотя гетерологичный иммунитет возникал у кроликов только при подкожном введении BG *V. cholerae* (O139), продуцирующим токсин-корегулируемые пили [54], оральный путь иммунизации обеспечивал одинаковый иммунитет независимо от того, были у бактерии пили или нет [55].

В 1994 г. Фрэнсис Эко, исследователь из Венского университета, инициировал использование BG *V. cholerae* в качестве платформы для экспрессии гетерологичных генов [56]. Несколько лет спустя в Медицинской школе Морхаус в Атланте (Джорджия, США) начались успешные исследования по исполь-

зованию BG холерного вибриона для экспрессии антигенов *Chlamydia* spp. [57].

***Brucella* spp.** Бруцеллез, вызываемый патогенными представителями *Brucella* spp. (II группа патогенности), является важным зоонозным инфекционным заболеванием, которое представляет значительную угрозу для здоровья и безопасности населения. Существующие противобруцеллезные вакцины имеют ряд недостатков, включая высокую остаточную вирулентность для животных и людей. Альтернативным подходом в разработке вакцин против бруцеллеза является разработка BG с использованием литических продуктов бактериофагов или антимикробных пептидов млекопитающих.

Как и формол-инактивированный препарат бруцелл, BG *Brucella suis* S2, полученные путем литического действия белка E бактериофага ϕ X174, ген которого был расположен на введенной в штамм плазмиде, обладают способностью индуцировать патоген-специфический антителыный ответ, повышать CD3⁺ и CD4⁺ Т-клеточный иммунный ответ, стимулировать секрецию γ -интерферона (IFN- γ) и интерлейкина-4 (IL-4) и обеспечивают уровни защиты мышей от заражения *Brucella melitensis* 16M, как и живая вакцина на основе аттенуированного штамма *B. suis* [58].

J. Qian *et al.* [59] путем гомологичной рекомбинации интегрировали литический ген *E* в хромосому штамма *Brucella canis* RM6/66, создав генетически стабильный штамм, не несущий гена лекарственной устойчивости. Полученные BG показали гарантированную безопасность и иммуногенность, сравнимую с живой вакциной. Ген, кодирующий бактериальный белок B0419, был делетирован в вакцинном штамме *B. canis* RM6/66, что может явиться молекулярной меткой при дифференциации инфекционного и вакцинного процессов с помощью ИФА. Созданный препарат BG обеспечивал защиту вакцинированных мышей от *B. canis* RM6/66 и *B. melitensis* 16M.

Подобный подход, основанный на делеции гена хромосомной локализации и введения на его место литической кассеты, был использован с целью создания BG *Brucella abortus* 2308 Δ gntR [60]. Авторы показали безопасность BG *B. abortus* 2308 Δ gntR для мышей линии BALB/c. Введение BG *B. abortus* 2308 Δ gntR индуцировало продукцию специфических иммуноглобулинов G (IgG) и секрецию γ -интерферона и интерлейкина-4. Кроме того, BG *B. abortus* 2308 Δ gntR индуцировали сильный ответ CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток селезенки. Иммунизация стимулировала высокий защитный иммунитет у мышей BALB/c против заражения штаммом *B. abortus* S2308.

Однако бактериальные клетки могут быть не полностью инактивированы путем биологического лизиса, что создает риск, связанный с вакцинацией. C. He *et al.* [61] создали BG штамма *B. abortus* A19 (BGA19) с помощью стратегии двойной инактивации с биологическим лизисом, опосредованным

белком Е бактериофага ϕ X174, и последующей обработкой перекисью водорода, что обеспечивало 100%-ную инактивацию бруцелл, так что жизнеспособные бактериальные клетки не были обнаружены даже при сверхвысокой концентрации 10^{10} КОЕ/мл. BG A19 обладали типичной морфологией BG, хорошей генетической стабильностью, не вызывали побочных реакций у морских свинок. Уровни антител, интерферона- γ , интерлейкина-4 и CD4⁺ Т-клеток у морских свинок, привитых вакциной A19BG, были аналогичны уровням у животных, привитых живым аттенуированным вакцинным штаммом A19. Иммунизация BG A19 обеспечивала такой же уровень защиты, как и A19, от *B. melitensis* M28 как у морских свинок, так и у крупного рогатого скота. В заключение отметим, что комбинация биологического лизиса и инактивации, опосредованной H₂O₂, является безопасной и эффективной стратегией, которая может служить эталоном для приготовления вакцин BG.

Антимикробные пептиды (АМП) являются компонентом врожденной иммунной системы. Механизм действия АМП заключается в нарушении барьерной функции мембраны путем образования пор или индукции проницаемости мембраны без нарушения целостности мембраны [62]. Кроме того, известно, что некоторые АМП действуют как адъюванты [63]. Свиной миелоидный антимикробный пептид-36 (Porcine myeloid antimicrobial peptide-36 – РМАР-36) обладает самым высоким положительным зарядом среди АМП, обнаруженных у свиней [64]. N-концевой α -спиральный домен РМАР-36 состоит из 24 аминокислот (GI24) и может также проникать через бактериальную мембрану, как и полный 36-аминокислотный белок РМАР-36 [65].

А.И. Kwon *et al.* [35] впервые использовали фрагмент РМАР-36, названный GI24, для лизиса клеток и получения BG *B. abortus*. Мыши, внутрибрюшинно иммунизированные BG *B. abortus*, продуцировали значительное количество сывороточных IgG и цитокинов (TNF- α и IFN- γ), связанных с иммунным ответом типа Th1. Кроме того, иммунизированные внутрибрюшинно мыши были достоверно защищены от системной инфекции при заражении вирулентным штаммом бруцелл *B. abortus* 544. Позднее была показана протективность клеток *B. abortus*, лизированных с помощью GI24, для иммунизированных подожно биглей [66] и черных корейских коз [67].

Для получения BG В. Sumathi *et al.* [68] лизировали клетки вакцинного штамма *B. melitensis* Rev 1 и дикого штамма *B. melitensis* ($3,0 \cdot 10^9$ КОЕ/мл) с использованием свиного кателицидина GI24 из расчета 80 мкг/мл. Формирование BG подтверждали отсутствием роста бруцелл на селективном агаре, отсутствием амплификации фрагмента размером 731 п.н. в АМОС-ПЦР и морфологическими изменениями клеток, включая образование туннелей при сканирующей и просвечивающей электронной микроскопии. Две BG-вакцины и стандартную вакцину Rev 1

вводили внутрибрюшинно мышам, оценивая гуморальный иммунный ответ путем количественного определения уровней IgG в сыворотке и клеточно-опосредованный иммунный ответ с помощью анализа пролиферации лимфоцитов и определения профиля Th2 (IL-4, IL-10) и Th1 (TNF- α , IFN- γ) цитокинов. Вакцинный штамм *B. melitensis* Rev 1 имел незначительное преимущество перед двумя вариантами BG по индукции иммунного ответа, но BG оказались более безопасны и обеспечили сопоставимый уровень защиты вакцинированных мышей после заражения вирулентным штаммом *B. melitensis* 16М.

Yersinia pestis. Чума – зоонозная бактериальная инфекция, вызываемая *Y. pestis* (I группа патогенности), унесла более 200 млн человеческих жизней. За чуть более 100 лет с момента открытия ее этиологического агента предпринято несколько попыток разработать эффективную вакцину против чумы. Классические убитые и живые чумные вакцины первого поколения спасли десятки миллионов людей, но убитые неэффективны против легочной чумы, а живые могут вызвать у лиц с нарушениями иммунного статуса или метаболическими нарушениями генерализованный инфекционный процесс с летальным исходом. Субъединичные вакцины на основе одного или двух иммунодоминантных антигенов (F1 и/или V) чумного микроба не защищают от заболевания, вызванного штаммами, лишенными F1 и/или продуцирующими слабо перекрестно реагирующие изоформы V антигена [69]. Кроме того, обеспечивая 100 % защиту мышей субъединичные вакцины защищают от болезни лишь часть более близких к человеку по иммунному ответу морских свинок и обезьян. В свою очередь нерастворимый в воде «остаточный» антиген из клеточных стенок *Y. pestis* стимулирует Т-клеточный иммунный ответ, обеспечивающий надежную защиту от инфекции морских свинок и обезьян, но не эффективный в отношении мышей [70].

BG на основе *Y. pestis* были получены путем использования комбинации генов, кодирующих лизис-опосредующий белок Е бактериофага ϕ X174 и/или холин-эндолизинные системы фагов λ или чумного диагностического бактериофага Л-413С. Экспрессия гена белка Е приводила к формированию BG, которые сохраняли форму исходной бактерии. Одновременная экспрессия гена белка Е с генами, кодирующими холин-эндолизинную систему фага Л-413С, вызывала образование структур, напоминающих коллапсированные (схлопнувшиеся) мешочки. Такие структуры, утратившие свою жесткость, также образовались в результате экспрессии только генов холин-эндолизина фага Л-413С. Аналогичная холин-эндолизинная система из фага λ , содержащего мутацию в гене холина S и интактные гены R-Rz, кодирующие эндолизины, приводила к образованию смесей BG как сохранивших, так и полностью утративших исходную форму, определяемую пептидогликановым каркасом. Добавление протеина Е к работе этой системы смещало равновесие в смеси в сторону

спавшихся мешочков. Утрату жесткости структуры BG можно объяснить полным лизисом пептидогликанового скелета. Иммунизация лабораторных животных вариантами BG с последующим заражением штаммом *Y. pestis* дикого типа показала, что бактериальные оболочки защищали только морских свинок. BG с максимально гидролизированным пептидогликаном обладали большей протективностью по сравнению с BG с сохраненным пептидогликановым скелетом [18].

***Burkholderia pseudomallei* и *Burkholderia mallei*.**

Род *Burkholderia* включает три вида: *B. pseudomallei*, *B. mallei* и *B. cepacia*, – вызывающих смертельные заболевания людей. *B. pseudomallei* и *B. mallei* – возбудители мелиоидоза и сапа соответственно, а заражение *B. cepacia* приводит к летальному исходу у пациентов с муковисцидозом. Из-за высокого уровня инфекционности и устойчивости ко многим широко используемым антибиотикам, а также высокой летальности *B. mallei* и *B. pseudomallei* относят ко II группе патогенности. Лечение заболеваний, вызванных этими бактериями, часто безуспешно с частыми рецидивами инфекции. В настоящее время не существует эффективных вакцин для предотвращения инфекций, вызываемых *Burkholderia* spp. [71]. Несмотря на сообщения о способности нескольких вакцин против буркгольдерии обеспечивать определенную иммунопротективность, ни одна из вакцин не достигла стадии клинических испытаний, что указывает на серьезные трудности, существующие при разработке безопасных вакцин против инфекций, вызванных данными возбудителями [71]. Обнаружение ряда литических бактериофагов *Burkholderia* [72] дает надежду на возможность создания BG патогенов данного рода в качестве инструментов для разработки убитых цельноклеточных вакцин.

***Bacillus anthracis*.** До настоящего времени нет сообщений о получении BG грамположительной бактерии *B. anthracis* (II группа патогенности). Экспрессия белка Е в грамположительных бактериях приводит к гибели клеток без лизиса, поскольку образование BG зависит от слияния внутренней и внешней мембран, что происходит только у грамотрицательных бактерий [73]. Однако бактериальные тени *B. anthracis* можно попытаться получить химическим методом, успешно опробованным на других грамположительных патогенах [36, 38, 39, 74].

Без сомнения, вакцины на основе BG демонстрируют явное превосходство над убитыми вакцинами. Этот метод продемонстрировал свою пригодность для приготовления альтернативно-убитых рекомбинантных, ДНК- и бактериально-теневогой вакцин, а также адъювантов, антител, терапевтических и клеточных прототипов вакцин. BG обладают замечательной адъювантностью при нескольких способах доставки. Они улучшают эффективность ДНК вакцин, лизатов опухолевых клеток. BG специфически доставляют собственные или включенные в их состав антигены к антигенпрезентирующим клеткам, что

индуцирует формирование напряженного и сбалансированного клеточного (Th1) и гуморального (Th2) иммунитета даже при низких концентрациях антигена или однократной иммунизации, особенно при введении через слизистую оболочку. Аэрозольная иммунизация BG показала свою эффективность в качестве метода массовой иммунизации. В отличие от традиционных способов наработки рекомбинантных белков, формирование BG сопровождается правильным фолдингом, обеспечивающим нативную конформацию трехмерной структуры экспрессируемых белков [75].

Использование химического способа при производстве бактериальных теней все еще имеет некоторые ограничения. Это связано с тем, что даже мягкий химический лизис способен изменять конфигурацию поверхностных антигенов бактерий. Более того, образование капсул или экзополисахаридов некоторыми видами бактерий или даже присутствие бактериальных клеток с разными фазами роста в одной и той же культуре может сделать результат процесса химического гидролиза переменным и труднопроизводимым. Это означает, что в одной и той же микробной культуре химический процесс может чрезмерно воздействовать на одни клетки и полностью разрушать их, в то время как другие клетки остаются жизнеспособными.

С биотехнологической точки зрения идеальная BG вакцина должна: 1) содержать нативные целевые иммунодоминантные антигены; 2) отвечать требованиям биологической безопасности; 3) быть технологичной в плане рациональной продолжительности рабочего цикла, используемых химических веществ и необходимых этапов очистки; 4) обеспечивать в процессе наработки высокую плотность биомассы и 5) обладать стабильностью конечного продукта. С точки зрения биобезопасности технология получения BG должна: 1) гарантировать полное уничтожение жизнеспособных клеток штамма-продуцента; 2) эффективно работать в культурах с высокой плотностью; 3) быть независимой от использования антибиотиков для любых целей во время производства; 4) удалять остаточные количества нуклеиновых кислот; 5) использовать для наработки BG безопасные производственные культуры бактерий, не обладающие перекрестными реакциями с антигенами хозяина и/или микробиомом человека.

Для обеспечения уверенного выхода BG на рынок медицинских препаратов необходимо: 1) расширить спектр фагов – источников лизирующих генов, – комбинации которых обеспечат полную утрату жизнеспособности продуцентов BG и удаление бактериальных нуклеиновых кислот; 2) найти и охарактеризовать новые продукты, которые могут лизировать грамположительные бактерии и грибы; 3) подобрать несколько универсальных для отдельных филогенетических групп носителей на основе безопасных грамотрицательных бактерий, которые имеют высокую скорость наработки, эффективно

лизируются, доставляют целевой антиген к антиген-презентирующим клеткам и выступают в качестве адъювантов.

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

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2021–2025 гг. «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территории Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней».

Список литературы

1. Вакцины: путь от изобретения до применения. [Электронный ресурс]. URL: <https://asko-med.ru/blog/vaktsiny/vaktsiny-put-ot-izobreteniya-do-primeneniya/> (дата обращения 28.12.2022).
2. Сравнение размеров геномов вируса, бактерии и млекопитающего. [Электронный ресурс]. URL: <https://kodomo.fbb.msu.ru/~nataliya.kashko/term1/comparison/index.html> (дата обращения 28.12.2022).
3. Charlton Hume H.K., Lua L.H.L. Platform technologies for modern vaccine manufacturing. *Vaccine*. 2017; 35(35 Pt. A):4480–5. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.02.069.
4. Monrad J.T., Sandbrink J.B., Cherian N.G. Promoting versatile vaccine development for emerging pandemics. *NPJ Vaccines*. 2021; 6(1):26. DOI: 10.1038/s41541-021-00290-y.
5. Langemann T., Koller V.J., Muhammad A., Kudela P., Mayr U.B., Lubitz W. The Bacterial Ghost platform system: production and applications. *Bioeng. Bugs*. 2010; 1(5):326–36. DOI: 10.4161/bbug.1.5.12540.
6. Haq I.U., Chaudhry W.N., Akhtar M.N., Andleeb S., Qadri I. Bacteriophages and their implications on future biotechnology: a review. *Virol. J.* 2012; 9(1):9. DOI: 10.1186/1743-422X-9-9.
7. Young I., Wang I., Roof W.D. Phages will out: strategies of host cell lysis. *Trends Microbiol.* 2000; 8(3):120–8. DOI: 10.1016/S0966-842X(00)01705-4.
8. Mendel S., Holbourn J.M., Schouten J.A., Bugg T.D.H. Interaction of the transmembrane domain of lysis protein E from bacteriophage ϕ X174 with bacterial translocase MraY and peptidyl-prolyl isomerase SlyD. *Microbiology*. 2006; 152(10):2959–67. DOI: 10.1099/mic.0.28776-0.
9. Witte A., Wanner G., Sulzner M., Lubitz W. Dynamics of ϕ X174 protein E-mediated lysis of *Escherichia coli*. *Arch. Microbiol.* 1992; 157(4):381–8. DOI: 10.1007/BF00248685.
10. Nakayama K., Kelly S.M., Curtiss R. Construction of an ASD+ expression-cloning vector: Stable maintenance and high level expression of cloned genes in a *Salmonella* vaccine strain. *Nat. Biotechnol.* 1988; 6(6):693–7. DOI: 10.1038/nbt0688-693.
11. Szostak M.P., Hensel A., Eko F.O., Klein R., Auer T., Mader H., Haslberger A., Bunka S., Wanner G., Lubitz W. Bacterial ghosts: non-living candidate vaccines. *J. Biotechnol.* 1996; 44(1-3):161–70. DOI: 10.1016/0168-1656(95)00123-9.
12. Jechlinger W., Szostak M.P., Witte A., Lubitz W. Altered temperature induction sensitivity of the lambda pR/cI857 system for controlled gene E expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* 1999; 173(2):347–52. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13524.x.
13. Fu L., Lu C. A novel dual vector coexpressing ϕ X174 lysis E gene and staphylococcal nuclease A gene on the basis of Lambda promoter pR and pL, respectively. *Mol. Biotechnol.* 2013; 54(2):436–44. DOI: 10.1007/s12033-012-9581-0.
14. Paukner S., Stiedl T., Kudela P., Bizik J., Al Laham F., Lubitz W. Bacterial ghosts as a novel advanced targeting system for drug and DNA delivery. *Expert. Opin. Drug. Deliv.* 2006; 3(1):11–22. DOI: 10.1517/17425247.3.1.11.
15. Kloos D.U., Strätz M., Güttler A., Steffan R.J., Timmis K.N. Inducible cell lysis system for the study of natural transformation and environmental fate of DNA released by cell death. *J. Bacteriol.* 1994; 176(23):7352–61. DOI: 10.1128/jb.176.23.7352-7361.1994.
16. Zhu W., Zhang Y., Liu X. Efficient production of safety-enhanced *Escherichia coli* ghosts by tandem expression of ϕ X174 mutant gene E and staphylococcal nuclease A gene. *Microbiol. Res.* 2015; 176:7–13. DOI: 10.1016/j.micres.2015.03.011.
17. Tian Q., Zhou W., Si W., Yi F., Hua X., Yue M., Chen L., Liu S., Yu S. Construction of *Salmonella pullorum* ghost by co-expression of lysis gene E and the antimicrobial peptide SMAP29 and evaluation of its immune efficacy in specific-pathogen-free chicks. *J. Integr. Agric.* 2018; 17(1):197–209. DOI: 10.1016/S2095-3119(17)61696-4.
18. Dentovskaya S.V., Vagaishkaya A.S., Platonov M.E., Trunyakova A.S., Kotov S.A., Krasil'nikova E.A., Titareva G.M., Mazurina E.M., Gape'chenkova T.V., Shaikhutdinova R.Z., Ivanov S.A., Kombarova T.I., Gerasimov V.N., Uversky V.N., Anisimov A.P. Peptidoglycan-free bacterial ghosts confer enhanced protection against *Yersinia pestis* infection. *Vaccines (Basel)*. 2021; 10(1):51. DOI: 10.3390/vaccines10010051.
19. Zhang X., Lan Y., Jiao W., Li Y., Tang L., Jiang Y., Cui W., Qiao X. Isolation and characterization of a novel virulent phage of *Lactobacillus casei* ATCC 393. *Food Environ. Virol.* 2015; 7(4):333–41. DOI: 10.1007/s12560-015-9206-4.
20. Hou R., Li M., Tang T., Wang R., Li Y., Xu Y., Tang L., Wang L., Liu M., Jiang Y., Cui W., Qiao X. Construction of *Lactobacillus casei* ghosts by Holin-mediated inactivation and the potential as a safe and effective vehicle for the delivery of DNA vaccines. *BMC Microbiol.* 2018; 18(1):80. DOI: 10.1186/s12866-018-1216-6.
21. Yu S.Y., Peng W., Si W., Yin L., Liu S.G., Liu H.F., Zhao H.L., Wang C.L., Chang Y.H., Lin Y.Z. Enhancement of bacteriolysis of shuffled phage ϕ X174 gene E. *Virol. J.* 2011; 8:206. DOI: 10.1186/1743-422X-8-206.
22. Haidinger W., Szostak M.P., Beisker W., Lubitz W. Green fluorescent protein (GFP)-dependent separation of bacterial ghosts from intact cells by FACS. *Cytometry*. 2001; 44(2):106–12.
23. Won G., Kim B., Lee J.H. A novel method to generate *Salmonella* Typhi Ty21a ghosts exploiting the λ phage holin-endolysin system. *Oncotarget*. 2017; 8(29):48186–95. DOI: 10.18632/oncotarget.18383.
24. Kwon S.R., Kang Y.J., Lee D.J., Lee E.H., Nam Y.K., Kim S.K., Kim K.H. Generation of *Vibrio anguillarum* ghost by coexpression of ϕ X174 lysis E gene and staphylococcal nuclease A gene. *Mol. Biotechnol.* 2009; 42(2):154–9. DOI: 10.1007/s12033-009-9147-y.
25. Zhang C., Zhao Z., Li J., Song K.G., Hao K., Wang J., Zhu B. Bacterial ghost as delivery vehicles loaded with DNA vaccine induce significant and specific immune responses in common carp against spring viremia of carp virus. *Aquaculture*. 2019; 504:361–8. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.02.021.
26. Kudela P., Paukner S., Mayr U.B., Cholujova D., Schwarczova Z., Sedlak J., Bizik J., Lubitz W. Bacterial ghosts as novel efficient targeting vehicles for DNA delivery to the human monocyte-derived dendritic cells. *J. Immunother.* 2005; 28(2):136–43. DOI: 10.1097/01.cji.0000154246.89630.6f.
27. Lv M., Qin Z., Yu J., Yuan J., Sun M., Wu C., Cai J. Immunogenicity of bacterial ghosts from *Escherichia coli* O78 isolated from ducklings. *Zhongguo Yufang Shouyi Xuebao / Chin. J. Prev. Vet. Med.* 2010; 32(9):712–5.
28. Ran X., Meng X.Z., Geng H.L., Chang C., Chen X., Wen X., Ni H. Generation of porcine *Pasteurella multocida* ghost vaccine and examination of its immunogenicity against virulent challenge in mice. *Microb. Pathog.* 2019; 132:208–14. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.04.016.
29. Amara A.A., Neama A.J., Hussein A., Hashish E.A., Sheweita S.A. Evaluation of the surface antigen of the *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ghosts prepared by “SLRP”. *Sci. World J.* 2014; 2014:840863. DOI: 10.1155/2014/840863.
30. Amara A.A., Salem-Bekhit M.M., Alanazi F.K. Sponge-like: a new protocol for preparing bacterial ghosts. *Sci. World J.* 2013; 2013:545741. DOI: 10.1155/2013/545741.
31. Sheweita S.A., Batah A.M., Ghazy A.A., Hussein A., Amara A.A. A new strain of *Acinetobacter baumannii* and characterization of its ghost as a candidate vaccine. *J. Infect. Public Health*. 2019; 12(6):831–42. DOI: 10.1016/j.jiph.2019.05.009.
32. Rabea S., Salem-Bekhit M.M., Alanazi F.K., Yassin A.S., Moneib N.A., Hashem A.E.M. A novel protocol for bacterial ghosts' preparation using tween 80. *Saudi Pharm. J.* 2018; 26(2):232–7. DOI: 10.1016/j.jsps.2017.12.006.
33. Palm-Apergi C., Hällbrink M. A new rapid cell-penetrating peptide based strategy to produce bacterial ghosts for plasmid delivery. *J. Control. Release*. 2008; 132(1):49–54. DOI: 10.1016/j.jconrel.2008.08.011.
34. Li L., Lei L., Zhang S., Han W., Wang W. Preparation and experimental immunity of *Actinobacillus pleuropneumoniae* ghost vaccine. *Chin. J. Vet. Sci.* 2012; 32(10):1461–7.
35. Kwon A.J., Moon J.Y., Kim W.K., Kim S., Hur J. Protection efficacy of the *Brucella abortus* ghost vaccine candidate lysed by the N-terminal 24-amino acid fragment (GI24) of the 36-amino acid peptide PMAP-36 (porcine myeloid antimicrobial peptide 36) in murine models. *J. Vet. Med. Sci.* 2016; 78(10):1541–8. DOI: 10.1292/jvms.16-0036.
36. Amara A.A. The critical activity for the cell wall degrading enzymes: Could the use of the lysozyme for Microbial Ghosts preparation establish emergence oral vaccination protocol? *Int. Sci. Invest. J.* 2016; 5(2):351–69.
37. Moon J.Y., Kim S.Y., Kim W.K., Rao Z., Park J.H., Mun J.Y., Kim B., Choi H.S., Hur J. Protective efficacy of a *Salmonella* Typhimurium ghost vaccine candidate constructed with a recombi-

- nant lysozyme-PMAP36 fusion protein in a murine model. *Can. J. Vet. Res.* 2017; 81(4):297–303.
38. Wang Q., Wang X., Wang X., Feng R., Luo Q., Huang J. Generation of a novel *Streptococcus agalactiae* ghost vaccine and examination of its immunogenicity against virulent challenge in tilapia. *Fish Shellfish Immunol.* 2018; 81:49–56. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.06.055.
39. Choi C.W., Ji S.M., Park H.J., Oh S., Vinod N., No H.B. Method of preparing bacterial ghosts from gram-positive bacteria by hydrochloric acid treatment. US11,066,638B2. *US Patent App.* 2021-07-20.
40. Vinod N., Oh S., Park H.J., Koo J.M., Choi C.W., Kim S.C. Generation of a novel *Staphylococcus aureus* ghost vaccine and examination of its immunogenicity against virulent challenge in rats. *Infect. Immun.* 2015; 83(7):2957–65. DOI: 10.1128/IAI.00009-15.
41. Эмирова Х.М., Толстова Е.М., Коган М.Ю., Орлова О.М., Абасеева Т.Ю., Панкратенко Т.Е., Шпикалова И.Ю. Гемолитико-уремический синдром, ассоциированный с шига-токсин-продуцирующей *Escherichia coli*. *Нефрология.* 2016; 20(2):18–32.
42. Cai K., Gao X., Li T., Hou X., Wang Q., Liu H., Xiao L., Tu W., Liu Y., Shi J., Wang H. Intragastric immunization of mice with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 bacterial ghosts reduces mortality and shedding and induces a Th2-type dominated mixed immune response. *Can. J. Microbiol.* 2010; 56(5):389–98. DOI: 10.1139/w10-025.
43. Mayr U.B., Kudela P., Atrasheuskaya A., Bukin E., Ignatyev G., Lubitz W. Rectal single dose immunization of mice with *Escherichia coli* O157:H7 bacterial ghosts induces efficient humoral and cellular immune responses and protects against the lethal heterologous challenge. *Microb. Biotechnol.* 2012; 5(2):283–94. DOI: 10.1111/j.1751-7915.2011.00316.x.
44. Ran X., Chen X., Wang S., Chang C., Wen X., Zhai J., Ni H. Preparation of porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) ghosts and immunogenic analysis in a mouse model. *Microb. Pathog.* 2019; 126:224–30. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.11.015.
45. Vilte D.A., Larzábal M., Mayr U.B., Garbaccio S., Gammella M., Rabinovitz B.C., Delgado F., Meikle V., Cantet R.J., Lubitz P., Lubitz W., Cataldi A., Mercado E.C. A systemic vaccine based on *Escherichia coli* O157:H7 bacterial ghosts (BGs) reduces the excretion of *E. coli* O157:H7 in calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2012; 146(2):169–76. DOI: 10.1016/j.vetimm.2012.03.002.
46. Cai K., Tu W., Liu Y., Li T., Wang H. Novel fusion antigen displayed-bacterial ghosts vaccine candidate against infection of *Escherichia coli* O157:H7. *Sci. Rep.* 2015; 5:17479. DOI: 10.1038/srep17479.
47. Paton A.W., Chen A.Y., Wang H., McAllister L.J., Höggerl F., Mayr U.B., Shewell L.K., Jennings M.P., Morona R., Lubitz W., Paton J.C. Protection against Shiga-toxinigenic *Escherichia coli* by non-genetically modified organism receptor mimic bacterial ghosts. *Infect. Immun.* 2015; 83(9):3526–33. DOI: 10.1128/IAI.00669-15.
48. Gong S., Nan N., Sun Y., He Z., Li J., Chen F., Li T., Ning N., Wang J., Li Z., Luo D., Wang H. Protective immunity elicited by VP1 Chimeric antigens of bacterial ghosts against hand-foot-and-mouth disease virus. *Vaccines (Basel).* 2020; 8(1):61. DOI: 10.3390/vaccines8010061.
49. Lagzian M., Bassami M.R., Dehghani H. *In vitro* responses of chicken macrophage-like monocytes following exposure to pathogenic and non-pathogenic *E. coli* ghosts loaded with a rational design of conserved genetic materials of influenza and Newcastle disease viruses. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2016; 176:5–17. DOI: 10.1016/j.vetimm.2016.05.005.
50. Cao J., Zhu X.C., Liu X.Y., Yuan K., Zhang J.J., Gao H.H., Li J.N. An oral double-targeted DNA vaccine induces systemic and intestinal mucosal immune responses and confers high protection against *Vibrio mimicus* in grass carps. *Aquaculture.* 2019; 504:248–59. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.02.006.
51. Hajam I.A., Dar P.A., Appavoo E., Kishore S., Bhanuprakash V., Ganesh K. Bacterial ghosts of *Escherichia coli* drive efficient maturation of bovine monocyte-derived dendritic cells. *PLoS One.* 2015; 10(12):e0144397. DOI: 10.1371/journal.pone.0144397.
52. Dobrovolskienė N., Pašukonienė V., Darinskas A., Kraško J.A., Žilionytė K., Mlyniska A., Gudlevičienė Z., Mišeikytė-Kaubrienė E., Schijns V., Lubitz W., Kudela P., Strioga M. Tumor lysate-loaded Bacterial Ghosts as a tool for optimized production of therapeutic dendritic cell-based cancer vaccines. *Vaccine.* 2018; 36(29):4171–80. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.06.016.
53. Eko F.O., Hensel A., Bunka S., Lubitz W. Immunogenicity of *Vibrio cholerae* ghosts following intraperitoneal immunization of mice. *Vaccine.* 1994; 12(14):1330–4. DOI: 10.1016/s0264-410x(94)80061-4.
54. Eko F.O., Mayr U.B., Attridge S.R., Lubitz W. Characterization and immunogenicity of *Vibrio cholerae* ghosts expressing toxin-coregulated pili. *J. Biotechnol.* 2000; 83(1-2):115–23. DOI: 10.1016/s0168-1656(00)00315-1.
55. Eko F.O., Schukovskaya T., Lotzmanova E.Y., Firstova V.V., Emalyanova N.V., Klueva S.N., Kravtsov A.L., Livanova L.F., Kutnyrev V.V., Igietsme J.U., Lubitz W. Evaluation of the protective efficacy of *Vibrio cholerae* ghost (VCG) candidate vaccines in rabbits. *Vaccine.* 2003; 21(25-26):3663–74. DOI: 10.1016/s0264-410x(03)00388-8.
56. Eko F.O., Szostak M.P., Wanner G., Lubitz W. Production of *Vibrio cholerae* ghosts (VCG) by expression of a cloned phage lysis gene: potential for vaccine development. *Vaccine.* 1994; 12(13):1231–7. DOI: 10.1016/0264-410x(94)90249-6.
57. Eko F.O., Lubitz W., McMillan L., Ramey K., Moore T.T., Ananaba G.A., Lyn D., Black C.M., Igietsme J.U. Recombinant *Vibrio cholerae* ghosts as a delivery vehicle for vaccinating against *Chlamydia trachomatis*. *Vaccine.* 2003; 21(15):1694–703. DOI: 10.1016/s0264-410x(02)00677-1.
58. Wang S., Li Y., Sun Y., Ji X., Zhu L., Guo X., Zhou W., Zhou B., Liu S., Zhang R., Feng S. Immune responses and protection induced by *Brucella suis* S2 bacterial ghosts in mice. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2015; 166(3-4):138–44. DOI: 10.1016/j.vetimm.2015.04.008.
59. Qian J., Bu Z., Lang X., Yan G., Yang Y., Wang X., Wang X. A safe and molecular-tagged *Brucella canis* ghosts confers protection against virulent challenge in mice. *Vet. Microbiol.* 2017; 204:121–8. DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.04.027.
60. Wang S., Li Z., Zhang J., Xi L., Cui Y., Zhang W., Zhang J., Zhang H. A safe non-toxic *Brucella abortus* ghosts induce immune responses and confer protection in BALB/c mice. *Mol. Immunol.* 2020; 124:117–24. DOI: 10.1016/j.molimm.2020.06.002.
61. He C., Yang J., Zhao H., Liu M., Wu D., Liu B., He S., Chen Z. Vaccination with a *Brucella* ghost developed through a double inactivation strategy provides protection in Guinea pigs and cattle. *Microb. Pathog.* 2022; 162:105363. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.105363.
62. Boman H.G. Antibacterial peptides: basic facts and emerging concepts. *J. Intern. Med.* 2003; 254(3):197–215. DOI: 10.1046/j.1365-2796.2003.01228.x.
63. King T.P., Jim S.Y., Wittkowski K.M. Inflammatory role of two venom components of yellow jackets (*Vespa vulgaris*): a mast cell degranulating peptide mastoparan and phospholipase A1. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2003; 131(1):25–32. DOI: 10.1159/000070431.
64. Scocchi M., Zelezetsky I., Benincasa M., Gennaro R., Mazzoli A., Tossi A. Structural aspects and biological properties of the cathelicidin PMAP-36. *FEBS J.* 2005; 272(17):4398–406. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2005.04852.x.
65. Lv Y., Wang J., Gao H., Wang Z., Dong N., Ma Q., Shan A. Antimicrobial properties and membrane-active mechanism of a potential α -helical antimicrobial derived from cathelicidin PMAP-36. *PLoS One.* 2014; 9(1):e86364. DOI: 10.1371/journal.pone.0086364.
66. Kim W.K., Moon J.Y., Cho J.S., Akanda M.R., Park B.Y., Kug Eo S., Park S.Y., Lee J.H., Hur J. *Brucella abortus* lysed cells using G124 induce robust immune response and provide effective protection in Beagles. *Pathog. Dis.* 2018; 76(1). DOI: 10.1093/femspd/ftx124.
67. Kim W.K., Moon J.Y., Cho J.S., Ochirkhuyag E., Akanda M.R., Park B.Y., Hur J. Protective efficacy of an inactivated *Brucella abortus* vaccine candidate lysed by G124 against brucellosis in Korean black goats. *Can. J. Vet. Res.* 2019; 83(1):68–74.
68. Sumathi B., Veeragowda B., Byregowda S., Rathnamma D., Rajeswari S., Isloor S., Sobharani M., Venkatesha M., Narayanaswamy H. Construction of *Brucella melitensis* ghost as a putative vaccine candidate against re-emerging disease – Brucellosis. *Int. J. of Infect. Dis.* 2020; 101:475–6. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.09.1245.
69. Дентовская С.В., Копылов П.Х., Иванов С.А., Агеев С.А., Анисимов А.П. Молекулярные основы вакцинопрофилактики чумы. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2013; 3:3–12.
70. Byvalov A.A., Konyshov I.V., Uversky V.N., Dентовская С.В., Анисимов А.П. *Yersinia* outer membrane vesicles as potential vaccine candidates in protecting against plague. *Biomolecules.* 2020; 10(12):1694. DOI: 10.3390/biom10121694.
71. Elkins K.L., Burns D.L., Schmitt M.P., Weir J.P. Vaccines against bioterror agents. In: Kaufmann S.H.E., editor. *Novel Vaccination Strategies.* 2004. P. 529–45. DOI: 10.1002/3527601449.ch24.
72. Kvitko B.H., Cox C.R., DeShazer D., Johnson S.L., Voorhees K.J., Schweizer H.P. ϕ X216, a P2-like bacteriophage with broad *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei* strain infectivity. *BMC Microbiol.* 2012; 12:289. DOI: 10.1186/1471-2180-12-289.
73. Witte A., Wanner G., Bläsi U., Halfmann G., Szostak M., Lubitz W. Endogenous transmembrane tunnel formation mediated by phi X174 lysis protein E. *J. Bacteriol.* 1990; 172(7):4109–14. DOI: 10.1128/jb.172.7.4109-4114.1990.
74. Wu X., Ju X., Du L., Yuan J., Wang L., He R., Chen Z. Production of bacterial ghosts from gram-positive pathogen *Listeria monocytogenes*. *Foodborne Pathog. Dis.* 2017; 14(1):1–7. DOI: 10.1089/tpd.2016.2184.
75. Chen H., Ji H., Kong X., Lei P., Yang Q., Wu W., Jin L., Sun D. Bacterial ghosts-based vaccine and drug delivery systems. *Pharmaceutics.* 2021; 13(11):1892. DOI: 10.3390/pharmaceutics13111892.

References

- [Vaccines: the path from invention to application]. (Cited 28 Dec 2022). [Internet]. Available from: <https://asko-med.ru/blog/vaktsiny/vaktsiny-put-ot-izobreteniya-do-primeneniya/>.
- [Comparison of the genome sizes of the virus, bacteria, and mammalian]. (Cited 28 Dec 2022). [Internet]. Available from: <https://kodomo.fbb.msu.ru/~nataliya.kashko/term1/comparison/index.html>.
- Charlton Hume H.K., Lua L.H.L. Platform technologies for modern vaccine manufacturing. *Vaccine*. 2017; 35(35 Pt. A):4480–5. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.02.069.
- Monrad J.T., Sandbrink J.B., Cherian N.G. Promoting versatile vaccine development for emerging pandemics. *NPJ Vaccines*. 2021; 6(1):26. DOI: 10.1038/s41541-021-00290-y.
- Langemann T., Koller V.J., Muhammad A., Kudela P., Mayr U.B., Lubitz W. The Bacterial Ghost platform system: production and applications. *Bioeng. Bugs*. 2010; 1(5):326–36. DOI: 10.4161/bbug.1.5.12540.
- Haq I.U., Chaudhry W.N., Akhtar M.N., Andleeb S., Qadri I. Bacteriophages and their implications on future biotechnology: a review. *Virol. J.* 2012; 9(1):9. DOI: 10.1186/1743-422X-9-9.
- Young I., Wang I., Roof W.D. Phages will out: strategies of host cell lysis. *Trends Microbiol.* 2000; 8(3):120–8. DOI: 10.1016/S0966-842X(00)01705-4.
- Mendel S., Holbourn J.M., Schouten J.A., Bugg T.D.H. Interaction of the transmembrane domain of lysis protein E from bacteriophage ϕ X174 with bacterial translocase MraY and peptidyl-prolyl isomerase SlyD. *Microbiology*. 2006; 152(10):2959–67. DOI: 10.1099/mic.0.28776-0.
- Witte A., Wanner G., Sulzner M., Lubitz W. Dynamics of PhiX174 protein E-mediated lysis of *Escherichia coli*. *Arch. Microbiol.* 1992; 157(4):381–8. DOI: 10.1007/BF00248685.
- Nakayama K., Kelly S.M., Curtiss R. Construction of an ASD+ expression-cloning vector: Stable maintenance and high level expression of cloned genes in a *Salmonella* vaccine strain. *Nat. Biotechnol.* 1988; 6(6):693–7. DOI: 10.1038/nbt0688-693.
- Szostak M.P., Hensel A., Eko F.O., Klein R., Auer T., Mader H., Haslberger A., Bunka S., Wanner G., Lubitz W. Bacterial ghosts: non-living candidate vaccines. *J. Biotechnol.* 1996; 44(1-3):161–70. DOI: 10.1016/0168-1656(95)00123-9.
- Jechlinger W., Szostak M.P., Witte A., Lubitz W. Altered temperature induction sensitivity of the lambda pR/cI857 system for controlled gene E expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* 1999; 173(2):347–52. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb13524.x.
- Fu L., Lu C. A novel dual vector coexpressing PhiX174 lysis E gene and staphylococcal nuclease A gene on the basis of Lambda promoter pR and pL, respectively. *Mol. Biotechnol.* 2013; 54(2):436–44. DOI: 10.1007/s12033-012-9581-0.
- Paukner S., Stiedl T., Kudela P., Bizik J., Al Laham F., Lubitz W. Bacterial ghosts as a novel advanced targeting system for drug and DNA delivery. *Expert. Opin. Drug. Deliv.* 2006; 3(1):11–22. DOI: 10.1517/17425247.3.1.11.
- Kloos D.U., Strätz M., Güttler A., Steffan R.J., Timmis K.N. Inducible cell lysis system for the study of natural transformation and environmental fate of DNA released by cell death. *J. Bacteriol.* 1994; 176(23):7352–61. DOI: 10.1128/jb.176.23.7352-7361.1994.
- Zhu W., Zhang Y., Liu X. Efficient production of safety-enhanced *Escherichia coli* ghosts by tandem expression of PhiX 174 mutant gene E and staphylococcal nuclease A gene. *Microbiol. Res.* 2015; 176:7–13. DOI: 10.1016/j.micres.2015.03.011.
- Tian Q., Zhou W., Si W., Yi F., Hua X., Yue M., Chen L., Liu S., Yu S. Construction of *Salmonella pullorum* ghost by co-expression of lysis gene E and the antimicrobial peptide SMAP29 and evaluation of its immune efficacy in specific-pathogen-free chicks. *J. Integr. Agric.* 2018; 17(1):197–209. DOI: 10.1016/S2095-3119(17)61696-4.
- Dentovskaya S.V., Vagaiskaya A.S., Platonov M.E., Trunyakova A.S., Kotov S.A., Krasil'nikova E.A., Titareva G.M., Mazurina E.M., Gape'chenko T.V., Shaikhutdinova R.Z., Ivanov S.A., Kombarova T.I., Gerasimov V.N., Uversky V.N., Anisimov A.P. Peptidoglycan-free bacterial ghosts confer enhanced protection against *Yersinia pestis* infection. *Vaccines (Basel)*. 2021; 10(1):51. DOI: 10.3390/vaccines10010051.
- Zhang X., Lan Y., Jiao W., Li Y., Tang L., Jiang Y., Cui W., Qiao X. Isolation and characterization of a novel virulent phage of *Lactobacillus casei* ATCC 393. *Food Environ. Virol.* 2015; 7(4):333–41. DOI: 10.1007/s12560-015-9206-4.
- Hou R., Li M., Tang T., Wang R., Li Y., Xu Y., Tang L., Wang L., Liu M., Jiang Y., Cui W., Qiao X. Construction of *Lactobacillus casei* ghosts by Holin-mediated inactivation and the potential as a safe and effective vehicle for the delivery of DNA vaccines. *BMC Microbiol.* 2018; 18(1):80. DOI: 10.1186/s12866-018-1216-6.
- Yu S.Y., Peng W., Si W., Yin L., Liu S.G., Liu H.F., Zhao H.L., Wang C.L., Chang Y.H., Lin Y.Z. Enhancement of bacteriolysis of shuffled phage PhiX174 gene E. *Virol. J.* 2011; 8:206. DOI: 10.1186/1743-422X-8-206.
- Haidinger W., Szostak M.P., Beisker W., Lubitz W. Green fluorescent protein (GFP)-dependent separation of bacterial ghosts from intact cells by FACS. *Cytometry*. 2001; 44(2):106–12.
- Won G., Kim B., Lee J.H. A novel method to generate *Salmonella* Typhi Ty21a ghosts exploiting the λ phage holin-endolysin system. *Oncotarget*. 2017; 8(29):48186–95. DOI: 10.18632/oncotarget.18383.
- Kwon S.R., Kang Y.J., Lee D.J., Lee E.H., Nam Y.K., Kim S.K., Kim K.H. Generation of *Vibrio anguillarum* ghost by coexpression of PhiX174 lysis E gene and staphylococcal nuclease A gene. *Mol. Biotechnol.* 2009; 42(2):154–9. DOI: 10.1007/s12033-009-9147-y.
- Zhang C., Zhao Z., Li J., Song K.G., Hao K., Wang J., Zhu B. Bacterial ghost as delivery vehicles loaded with DNA vaccine induce significant and specific immune responses in common carp against spring viremia of carp virus. *Aquaculture*. 2019; 504:361–8. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.02.021.
- Kudela P., Paukner S., Mayr U.B., Cholujova D., Schwarczova Z., Sedlak J., Bizik J., Lubitz W. Bacterial ghosts as novel efficient targeting vehicles for DNA delivery to the human monocyte-derived dendritic cells. *J. Immunother.* 2005; 28(2):136–43. DOI: 10.1097/01.cji.0000154246.89630.6f.
- Lu M., Qin Z., Yu J., Yuan J., Sun M., Wu C., Cai J. Immunogenicity of bacterial ghosts from *Escherichia coli* O78 isolated from ducklings. *Zhongguo Yufang Shouyi Xuebao / Chin. J. Prev. Vet. Med.* 2010; 32(9):712–5.
- Ran X., Meng X.Z., Geng H.L., Chang C., Chen X., Wen X., Ni H. Generation of porcine *Pasteurella multocida* ghost vaccine and examination of its immunogenicity against virulent challenge in mice. *Microb. Pathog.* 2019; 132:208–14. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.04.016.
- Amara A.A., Neama A.J., Hussein A., Hashish E.A., Sheweita S.A. Evaluation of the surface antigen of the *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ghosts prepared by "SLRP". *Sci. World J.* 2014; 2014:840863. DOI: 10.1155/2014/840863.
- Amara A.A., Salem-Bekhit M.M., Alanazi F.K. Sponge-like: a new protocol for preparing bacterial ghosts. *Sci. World J.* 2013; 2013:545741. DOI: 10.1155/2013/545741.
- Sheweita S.A., Batah A.M., Ghazy A.A., Hussein A., Amara A.A. A new strain of *Acinetobacter baumannii* and characterization of its ghost as a candidate vaccine. *J. Infect. Public Health*. 2019; 12(6):831–42. DOI: 10.1016/j.jiph.2019.05.009.
- Rabea S., Salem-Bekhit M.M., Alanazi F.K., Yassin A.S., Moneib N.A., Hashem A.E.M. A novel protocol for bacterial ghosts' preparation using tween 80. *Saudi Pharm. J.* 2018; 26(2):232–7. DOI: 10.1016/j.jsps.2017.12.006.
- Palm-Apergi C., Hällbrink M. A new rapid cell-penetrating peptide based strategy to produce bacterial ghosts for plasmid delivery. *J. Control Release*. 2008; 132(1):49–54. DOI: 10.1016/j.jconrel.2008.08.011.
- Li L., Lei L., Zhang S., Han W., Wang W. Preparation and experimental immunity of *Actinobacillus pleuropneumoniae* ghost vaccine. *Chin. J. Vet. Sci.* 2012; 32(10):1461–7.
- Kwon A.J., Moon J.Y., Kim W.K., Kim S., Hur J. Protection efficacy of the *Brucella abortus* ghost vaccine candidate lysed by the N-terminal 24-amino acid fragment (G124) of the 36-amino acid peptide PMAP-36 (porcine myeloid antimicrobial peptide 36) in murine models. *J. Vet. Med. Sci.* 2016; 78(10):1541–8. DOI: 10.1292/jvms.16-0036.
- Amara A.A. The critical activity for the cell wall degrading enzymes: Could the use of the lysozyme for Microbial Ghosts preparation establish emergence oral vaccination protocol? *Int. Sci. Invest. J.* 2016; 5(2):351–69.
- Moon J.Y., Kim S.Y., Kim W.K., Rao Z., Park J.H., Mun J.Y., Kim B., Choi H.S., Hur J. Protective efficacy of a *Salmonella* Typhimurium ghost vaccine candidate constructed with a recombinant lysozyme-PMAP36 fusion protein in a murine model. *Can. J. Vet. Res.* 2017; 81(4):297–303.
- Wang Q., Wang X., Wang X., Feng R., Luo Q., Huang J. Generation of a novel *Streptococcus agalactiae* ghost vaccine and examination of its immunogenicity against virulent challenge in tilapia. *Fish Shellfish Immunol.* 2018; 81:49–56. DOI: 10.1016/j.fsi.2018.06.055.
- Choi C.W., Ji S.M., Park H.J., Oh S., Vinod N., No H.B. Method of preparing bacterial ghosts from gram-positive bacteria by hydrochloric acid treatment. US11,066,638B2. *US Patent App.* 2021-07-20.
- Vinod N., Oh S., Park H.J., Koo J.M., Choi C.W., Kim S.C. Generation of a novel *Staphylococcus aureus* ghost vaccine and examination of its immunogenicity against virulent challenge in rats. *Infect. Immun.* 2015; 83(7):2957–65. DOI: 10.1128/IAI.00009-15.
- Emirova Kh.M., Tolstova E.M., Kagan M.Yu., Orlova O.M., Abaseeva T.Yu., Pankratenko T.E., Shpikalova I.Yu. [Hemolytic uremic syndrome associated with Shiga toxin-producing *Escherichia coli*]. *Nefrologiya [Nephrology]*. 2016; 20(2):18–32.
- Cai K., Gao X., Li T., Hou X., Wang Q., Liu H., Xiao L., Tu W., Liu Y., Shi J., Wang H. Intragastric immunization of mice

with enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 bacterial ghosts reduces mortality and shedding and induces a Th2-type dominated mixed immune response. *Can. J. Microbiol.* 2010; 56(5):389–98. DOI: 10.1139/w10-025.

43. Mayr U.B., Kudela P., Atrasheuskaya A., Bukin E., Ignatyev G., Lubitz W. Rectal single dose immunization of mice with *Escherichia coli* O157:H7 bacterial ghosts induces efficient humoral and cellular immune responses and protects against the lethal heterologous challenge. *Microb. Biotechnol.* 2012; 5(2):283–94. DOI: 10.1111/j.1751-7915.2011.00316.x.

44. Ran X., Chen X., Wang S., Chang C., Wen X., Zhai J., Ni H. Preparation of porcine enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) ghosts and immunogenic analysis in a mouse model. *Microb. Pathog.* 2019; 126:224–30. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.11.015.

45. Vilte D.A., Larzábal M., Mayr U.B., Garbaccio S., Gammella M., Rabinovitz B.C., Delgado F., Meikle V., Cantet R.J., Lubitz P., Lubitz W., Cataldi A., Mercado E.C. A systemic vaccine based on *Escherichia coli* O157:H7 bacterial ghosts (BGs) reduces the excretion of *E. coli* O157:H7 in calves. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2012; 146(2):169–76. DOI: 10.1016/j.vetimm.2012.03.002.

46. Cai K., Tu W., Liu Y., Li T., Wang H. Novel fusion antigen displayed-bacterial ghosts vaccine candidate against infection of *Escherichia coli* O157:H7. *Sci. Rep.* 2015; 5:17479. DOI: 10.1038/srep17479.

47. Paton A.W., Chen A.Y., Wang H., McAllister L.J., Höggerl F., Mayr U.B., Shewell L.K., Jennings M.P., Morona R., Lubitz W., Paton J.C. Protection against Shiga-toxicogenic *Escherichia coli* by non-genetically modified organism receptor mimic bacterial ghosts. *Infect. Immun.* 2015; 83(9):3526–33. DOI: 10.1128/IAI.00669-15.

48. Gong S., Nan N., Sun Y., He Z., Li J., Chen F., Li T., Ning N., Wang J., Li Z., Luo D., Wang H. Protective immunity elicited by VP1 Chimeric antigens of bacterial ghosts against hand-foot-and-mouth disease virus. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8(1):61. DOI: 10.3390/vaccines8010061.

49. Lagzian M., Bassami M.R., Dehghani H. *In vitro* responses of chicken macrophage-like monocytes following exposure to pathogenic and non-pathogenic *E. coli* ghosts loaded with a rational design of conserved genetic materials of influenza and Newcastle disease viruses. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2016; 176:5–17. DOI: 10.1016/j.vetimm.2016.05.005.

50. Cao J., Zhu X.C., Liu X.Y., Yuan K., Zhang J.J., Gao H.H., Li J.N. An oral double-targeted DNA vaccine induces systemic and intestinal mucosal immune responses and confers high protection against *Vibrio mimicus* in grass carps. *Aquaculture*. 2019; 504:248–59. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.02.006.

51. Hajam I.A., Dar P.A., Appavoo E., Kishore S., Bhanuprakash V., Ganesh K. Bacterial ghosts of *Escherichia coli* drive efficient maturation of bovine monocyte-derived dendritic cells. *PLoS One*. 2015; 10(12):e0144397. DOI: 10.1371/journal.pone.0144397.

52. Dobrovol'skij N., Pašukonienė V., Darinskas A., Kraška J.A., Žilionytė K., Mlynka A., Gudlevičienė Z., Mišeikytė-Kaubrienė E., Schijns V., Lubitz W., Kudela P., Strioga M. Tumor lysate-loaded Bacterial Ghosts as a tool for optimized production of therapeutic dendritic cell-based cancer vaccines. *Vaccine*. 2018; 36(29):4171–80. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.06.016.

53. Eko F.O., Hensel A., Bunka S., Lubitz W. Immunogenicity of *Vibrio cholerae* ghosts following intraperitoneal immunization of mice. *Vaccine*. 1994; 12(14):1330–4. DOI: 10.1016/s0264-410x(94)80061-4.

54. Eko F.O., Mayr U.B., Attridge S.R., Lubitz W. Characterization and immunogenicity of *Vibrio cholerae* ghosts expressing toxin-coregulated pili. *J. Biotechnol.* 2000; 83(1-2):115–23. DOI: 10.1016/s0168-1656(00)00315-1.

55. Eko F.O., Schukovskaya T., Lotzmanova E.Y., Firstova V.V., Emalyanova N.V., Klueva S.N., Kravtsov A.L., Livanova L.F., Kuttyrev V.V., Igietseme J.U., Lubitz W. Evaluation of the protective efficacy of *Vibrio cholerae* ghost (VCG) candidate vaccines in rabbits. *Vaccine*. 2003; 21(25-26):3663–74. DOI: 10.1016/s0264-410x(03)00388-8.

56. Eko F.O., Szostak M.P., Wanner G., Lubitz W. Production of *Vibrio cholerae* ghosts (VCG) by expression of a cloned phage lysis gene: potential for vaccine development. *Vaccine*. 1994; 12(13):1231–7. DOI: 10.1016/0264-410x(94)90249-6.

57. Eko F.O., Lubitz W., McMillan L., Ramey K., Moore T.T., Ananaba G.A., Lyn D., Black C.M., Igietseme J.U. Recombinant *Vibrio cholerae* ghosts as a delivery vehicle for vaccinating against *Chlamydia trachomatis*. *Vaccine*. 2003; 21(15):1694–703. DOI: 10.1016/s0264-410x(02)00677-1.

58. Liu J., Li Y., Sun Y., Ji X., Zhu L., Guo X., Zhou W., Zhou B., Liu S., Zhang R., Feng S. Immune responses and protection induced by *Brucella suis* S2 bacterial ghosts in mice. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2015; 166(3-4):138–44. DOI: 10.1016/j.vetimm.2015.04.008.

59. Qian J., Bu Z., Lang X., Yan G., Yang Y., Wang X., Wang X. A safe and molecular-tagged *Brucella canis* ghosts confers protection

against virulent challenge in mice. *Vet. Microbiol.* 2017; 204:121–8. DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.04.027.

60. Wang S., Li Z., Zhang J., Xi L., Cui Y., Zhang W., Zhang J., Zhang H. A safe non-toxic *Brucella abortus* ghosts induce immune responses and confer protection in BALB/c mice. *Mol. Immunol.* 2020; 124:117–24. DOI: 10.1016/j.molimm.2020.06.002.

61. He C., Yang J., Zhao H., Liu M., Wu D., Liu B., He S., Chen Z. Vaccination with a *Brucella* ghost developed through a double inactivation strategy provides protection in Guinea pigs and cattle. *Microb. Pathog.* 2022; 162:105363. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.105363.

62. Boman H.G. Antibacterial peptides: basic facts and emerging concepts. *J. Intern. Med.* 2003; 254(3):197–215. DOI: 10.1046/j.1365-2796.2003.01228.x.

63. King T.P., Jim S.Y., Wittkowski K.M. Inflammatory role of two venom components of yellow jackets (*Vespa vulgaris*): a mast cell degranulating peptide mastoparan and phospholipase A1. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2003; 131(1):25–32. DOI: 10.1159/000070431.

64. Scocchi M., Zelezetsky I., Benincasa M., Gennaro R., Mazzoli A., Tossi A. Structural aspects and biological properties of the cathelicidin PMAP-36. *FEBS J.* 2005; 272(17):4398–406. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2005.04852.x.

65. Lv Y., Wang J., Gao H., Wang Z., Dong N., Ma Q., Shan A. Antimicrobial properties and membrane-active mechanism of a potential α -helical antimicrobial derived from cathelicidin PMAP-36. *PLoS One*. 2014; 9(1):e86364. DOI: 10.1371/journal.pone.0086364.

66. Kim W.K., Moon J.Y., Cho J.S., Akanda M.R., Park B.Y., Kug Eo S., Park S.Y., Lee J.H., Hur J. *Brucella abortus* lysed cells using G124 induce robust immune response and provide effective protection in Beagles. *Pathog. Dis.* 2018; 76(1). DOI: 10.1093/femspd/ftx124.

67. Kim W.K., Moon J.Y., Cho J.S., Ochirkhuyag E., Akanda M.R., Park B.Y., Hur J. Protective efficacy of an inactivated *Brucella abortus* vaccine candidate lysed by G124 against brucellosis in Korean black goats. *Can. J. Vet. Res.* 2019; 83(1):68–74.

68. Sumathi B., Veeragowda B., Byregowda S., Rathnamma D., Rajeswari S., Isloor S., Sobharani M., Venkatesha M., Narayanaswamy H. Construction of *Brucella melitensis* ghost as a putative vaccine candidate against re-emerging disease – Brucellosis. *Int. J. of Infect. Dis.* 2020; 101:475–6. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.09.1245.

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

70. Byvalov A.A., Konyshov I.V., Uversky V.N., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. *Yersinia* outer membrane vesicles as potential vaccine candidates in protecting against plague. *Biomolecules*. 2020; 10(12):1694. DOI: 10.3390/biom10121694.

71. Elkins K.L., Burns D.L., Schmitt M.P., Weir J.P. Vaccines against bioterror agents. In: Kaufmann S.H.E., editor. Novel Vaccination Strategies. 2004. P. 529–45. DOI: 10.1002/3527601449.ch24

72. Kvitko B.H., Cox C.R., DeShazer D., Johnson S.L., Voorhees K.J., Schweizer H.P. ϕ X216, a P2-like bacteriophage with broad *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei* strain infectivity. *BMC Microbiol.* 2012; 12:289. DOI: 10.1186/1471-2180-12-289.

73. Witte A., Wanner G., Bläsi U., Halfmann G., Szostak M., Lubitz W. Endogenous transmembrane tunnel formation mediated by phi X174 lysis protein E. *J. Bacteriol.* 1990; 172(7):4109–14. DOI: 10.1128/jb.172.7.4109-4114.1990.

74. Wu X., Ju X., Du L., Yuan J., Wang L., He R., Chen Z. Production of bacterial ghosts from gram-positive pathogen *Listeria monocytogenes*. *Foodborne Pathog. Dis.* 2017; 14(1):1–7. DOI: 10.1089/fpd.2016.2184.

75. Chen H., Ji H., Kong X., Lei P., Yang Q., Wu W., Jin L., Sun D. Bacterial ghosts-based vaccine and drug delivery systems. *Pharmaceutics*. 2021; 13(11):1892. DOI: 10.3390/pharmaceutics13111892.

Authors:

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

Об авторах:

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-27-36

УДК 578.831:616.07

Е.И. Кривошеина¹, М.Ю. Карташов¹, Tran Thi Nhai², Е.В. Найденова³**Новые данные о распространении вируса Нипах (*Henipavirus. Paramyxoviridae*) и методах его индикации и идентификации**¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Российская Федерация;²Российско-Вьетнамский тропический научно-исследовательский и технологический центр, Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам; ³ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Вирус Нипах (Nipah virus, NiV) – представитель рода *Henipavirus* семейства *Paramyxoviridae*, является возбудителем опасной инфекционной болезни с широким спектром клинических проявлений: от бессимптомной (субклинической) формы до тяжелого энцефалита со смертельным исходом. Несмотря на регистрацию заболевания, вызванного данным вирусом, только в странах Юго-Восточной Азии, не исключена возможность завоза возбудителя на неэндемичные территории. Также данный патоген способен инфицировать не только большое количество людей, но и животных, являясь причиной тяжелых заболеваний и нанося значительный экономический ущерб, поэтому представляет собой как медицинскую, так и ветеринарную проблему. В настоящем обзоре приведены имеющиеся в современной печати данные о строении и классификации вируса Нипах, возможных циклах его передачи, распространении, методах индикации и идентификации возбудителя в клиническом и биологическом материале, а также эффективности их применения в зависимости от сроков начала заболевания и об имеющихся коммерческих диагностических и профилактических препаратах.

Ключевые слова: вирус Нипах, методы индикации и идентификации, иммуноферментный анализ (ИФА), полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Корреспондирующий автор: Кривошеина Екатерина Ильинична, e-mail: vector@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Кривошеина Е.И., Карташов М.Ю., Tran Thi Nhai, Найденова Е.В. Новые данные о распространении вируса Нипах (*Henipavirus. Paramyxoviridae*) и методах его индикации и идентификации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:27–36. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-27-36
Поступила 10.01.2023. Принята к публ. 17.02.2023.

E.I. Krivosheina¹, M.Yu. Kartashov¹, Tran Thi Nhai², E.V. Naidenova³**New Data on the Dissemination of the Nipah Virus (*Henipavirus. Paramyxoviridae*) and Methods of its Indication and Identification**¹State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol'tsovo, Russian Federation;²Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center, Hanoi, Socialist Republic of Vietnam;³Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. Nipah virus (Nipah virus, NiV) is a representative of the genus *Henipavirus* of the *Paramyxoviridae* family, the causative agent of a dangerous infectious disease with a wide range of clinical manifestations – from an asymptomatic (subclinical) form to severe encephalitis with fatal outcome. Despite the fact that the disease caused by this virus is registered only in the countries of Southeast Asia, the possibility of importing the pathogen to non-endemic territories is not excluded. Also, this pathogen is able to infect not only a large number of people, but also animals, causing serious diseases and significant economic damage, posing both, a medical and veterinary problem. This review presents the data available in the modern press on the structure and classification of the Nipah virus, possible cycles of its transmission, spread, methods of indication and identification in clinical and biological material, as well as the effectiveness of their use depending on the timing of the onset of the disease and available commercial diagnostic and preventive drugs.

Key words: Nipah virus, methods of indication and identification, enzyme immunoassay (ELISA), polymerase chain reaction (PCR).

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

Funding: The work was carried out as part of the implementation of the Federal project “Sanitary shield – safety for health” in terms of maintaining the functioning of the extraterritorial center for monitoring of infectious diseases in the Socialist Republic of Vietnam.

Corresponding author: Ekaterina I. Krivosheina, e-mail: vector@vector.nsc.ru.

Citation: Krivosheina E.I., Kartashov M.Yu., Tran Thi Nhai, Naidenova E.V. New Data on the Dissemination of the Nipah Virus (*Henipavirus. Paramyxoviridae*) and Methods of its Indication and Identification. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:27–36. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-27-36

Received 10.01.2023. Accepted 17.02.2023.

Krivosheina E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5181-0415>
Kartashov M.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7857-6822>

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

В ноябре 2022 г. на совещании, координируемом Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), инициирован процесс обновления приоритетного

списка патогенов – потенциальных возбудителей вспышек и пандемий [1]. Впервые данный перечень был опубликован в 2017 г. и в последний раз обнов-

лялся в 2018 г. Во вновь сформированный список, наряду с вирусами Эбола, Марбург, Ласса, Зика, Рифт-Валли, Крымской-Конго геморрагической лихорадки, SARS-CoV-2, включили и представителей хенипавирусов – Нипах и Хендра [2].

Несмотря на то, что вирусы Нипах и Хендра вызывают небольшое количество вспышек, которые отмечены только в странах Азии, они способны являться причиной тяжелых заболеваний людей со смертельным исходом, а также инфицировать большое количество домашних и диких животных, в результате чего представляют собой как медицинскую, так и ветеринарную проблему.

Цель обзора – систематизация имеющихся сведений о циркуляции вируса Нипах, методах его индикации и идентификации, а также эффективности их использования в зависимости от сроков начала заболевания.

Впервые вспышка заболевания людей, вызванного новым, ранее неизвестным вирусом Нипах, зарегистрирована в сентябре 1998 г. в Малайзии, где подтверждено 265 случаев, 105 из которых закончились смертельным исходом (летальность составила 38,5 %) [3]. В настоящее время, по данным ВОЗ, случаи инфицирования людей и животных зафиксированы в пяти азиатских странах: Малайзии, Республике Сингапур, Народной Республике Бангладеш, Республике Индия и Республике Филиппины (рис. 1, табл. 1). Наибольшее количество случаев заболеваний, вызванных данным патогеном, произошло с 2011 по 2015 год в Бангладеш – 17 вспышек с общим количеством лабораторно подтвержденных случаев – 261, из них с летальным исходом – 191 (75,9 %) [4, 5].

За последние пять лет случаи заболевания, вызванные вирусом Нипах, регистрировались только на территории Индии [6].

Патоген. Вирус Нипах (Nipah henipavirus, NiV) является представителем рода *Henipavirus* (сем. *Paramyxoviridae*), в который на сегодняшний момент входят еще четыре вида: близкородственный вирус Хендра (Hendra henipavirus, HeV) (AF017149), Cedar henipavirus (CedPV) (JQ001776), Ghanaian bat henipavirus (GhV) (HQ660129) и Mojiang henipavirus (MojV) (KF278639) [8]. Вирусы Хендра и Нипах, давшие название роду, отнесены ко II группе патогенности в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» и к четвертому уровню биобезопасности (BSL-4) в рамках международной классификации. Вирусному энцефалиту, вызываемому вирусом Нипах, согласно Международному классификатору болезней одиннадцатого пересмотра (МКБ-11) присвоен код 1D63.

Геном вируса Нипах представлен одноцепочечной РНК отрицательной полярности размером порядка 18,2 тыс. нуклеотидов, которая кодирует шесть основных вирусных белков: нуклеокапсид (N), фосфопротеин (P), матриксный (M) и белок слияния (F), гликопротеин (G) и РНК-зависимую РНК-полимеразу (L) [9]. Также геном имеет протяженные нетранслируемые области (НТО) на 3'- и 5'-концах. Несмотря на одинаковую длину 3'-концов как у вируса Хендра, так и Нипах, гомология последовательности составляет всего 40–45 % [10]. Схематическое строение вирусной частицы и генома представлено на рис. 2.

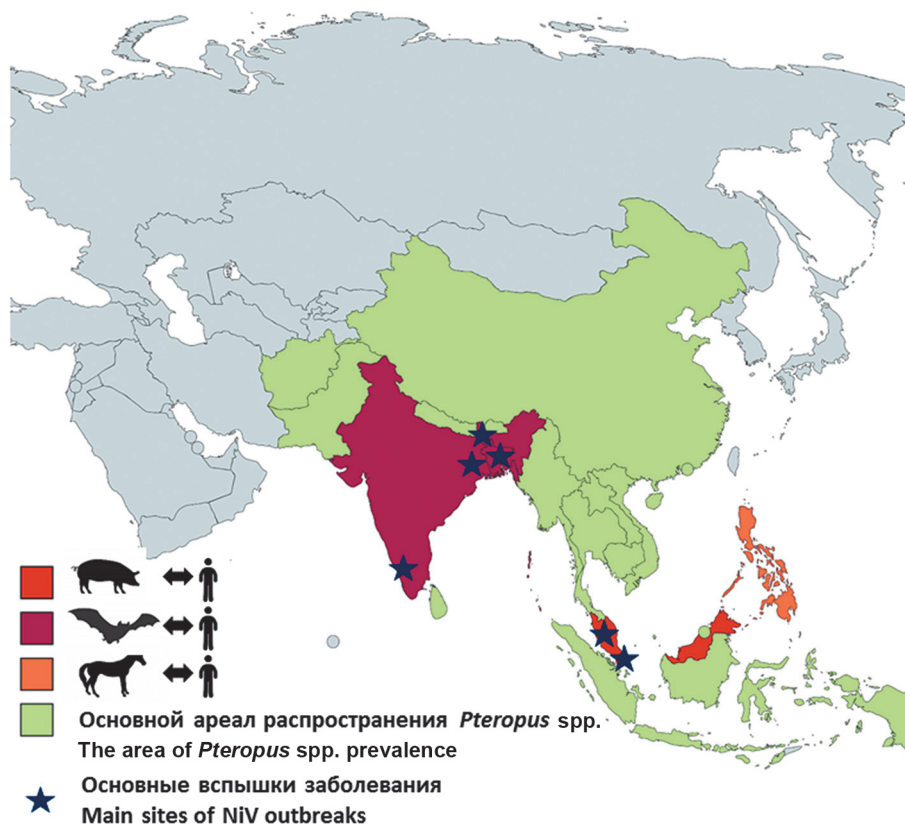


Рис. 1. Распространение вируса Нипах [7, с изменениями]

Fig. 1. Dissemination of the Nipah virus [7, with amendments]

Таблица 1 / Table 1

 Характеристика вспышек заболевания, вызываемого вирусом Нипах
 Characterization of outbreaks of the disease caused by the Nipah virus

Страна Country	Год Year	Механизм передачи вируса Primary route of transmission	Количество случаев Cases	Количество летальных случаев Lethal outcomes	Уровень летальности, % Fatality rate, %
Малайзия Malaysia	1998–1999	Контакт со свиньями Contact with pigs	265	105	39,6
Республика Сингапур Singapore	1999	Контакт со свиньями Contact with pigs	11	1	9
Республика Индия India	2001	Прямая передача от человека человеку. Contact with bats of the <i>Pteropus</i> spp.	66	45	68,2
	2007	Контакт с летучими мышами рода <i>Pteropus</i> spp.	5	5	100
	2018	Direct human-to-human transmission.	18	17	94,4
	2021	Contact with bats of the <i>Pteropus</i> spp.	1	1	100
Народная Республика Бангладеш Bangladesh	2001	Употребление зараженных фруктов и пальмового сока.	13	9	69,2
	2003–2007	Прямая передача от человека человеку Consumption of contaminated fruits and palm sap.	99	78	78,8
	2008–2015	Direct person-to-person transmission	139	106	76,3
Республика Филиппины Philippines	2014	Контакт с лошадьми Contact with horses	17	9	52,3
Всего за время наблюдений Total number of cases over the whole period of observation			634	376	59,3 (средний уровень) 59,3 (mean value)

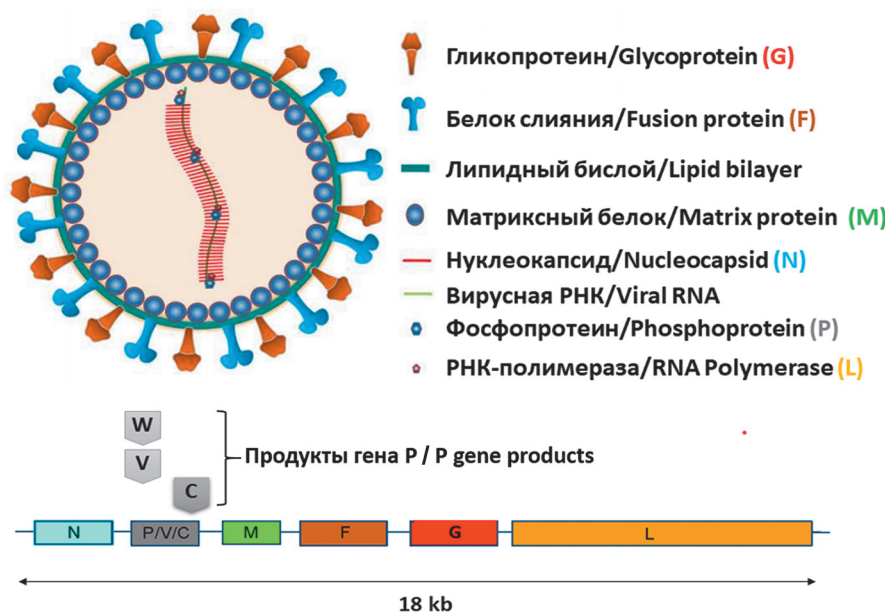


Рис. 2. Строение вирусной частицы вируса Нипах

Fig. 2. The structure of the viral particle of the Nipah virus

Белки N, P и L присоединены к вирусной РНК и образуют вирусный рибонуклеопротеин [11], F и G опосредуют прикрепление и последующее проникновение вируса в клетку [12]. Антитела к белку G способны нейтрализовать вирус и препятствовать его попаданию в клетку [13]. Ген белка P может давать несколько белковых продуктов за счет внутренних сайтов инициации транскрипции, перекрывающихся рамок считывания и необычного процесса транскрипции, при котором встраиваются один или несколько нематричных нуклеотидов, что приводит к смещению рамки считывания во время трансляции [14]. Таким

образом, из гена белка P может транскрибироваться не только непосредственно сам фосфопротеин, но и еще три так называемых вспомогательных белка – V, W и C [15], которые препятствуют естественному иммунному ответу организма на вирус. Так, например, белок V способен подавлять выработку интерферона в организме заболевшего, что осложняет процесс выздоровления пациента [16].

Цикл передачи вируса Нипах. Естественными хозяевами вируса Нипах являются плоядные летучие мыши семейства *Pteropodidae*, в частности виды, принадлежащие роду *Pteropus* [17]. Передача вируса

Нипах происходит в основном в местах, где человек, свиньи и летучие мыши находятся в непосредственной близости [18]. Так, обычно при разведении свиной люди выращивают фруктовые деревья на ферме и вокруг нее для создания тени. Летучие мыши рода *Pteropus*, зараженные вирусом Нипах, контаминируют плоды, которые потом падают с деревьев, где служат пищей для свиней [19]. У инфицированных свиней признаки заболевания могут не появляться, но у некоторых из них развиваются острое лихорадочное состояние, затрудненное дыхание и неврологические симптомы, такие как дрожь, подергивание и мышечные спазмы [20]. При этом симптоматика лихорадки, вызванной вирусом Нипах, не отличается значительным образом от других респираторных и неврологических болезней свиней. Животные представляют опасность во время инкубационного периода, который длится от 4 до 14 дней. Передача вируса человеку происходит при забое свиней и разделке мяса (рис. 3). Такой способ передачи возбудителя был характерен для вспышек в Малайзии (1998–1999 гг.) и Сингапуре (1999 г.). Также есть

информация о возможном инфицировании данным патогеном от больных коров в 2001 г. в Мехерпуре (Бангладеш) [21].

Для стран, население которых в меньшей степени употребляет в пищу свинину, характерен другой путь передачи вируса. Так, например, 13 вспышек в Бангладеш (2001–2013 гг.) и 2 в Индии (2001 и 2007 гг.) происходили при передаче вируса через сок финиковой пальмы [23], способ сбора которого представляет собой прикрепление резервуара непосредственно к стволу растения и ожидание его наполнения. Во время этого процесса летучие мыши, зараженные вирусом Нипах, могут пить этот сок или испражняться в него, и так как сок после сбора не проходит никакой термической обработки, вероятность передачи вируса человеку очень высока (рис. 3) [24]. От человека к человеку вирус Нипах может передаваться при тесных контактах респираторным путем [25].

Характеристика заболевания. Рецептором для проникновения вируса Нипах в клетки является ephrinB2 и/или ephrinB3, связывающий гликопротеин

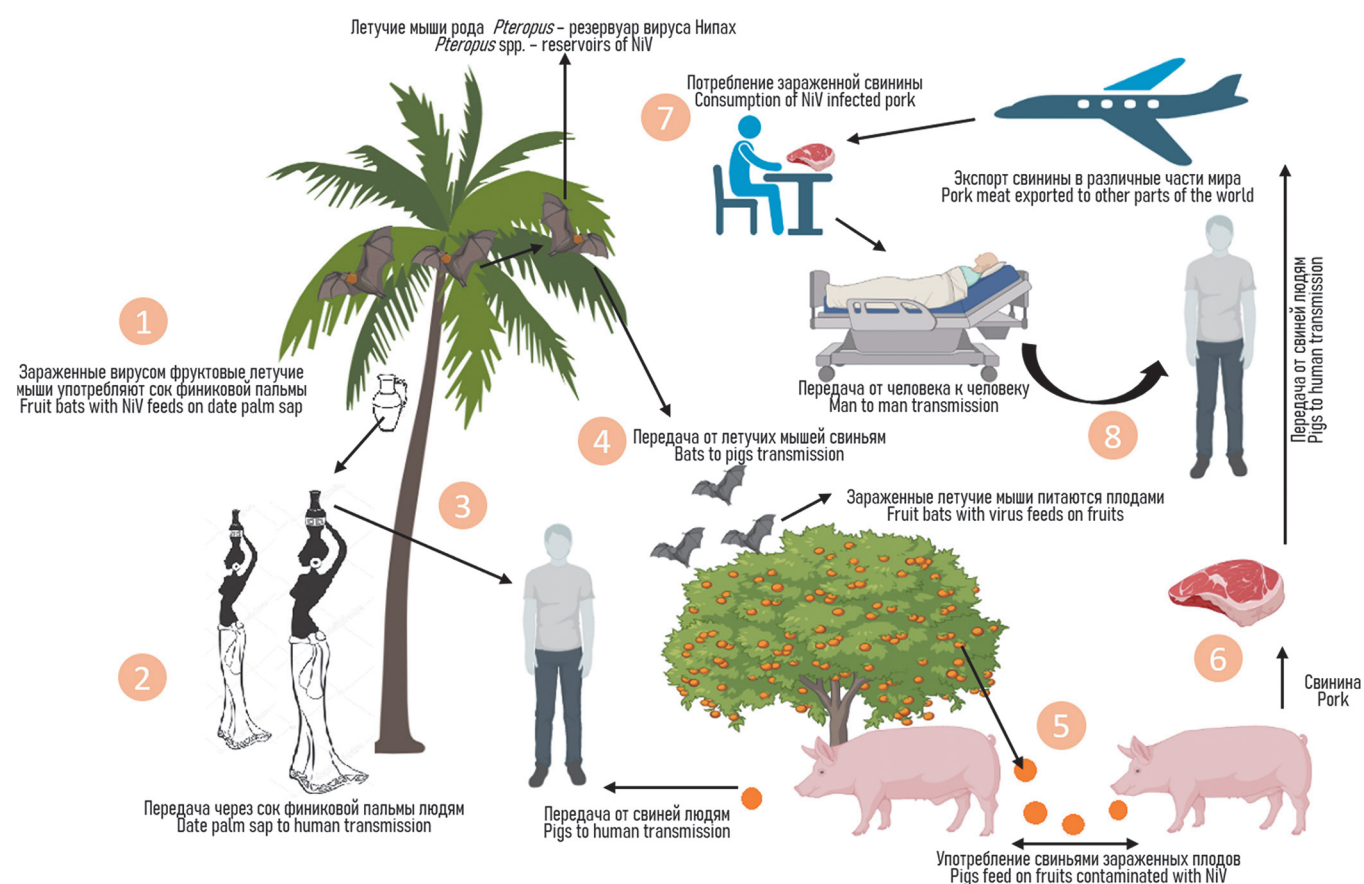


Рис. 3. Цикл передачи вируса Нипах:

1 – фруктовые летучие мыши питаются соком финиковой пальмы; 2 – сбор зараженного сока финиковой пальмы; 3 – передача вируса человеку через сок финиковой пальмы; 4 – зараженные летучие мыши питаются плодами фруктовых деревьев; 5 – употребление в пищу зараженных фруктовых плодов свиньями или другими животными; 6 – экспорт зараженной свинины в разные части мира; 7 – употребление в пищу зараженной вирусом Нипах свинины; 8 – передача вируса Нипах через тесные контакты между людьми. Рисунок адаптирован из [22]

Fig. 3. Nipah virus transmission cycle:

1 – fruit bats feed on date palm juice; 2 – collection of infected date palm juice; 3 – transmission of the virus to humans through date palm juice; 4 – infected bats feed on fruits of fruit trees; 5 – consumption of infected fruits by pigs or other animals; 6 – export of infected pork to different parts of the world; 7 – consumption of pork infected with the Nipah virus; 8 – transmission of the Nipah virus through close contact between people. Figure adapted from [22]

вируса [26]. Заболевание у человека характеризуется инкубационным периодом от 4 до 21 дня. У небольшого количества инфицированных людей болезнь протекает бессимптомно [27]. За инкубационным периодом следуют острая лихорадка, головная боль и миалгия [28]. В течение недели могут развиваться признаки энцефалита, изменение психического статуса, арефлексия, гипотония, эпилептические припадки, паралич зрения и слабость в конечностях. Ухудшение у пациентов с энцефалитом происходит очень быстро и перерастает в кому и последующую смерть в течение нескольких дней. У 20 % выживших наблюдается очаговый неврологический дефицит, который варьирует от усталости до тяжелой клинической депрессии [29]. Описано несколько случаев рецидивирующего или позднего начала энцефалита [30]. Факторы риска и развития тяжелого течения инфекционной болезни включают пожилой возраст, сопутствующие заболевания, тромбоцитопению и повышение уровня аминотрансфераз при поступлении, поражение ствола головного мозга и судороги [7]. Вовлечение органов дыхания может проявляться кашлем, респираторным дистресс-синдромом и атипичной пневмонией [18].

Воздействие вируса на организм хозяина зависит от типа штамма, ответственного за конкретную вспышку инфекции. На сегодняшний день выделяют два основных штамма вируса Нипах: малазийский штамм (NiV-MY) и из Бангладеш (NiV-BD) [31, 32]. Геном NiV-BD на шесть нуклеотидов длиннее, чем малазийский вариант, и составляет 18252 нуклеотидных основания. Различия между штаммами наблюдаются и в эпидемиологических характеристиках инфекции. Более высокий уровень смертности (до 70 %) регистрируется в Индии и Бангладеш, где респираторные проявления наблюдаются у 70 % заболевших, а в Малайзии значительного поражения органов дыхания у пациентов не наблюдалось и летальность составляет в среднем 40 % [33].

Препараты для лечения и профилактики.

В настоящее время специализированных препаратов для лечения инфекции, вызванной вирусом Нипах, не разработано. Для устранения тяжелых респираторных и неврологических последствий рекомендуется интенсивная симптоматическая терапия [34]. Имеются данные об использовании при лечении инфекции рибавирина, цефтриаксона и ацикловира, но они достоверно не влияли на уровень смертности [35–37]. Такие препараты, как фавипиравир и ремдесивир, показали активность против генипавирусов в условиях *in vitro* и на модели сирийского хомяка [38, 39]. При изучении эффективности использования аналога цитидина и его производного – балапиравира доказана активность как против вируса Нипах, так и Хендра, однако исследования возможности применения данного препарата при лечении гепатита С и лихорадки денге продемонстрировали выраженные токсические эффекты [40]. Также в ряде экспериментов показано, что растворимый эф-

рин В2, функциональный рецептор гликопротеина G вируса Нипах, ингибирует слияние вирусов *in vitro* [41].

На конец 2022 г. известно о разработке 9 вакцин, 8 из которых – векторные. В качестве векторов указана возможность использования аденовируса (вакцина ChAdOx1), вируса везикулярного стоматита (rVSV-ΔG-NIVB/F-GFP, rVSV-ΔG-NIVB/G-GFP и комбинированная вакцина rVSV-EBOV-GP-NiV-G), вируса бешенства (rRABV/NIV(NIPARAB) [46], вируса кори (rMV-NiV-G), бычьего герпесвируса (BoHV-4-A-CMV-NiV-GΔTK и BoHV-4-A-CMV-NiV-FΔT). Также в Австралии для вакцинопрофилактики лошадей с 4-месячного возраста применяется ветеринарная субъединичная вакцина HeV-sG (Equivac®HeV, Zoetis Australia Pty Ltd.), которая, как показали исследования, способствует выработке антител как к вирусу Хендра, так и к вирусу Нипах [42].

Одним из приоритетных направлений, которое требует проведения большого количества научных исследований, является создание современных препаратов для выявления маркеров вируса Нипах и антител к нему. Своевременное обнаружение возбудителя в клиническом и биологическом материале от людей и животных позволит не допустить широкого распространения этого опасного патогена на неэндемичные территории, поэтому вопросы, связанные с разработкой эффективных и доступных тестов для диагностики инфекции, вызываемой данным представителем хенипавирусов, являются актуальными.

Методы индикации и идентификации вируса.

Диагностировать инфекционную болезнь, вызванную вирусом Нипах, как и большинство вирусных инфекций, на основании клинических признаков достаточно проблематично, так как заболевание не имеет специфичных характерных симптомов, кроме того, латентная его форма может проявиться спустя месяцы и годы после первичного заражения [22]. Индикацию и идентификацию вируса Нипах в клиническом и биологическом материале, а также выявление специфических антител к нему проводят с использованием вирусологических, иммуносерологических и молекулярно-генетических методов.

Образцы материала, не исключающие наличие вируса Нипах, должны быть собраны с соблюдением правил биологической безопасности и транспортированы с соблюдением условий «холодовой цепи».

Доказано, что вирус может сохранять свою активность до 18 ч в моче фруктоядных летучих мышей, до 3 суток – в некоторых фруктовых соках или плодах манго и не менее 7 дней – в соке финиковой пальмы, хранящемся при температуре выше 22 °С. Вирус относительно стабилен в окружающей среде и сохраняет жизнеспособность при температуре 70 °С в течение 1 ч (снижается только его концентрация) и может быть полностью инактивирован в течение 15 минут при нагревании до температуры 100 °С [43].

Изоляция вируса. Выделить вирус возможно из мокроты, мазков из зева, мочи, спинномозговой жидкости и других образцов тканей и органов больных людей и животных [44]. Работы по изоляции вируса могут проводиться в лабораториях, имеющих разрешение на работу с вирусами I–II групп патогенности или уровня биологической безопасности BSL-4 [45].

В ряде экспериментов показано, что вирус хорошо размножается на некоторых культурах клеток: Vero (фибробласты почек обезьян) [46], BHK21 [47] и HeLa (клетки раковой опухоли шейки матки) [48].

Цитопатические эффекты могут наблюдаться начиная с 3-го дня. Клетки образуют цитоплазматические мостики, а затем в монослое образуются точечные отверстия по мере того, как синцитии поднимаются с поверхности [49]. Синцитии вируса Нипах более крупные, чем у вируса Хендра, и различия в распределении ядер могут быть использованы для их дифференциации [46].

В качестве биологических моделей используют хорьков (*Mustela furo*) [50], золотистых сирийских хомяков (*Mesocricetus auratus*) [51], африканских зеленых макак (*Chlorocebus sabaeus*) и других нечеловекообразных обезьян, свиней [52] и лабораторных мышей (например, линии Balb/c и C57BL/6) [53, 54].

Наличие вируса в культурах клеток и органах лабораторных животных возможно идентифицировать при помощи электронной микроскопии, иммуноферментного (ИФА) и иммунофлуоресцентного анализа для выявления антигенов и полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР).

Выявление РНК вируса с использованием молекулярно-генетических методов. Для выявления РНК вируса Нипах в мазке из зева, моче, спинномозговой жидкости и фрагментах тканей больных людей и животных чаще всего используют ОТ-ПЦР на ранних (до 5–7-го дня) стадиях развития болезни.

В литературе имеется информация о разработанных диагностических препаратах, включая классическую ПЦР с учетом результатов методом электрофореза в агарозном геле [3], ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени [55], с использованием интеркалирующих красителей (например, SYBR Green I) [46, 56], гнездовую (nested) [64–66] и количественную (qПЦР) [57]. Также имеются данные о разработанных мультикомплексных тестах, которые способны выявлять РНК как вируса Нипах, так и близкородственного вируса Хендра [58–60].

Основными генетическими мишенями для детекции вируса Нипах являются гены, кодирующие нуклеокапсидный белок (N) [3, 46, 55, 56], РНК-полимеразу (L) [57, 59] и фосфопротеин (P) [57]. Чаще всего используют комбинацию олигонуклеотидных праймеров и зондов, которые соответствуют генам N и P [57–60].

В настоящее время диагностические наборы для выявления РНК вируса Нипах производят 10 коммерческих компаний (табл. 2). Девять препаратов

основаны на ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени с использованием TaqMan-зондов. По данным разработчиков, чувствительность этих тестов варьирует от 102 до 104 копий вируса в 1 мл образца.

Рядом исследователей для быстрого обнаружения вируса Нипах разработан и апробирован метод петлевой изотермической амплификации с обратной транскрипцией (RT-LAMP), нацеленный на ген нуклеокапсидного белка (N). Показано, что чувствительность RT-LAMP была в 10 раз выше, чем при обычной ОТ-ПЦР. Тесты на специфичность доказывали отсутствие перекрестных реакций с геномом нуклеокапсидного белка вирусов Хендра, болезни Ньюкасла, японского энцефалита и вируса гриппа типа А. Анализ с использованием данного метода занимает 45 минут и не требует никакой сложной приборной базы. Анализ клинических образцов показал, что метод обладает достаточной стабильностью и позволяет выявлять все известные штаммы вируса Нипах [64].

Компанией Molbio Diagnostics Private Limited (Индия) заявлено о разработке чипов, представляющих собой пластину с лунками, на которые сорбированы сублимированные реагенты. Набор работает по принципу ОТ-ПЦР в реальном времени на основе зондов TaqMan. Перед анализом необходимо выделить РНК вируса с помощью автоматического прибора, реализуемого этой же компанией. После этого полученную РНК переносят в лунку на чипе, где и происходит реакция. Достоинством данного метода является быстрота выполнения исследования (порядка 1 часа) и возможность использования в полевых условиях, так как все реактивы высушены и приборы, поставляемые с чипами, работают от аккумуляторов. Недостатком является то, что выделение РНК и учет результатов ПЦР возможно произвести только при помощи автоматических приборов, предоставляемых этой же компанией [65].

Иммуносерологические методы. Серологическая диагностика основана на выявлении антигенов вируса и специфических антител к нему (IgM/IgG). Обнаружение антигенов вируса Нипах и антител класса IgM является ранним маркером активной инфекции в организме пациента. Концентрация специфических антител класса IgM в сыворотках крови больных людей достигает максимума на 9-е сутки после начала заболевания и может сохраняться до 3 месяцев [66]. Обнаружение иммуноглобулинов класса IgG к вирусу Нипах в сыворотках крови людей и животных используют для ретроспективных эпидемиологических исследований. Показано, что концентрация специфических антител класса IgG к вирусу Нипах достигает своего максимума к 17-му дню после начала заболевания и сохраняется в организме переболевших в течение 8 месяцев [67].

Так называемым «золотым стандартом» при выявлении антител к вирусу Нипах считается реакция нейтрализации (NT – neutralization test). Суть теста

Таблица 2 / Table 2

Наборы реагентов, предназначенных для выявления РНК вируса Нипах
Reagent kits for the detection of Nipah virus RNA

Название набора реагентов, производитель The reagent kit, manufacturer	Тип ПЦР-анализа Type of PCR assay	Уровень внедрения в диагностику Level of introduction into the diagnostics
HumPCR TM Nipah virus Detection Kit (Bioingentech Ltd., Chile)	ОТ-ПЦР с детекцией в агарозном геле RT-PCR with agarose gel detection	Сертифицирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Certified abroad, not registered in the Russian Federation
OneHumqPCR-realtimeTM Nipah virus RNA Real Time PCR Kit (Bioingentech Ltd., Chile)	ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени RT-PCR with real-time detection	Сертифицирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Certified abroad, not registered in the Russian Federation
Nipah Virus (NiV) Real Time RT-PCR Kit (Life Technologies) Для диагностики <i>in vitro</i> For <i>in vitro</i> diagnostics	ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени RT-PCR with real-time detection	Сертифицирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Certified abroad, not registered in the Russian Federation
Nipah Virus (NiV) Real Time RT-PCR Kit (Creative Biogene, USA)	ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени RT-PCR with real-time detection	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
Nipah Virus (NiV) Real Time RT-PCR Kit (MyBioSource, USA)	ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени RT-PCR with real-time detection	Сертифицирован за рубежом, не зарегистрирован на территории РФ Certified abroad, not registered in the Russian Federation
Nipah henipavirus 150 tests genesis Standard Kit (Genesig, UK)	ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени RT-PCR with real-time detection	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
Truenat Chip-based Real Time PCR test for Nipah Virus (Molbio Diagnostics Private Limited (India)	ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени RT-PCR with real-time detection	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
Nipah Virus (NiV) RT-PCR (Liferiver, China)	ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени RT-PCR with real-time detection	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
NiV dtec-RT-qPCR (Genetic PCR solutions, Spain)	ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени RT-PCR with real-time detection	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
DiAGSure Nipah virus Detection Kit (GCC Biotech, India)	ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени RT-PCR with real-time detection	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
Nipah Virus RT-PCR kit (Genekam Biotechnology AG, Germany)	ОТ-ПЦР с детекцией в режиме реального времени RT-PCR with real-time detection	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only

закljučается в инкубировании исследуемых сывороток с вирусом и последующем заражении культуры клеток Vero. Сыворотки, содержащие нейтрализующие антитела к вирусу Нипах, блокируют развитие цитопатического эффекта. Данный метод индикации нейтрализующих антител имеет ряд недостатков. Во-первых, для исследования проб лаборатория, где проводят анализ, должна иметь уровень биобезопасности BSL-4, во-вторых, продолжительность теста составляет от 24 часов до 3 суток, что замедляет постановку диагноза и начало лечения пациента [68].

В литературе имеются данные о разработке псевдовиральных частиц для проведения реакции нейтрализации, представляющих собой оболочечные вирусы, в которых имеются один или несколько чужеродных белков. Вирус Нипах имеет два мембранных гликопротеина, участвующих в прикреплении вириона к клетке и последующем проникновении в клетку-хозяина, белок прикреплению (G) и белок слияния (F), являющиеся идеальными мишенями для нейтрализующих антител. Получение псевдовиральных частиц на основе вируса везикулярного сто-

матита или лентивируса, в оболочке которых имеются поверхностные белки вируса Нипах, позволит проводить реакцию нейтрализации в лаборатории уровня BSL-2 [69].

В настоящее время наиболее распространенным методом обнаружения специфических антител классов IgM и IgG к вирусу Нипах является иммуноферментный анализ (ИФА), основанный на выявлении специфического взаимодействия «антиген – антитело». В качестве антигенов в таких тестах обычно используют рекомбинантные белки или нативные инактивированные вирусы, содержащие вирусные эпитопы [70].

Имеются данные о тестах, основанных на использовании метода ИФА, разработанных научными организациями из Бангладеш (ICDDRБ и IEDCR), Малайзии (University Putra, Monash University и др.), Канады (Canadian Science Centre for Human and Animal Health), Китая (China Epidemiology Center и Chinese National Diagnostic Centre for Animal Diseases), Японии (Institute of Tropical Medicine), США (CDC), Индии (National Institute of High Security Animal

Diseases) и Австралии (CSIRO) [3]. Основными мишенями для выявления нейтрализующих антител являются рекомбинантные или нативные белки вируса: нуклеокапсидный белок (N), матриксный белок (M) и белок прикрепления (G).

Производством диагностических наборов, позволяющих выявлять как вирусный антиген, так и иммуноглобулины классов IgM или IgG к вирусу Нипах, официально занимаются компании Abbexa (Великобритания) и Alpha Diagnostic (США), которая помимо возможности исследовать сыворотки крови человека предоставляет наборы для обнаружения специфических антител в сыворотках крови кроликов, крыс, мышей и обезьян (табл. 3). Такое разнообразие тестов необходимо для изучения эффективности разрабатываемых вакцин при испытании их на различных животных моделях. К сожалению, все

описанные коммерческие тесты применяются только в исследовательских целях согласно прилагаемым инструкциям.

Таким образом, проблема распространения вируса Нипах и регистрация вызванных им заболеваний продолжает оставаться актуальной как для стран Азии, включая Социалистическую Республику Вьетнам, так и для медицинских организаций всего мира в связи с приобретающим популярность «экстремальным» туризмом, когда приезжие стараются максимально погрузиться в быт и условия жизни населения, что повышает вероятность контакта с возбудителями опасных инфекционных болезней. В этих условиях специфическая индикация и идентификация вируса Нипах и антител к нему играет ведущую роль в распознавании заболевания и контроле вспышек. Раннее обнаружение вируса Нипах у животных

Таблица 3 / Table 3

Диагностические препараты для выявления антигенов вируса Нипах и антител к нему с использованием иммуносерологических методов

Diagnostic preparations for the detection of Nipah virus antigens and antibodies to it using immunoserological methods

Название набора реагентов, производитель The reagent kit, manufacturer	Тип серологического анализа и на чем основан Type of immunoserological analysis and its basis	Уровень внедрения в диагностику вируса Нипах Level of introduction into the diagnostics of Nipah virus
Выявление антигена вируса Нипах методом ИФА Detection of the Nipah virus antigen using ELISA		
Pig Nipah Virus ELISA Kit is an ELISA kit against Nipah Virus (Abbexa, UK)	Твердофазный ИФА. На полистироловый планшет сорбированы моноклональные IgM к вирусу Нипах ELISA. Monoclonal IgM to the Nipah virus adsorbed onto a polystyrene plate	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
Выявление антител к вирусу Нипах Detection of antibodies to the Nipah virus		
Human anti-Nipah Virus Glycoprotein IgM (or IgG) ELISA Kit (Alpha Diagnostic, USA)	Твердофазный ИФА. Сорбирован гликопротеин (G) вируса Нипах, полученный из культуры клеток HEK293. Конъюгат к IgM (или IgG) человека ELISA. Adsorbed Nipah virus glycoprotein (G) obtained from HEK293 cell culture. Conjugate to human IgM (or IgG)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
Rabbit anti-Nipah Virus Glycoprotein IgM (or IgG) ELISA Kit (Alpha Diagnostic, USA)	Твердофазный ИФА. Сорбирован гликопротеин (G) вируса Нипах, полученный из культуры клеток HEK293. Конъюгат к IgM (или IgG) кролика ELISA. Adsorbed Nipah virus glycoprotein (G) obtained from HEK293 cell culture. Conjugate to rabbit IgM (or IgG)	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
Rat anti-Nipah Virus Glycoprotein IgM (or IgG) ELISA Kit (Alpha Diagnostic, USA)	Твердофазный ИФА. Сорбирован гликопротеин (G) вируса Нипах, полученный из культуры клеток HEK293. Конъюгат к IgM (или IgG) крыс ELISA. Adsorbed Nipah virus glycoprotein (G) obtained from HEK293 cell culture. Rat IgM (or IgG) conjugate	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
Mouse anti-Nipah Virus Glycoprotein IgM (or IgG) ELISA Kit (Alpha Diagnostic, USA)	Твердофазный ИФА. Сорбирован гликопротеин (G) вируса Нипах, полученный из культуры клеток HEK293. Конъюгат к IgM (или IgG) мышей ELISA. Adsorbed Nipah virus glycoprotein (G) obtained from HEK293 cell culture. Mice IgM (or IgG) conjugate	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only
Monkey anti-Nipah Virus Glycoprotein IgM (or IgG) ELISA Kit (Alpha Diagnostic, USA)	Твердофазный ИФА. Сорбирован гликопротеин (G) вируса Нипах, полученный из культуры клеток HEK293. Конъюгат к IgM (или IgG) обезьян ELISA Adsorbed Nipah virus glycoprotein (G) obtained from HEK293 cell culture. Monkey IgM (or IgG) conjugate	Не зарегистрирован, применяется только в исследовательских целях Not registered, used for research purposes only

(например, свиней) имеет решающее значение при сдерживании процесса распространения вируса. Помимо этого, разработка современных, быстрых, высокоспецифичных и экономически доступных диагностических препаратов позволит улучшить понимание протекания инфекционного процесса и оказать помощь при разработке средств лечения и профилактики инфекционной болезни, вызванной вирусом Нипах.

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

Работа выполнена в рамках реализации Федерального проекта «Санитарный щит – безопасность для здоровья» в части поддержания функционирования экстерриториального центра мониторинга за инфекционными болезнями в Социалистической Республике Вьетнам.

References / Список литературы

1. WHO. [Cited 27 Dec 2022]. [Internet]. Available from: <https://www.who.int/ru/news/item/21-11-2022-who-to-identify-pathogens-that-could-cause-future-outbreaks-and-pandemics>.
2. WHO: Prioritizing diseases for research and development in emergency contexts [Cited 27 Dec 2022]. [Internet]. Available from: <https://www.who.int/activities/prioritizing-diseases-for-research-and-development-in-emergency-contexts>.
3. Chua K.B., Bellini W.J., Rota P.A., Harcourt B.H., Tamin A., Lam S.K., Ksiazek T.G., Rollin P.E., Zaki S.R., Shieh W., Goldsmith C.S., Gubler D.J., Roehrig J.T., Eaton B., Gould A.R., Olson J., Field H., Daniels P., Ling A.E., Peters C.J., Anderson L.J., Mahy B.W. Nipah virus: a recently emergent deadly paramyxovirus. *Science*. 2000; 288(5470):1432–5. DOI: 10.1126/science.288.5470.1432.
4. Montgomery J.M., Hossain M.J., Gurley E., Carroll D.S., Croisier A., Bertherat E., Asgari N., Formenty P., Keeler N., Comer J., Bell R.M., Akram K., Molla A.R., Zaman K., Islam M.R., Wagoner K., Mills J.N., Rollin P.E., Ksiazek T.G., Breiman R.F. Risk factors for Nipah virus encephalitis in Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(10):1526–32. DOI: 10.3201/eid1410.060507.
5. Sazzad H.M.S., Hossain M.J., Gurley E.S., Ameen K.M.H., Parveen S., Islam M.S., Faruque L.I., Podder G., Banu S.S., Lo M.K., Rollin P.E., Rota P.E., Daszak P., Rahman M., Luby S.P. Nipah virus infection outbreak with nosocomial and corpse-to-human transmission, Bangladesh. *Emerg. Infect. Dis.* 2013; 19(2):210–17. DOI: 10.3201/eid1902.120971.
6. Hauser N., Gushiken A.C., Narayanan S., Kotttilil S., Chua J.V. Evolution of Nipah virus infection: past, present, and future considerations. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2021; 6(1):24. DOI: 10.3390/tropicalmed6010024.
7. Ang B.S.P., Lim T.C.C., Wang L. Nipah virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(6):e01875–17. DOI: 10.1128/JCM.01875–17.
8. International Committee on Taxonomy of Viruses: ICTV [Cited 27 Dec 2022]. [Internet]. Available from: <https://ictv.global>.
9. Wang L., Harcourt B.H., Yu M., Tamin A., Rota P.A., Bellini W.J., Eaton B.T. Molecular biology of Hendra and Nipah viruses. *Microbes Infect.* 2001; 3(4):279–87. DOI: 10.1016/S1286-4579-01(0)01381-8.
10. Gazal S., Sharma N., Gazal S., Tikoo M., Shikha D., Badroo G.A., Rashid M., Lee S.J. Nipah and Hendra viruses: deadly zoonotic paramyxoviruses with the potential to cause the next pandemic. *Pathogens*. 2022; 11(12):1419. DOI: 10.3390/pathogens11121419.
11. Ternhag A., Penttinen P. [Nipah virus – another product from the Asian “virus factory”]. *Lakartidningen*. 2005; 102(14):1046–7. [Article in Swedish].
12. Bossart K.N., McEachern J.A., Hickey A.C., Choudhry V., Dimitrov D.S., Eaton B.T., Wang L.F. Neutralization assays for differential henipavirus serology using Bio-Plex protein array systems. *J. Virol. Methods*. 2007; 142(1–2):29–40. DOI: 10.1016/j.jviromet.2007.01.003.
13. Liu Q., Bradel-Tretheway B., Monreal A.I., Saludes J.P., Lu X., Nicola A.V., Aguilar H.C. Nipah virus attachment glycoprotein stalk C-terminal region links receptor binding to fusion triggering. *J. Virol.* 2015; 89(3):1838–50. DOI: 10.1128/JVI.02277-14.
14. Uchida S., Horie R., Sato H., Kai C., Yoneda M. Possible role of the Nipah virus V protein in the regulation of the interferon beta induction by interacting with UBX domain-containing protein1. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):7682. DOI: 10.1038/s41598-018-25815-9.
15. Satterfield B.A., Cross R.W., Fenton K.A., Borisevich V., Agans K.N., Deer D.J., Graber J., Basler C.F., Geisbert T.W., Mire C.E. Nipah virus C and W proteins contribute to respiratory disease in ferrets. *J. Virol.* 2016; 90(14):6326–43. DOI: 10.1128/JVI.00215-16.
16. Patch J.R., Cramer G., Wang L.F., Eaton B.T., Broder C.C. Quantitative analysis of Nipah virus proteins released as virus-like particles reveals central role for the matrix protein. *Virol. J.* 2007; 4(1). DOI: 10.1186/1743-422X-4-1.
17. Halpin K., Young P.L., Field H.E., Mackenzie J.S. Isolation of Hendra virus from pteropid bats: a natural reservoir of Hendra virus. *J. Gen. Virol.* 2000; 81(Pt. 8):1927–32. DOI: 10.1099/0022-1317-81-8-1927.
18. Clayton B.A., Middleton D., Arkinstall R., Frazer L., Wang L.F., Marsh G.A. The nature of exposure drives transmission of Nipah viruses from Malaysia and Bangladesh in ferrets. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(6):e0004775. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004775.
19. Yadav P.D., Raut C.G., Shete A.M., Mishra A.C., Townner J.S., Nichol S.T., Mourya D.T. Detection of Nipah virus RNA in fruit bat (*Pteropus giganteus*) from India. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2012; 87(3):576–8. DOI: 10.4269/ajtmh.2012.11-0416.
20. Mond Nor M.N., Gan C.H., Ong B.L. Nipah virus infection of pigs in peninsular Malaysia. *Rev. Sci. Tech.* 2000; 19(1):160–5. DOI: 10.20506/rst.19.1.1202.
21. Chua K.B., Koh C.L., Hooi P.S., Wee K.F., Khong J.H., Chua B.H., Chan Y.P., Lim M.E., Lam S.K. Isolation of Nipah virus from Malaysian Island flying-foxes. *Microbes Infect.* 2002; 4(2):145–51. DOI: 10.1016/S1286-4579(01)01522-2.
22. Singh R.K., Dhama K., Chakraborty S., Tiwari R., Natesan S., Khandia R., Munjal A., Vora K.S., Latheef S.K., Karthik K., Singh Malik Y., Singh R., Chaicumpa W., Mourya D.T. Nipah virus: epidemiology, pathology, immunobiology and advances in diagnosis, vaccine designing and control strategies – a comprehensive review. *Vet. Q.* 2019; 39(1):26–55. DOI: 10.1080/01652176.2019.1580827.
23. Islam M.S., Sazzad H.M., Satter S.M., Sultana S., Hossain M.J., Hasan M., Rahman M., Campbell S., Cannon D.L., Ströher U., Daszak P., Luby S.P., Gurley E.S. Nipah virus transmission from bats to humans associated with drinking traditional liquor made from date palm sap, Bangladesh, 2011–2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(4):664–70. DOI: 10.3201/eid2204.151747.
24. Fogarty R., Halpin K., Hyatt A.D., Daszak P., Mungall B.A. Henipavirus susceptibility to environmental variables. *Virus Res.* 2008; 132(1–2):140–4. DOI: 10.1016/j.virusres.2007.11.010.
25. Luby S.P., Gurley E.S., Hossain M.J. Transmission of human infection with Nipah virus. *Clin. Infect. Dis.* 2009; 49(11):1743–8. DOI: 10.1086/647951.
26. Negrete O.A., Levrone E.L., Aguilar H.C., Bertolotti-Ciarlet A., Nazarian R., Tajyar S., Lee B. EphrinB2 is the entry receptor for Nipah virus, an emergent deadly paramyxovirus. *Nature*. 2005; 436(7049):401–5. DOI: 10.1038/nature03838.
27. Parashar U.D., Sunn L.M., Ong F., Mounts A.W., Arif M.T., Ksiazek T.G., Kamaluddin M.A., Mustafa A.N., Kaur H., Ding L.M., Othman G., Radzi H.M., Kitsutani P.T., Stockton P.C., Arokiasamy J., Gary H.E. Jr., Anderson L.J. Case-control study of risk factors for human infection with a new zoonotic paramyxovirus, Nipah virus, during a 1998–1999 outbreak of severe encephalitis in Malaysia. *J. Infect. Dis.* 2000; 181(5):1755–9. DOI: 10.1086/315457.
28. Abdullah S., Tan C.T. Henipavirus encephalitis. *Handb. Clin. Neurol.* 2014; 123:663–70. DOI: 10.1016/B978-0-444-53488-0.00032-8.
29. Siva S.R., Chong H.T., Tan C.T. Ten year clinical and serological outcomes of Nipah virus infection. *Neurology Asia*. 2009; 14:53–8.
30. Sejvar J.J., Hossain J., Saha S.K., Gurley E.S., Banu S., Hamadani J.D., Faiz M.A., Siddiqui F.M., Mohammad Q.D., Mollah A.H., Uddin R., Alam R., Rahman R., Tan C.T., Bellini W., Rota P., Breiman R.F., Luby S.P. Long-term neurological and functional outcome in Nipah virus infection. *Ann. Neurol.* 2007; 62(3):235–42. DOI: 10.1002/ana.21178.
31. Ang B.S.P., Lim T.C.C., Wang L. Nipah virus infection. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(6):e01875–17. DOI: 10.1128/JCM.01875–17.
32. Devnath P., Masud H.M.A.A. Nipah virus: a potential pandemic agent in the context of the current severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 pandemic. *New Microbes New Infect.* 2021; 41:100873. DOI: 10.1016/j.nmni.2021.100873.
33. Skowron K., Bauza-Kaszewska J., Grudlewska-Buda K., Wiktorczyk-Kapishke N., Zacharski M., Bernaciak Z., Gospodarek-Komkowska E. Nipah virus – another threat from the world of zoonotic viruses. *Front. Microbiol.* 2022; 12:811157. DOI: 10.3389/fmicb.2021.811157.
34. Aljofan M. Hendra and Nipah infection: emerging paramyxoviruses. *Virus Res.* 2013; 177(2):119–26. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.08.002.
35. Cheng T.L., Cheng C.M., Chen B.M., Tsao D.A., Chuang K.H., Hsiao S.W., Lin Y.H., Roffler S.R. Monoclonal antibody-based quantitation of poly(ethylene glycol)-derivatized proteins, liposomes, and nanoparticles. *Bioconjug. Chem.* 2005; 16(5):1225–31. DOI: 10.1021/bc050133f.

36. Aljofan M., Porotto M., Moscona A., Mungall B.A. Development and validation of a chemiluminescent immunodetection assay amenable to high throughput screening of antiviral drugs for Nipah and Hendra virus. *J. Virol. Methods*. 2008; 149(1):12–9. DOI: 10.1016/j.jviromet.2008.01.016.
37. Paton N.I., Leo Y.S., Zaki S.R., Auchus A.P., Lee K.E., Ling A.E., Chew S.K., Ang B., Rollin P.E., Umapathi T., Sng I., Lee C.C., Lim E., Ksiazek T.G. Outbreak of Nipah-virus infection among abattoir workers in Singapore. *Lancet*. 1999; 354(9186):1253–6. DOI: 10.1016/S0140-6736(99)04379-2.
38. Dawes B.E., Kalveram B., Ikegami T., Juelich T., Smith J.K., Zhang L., Park A., Lee B., Komeno T., Furuta Y., Freiberg A.N. Favipiravir (T-705) protects against Nipah virus infection in the hamster model. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):7604. DOI: 10.1038/s41598-018-25780-3.
39. Lo M.K., Feldmann F., Gary J.M., Jordan R., Bannister R., Cronin J., Patel N.R., Klena J.D., Nichol S.T., Cihlar T., Zaki S.R., Feldmann H., Spiropoulou C.F., de Wit E. Remdesivir (GS-5734) protects African green monkeys from Nipah virus challenge. *Sci. Transl. Med.* 2019; 11(494):eaau9242. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau9242.
40. Hotard A.L., He B., Nichol S.T., Spiropoulou C.F., Lo M.K. 4'-Azidocytidine (R1479) inhibits henipaviruses and other paramyxoviruses with high potency. *Antiviral Res.* 2017; 144:147–52. DOI: 10.1016/j.antiviral.2017.06.011.
41. Negrete O.A., Levroney E.L., Aguilar H.C., Bertolotti-Ciarlet A., Nazarian R., Tajjar S., Lee B., EphrinB2 is the entry receptor for Nipah virus, an emergent deadly paramyxovirus. *Nature*. 2005; 436(7049):401–5. DOI: 10.1038/nature03838.
42. Satterfield B.A., Dawes B.E., Milligan G.N. Status of vaccine research and development of vaccines for Nipah virus. *Vaccine*. 2016; 34(26):2971–5. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.12.075.
43. de Wit E., Prescott J., Falzarano D., Bushmaker T., Scott D., Feldmann H., Munster V.J. Foodborne transmission of Nipah virus in Syrian hamsters. *PLoS Pathog.* 2014; 10(3):e1004001. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004001.
44. Hooper P., Zaki S., Daniels P., Middleton D. Comparative pathology of the diseases caused by Hendra and Nipah viruses. *Microbes Infect.* 2001; 3(4):315–22. DOI: 10.1016/S1286-4579(01)01385-5.
45. Tigabu B., Rasmussen L., White E.L., Tower N., Saeed M., Bukreyev A., Rockx B., LeDuc J.W., Noah J.W. A BSL-4 high-throughput screen identifies sulfonamide inhibitors of Nipah virus. *Assay Drug Dev. Technol.* 2014; 12(3):155–61. DOI: 10.1089/adt.2013.567.
46. Chang L.Y., Ali A.R., Hassan S.S., AbuBakar S. Quantitative estimation of Nipah virus replication kinetics *in vitro*. *Virol. J.* 2006; 3:47. DOI: 10.1186/1743-422X-3-47.
47. Schountz T., Campbell C., Wagner K., Rovnak J., Martellaro C., DeBuysscher B.L., Feldmann H., Prescott J. Differential innate immune responses elicited by Nipah virus and Cedar virus correlate with disparate *in vivo* pathogenesis in hamsters. *Viruses*. 2019; 11(3):291. DOI: 10.3390/v11030291.
48. Kaku Y., Park E.S., Noguchi A., Inoue S., Lunt R., Malbas F.F. Jr., Demetria C., Neoh H.M., Jamal R., Morikawa S. Establishment of an immunofluorescence assay to detect IgM antibodies to Nipah virus using HeLa cells expressing recombinant nucleoprotein. *J. Virol. Methods*. 2019; 269:83–7. DOI: 10.1016/j.jviromet.2019.03.009.
49. Smith S.J., Eastaugh L.S., Findlay J.S., O'Brien L.M., Thom R., Lever M.S. Survival and persistence of Nipah virus in blood and tissue culture media. *Emerg. Microbes Infect.* 2019; 8(1):1760–2. DOI: 10.1080/22221751.2019.1698272.
50. Satterfield B.A., Cross R.W., Fenton K.A., Agans K.N., Basler C.F., Geisbert T.W., Mire C.E. The immunomodulating V and W proteins of Nipah virus determine disease course. *Nat. Commun.* 2015; 6:7483. DOI: 10.1038/ncomms8483.
51. Mathieu C., Pohl C., Szecei J., Trajkovic-Bodenec S., Devergnas S., Raoul H., Cosset F.L., Gerlier D., Wild T.F., Horvat B. Nipah virus uses leukocytes for efficient dissemination within a host. *J. Virol.* 2011; 85(15):7863–71. DOI: 10.1128/JVI.00549-11.
52. AbuBakar S., Chang L.Y., Ali A.R., Sharifah S.H., Yusoff K., Zamrod Z. Isolation and molecular identification of Nipah virus from pigs. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(12):2228–30. DOI: 10.3201/eid1012.040452.
53. Stroh E., Fischer K., Schwaiger T., Sauerhering L., Franzke K., Maisner A., Groschup M.H., Blohm U., Diederich S. Henipavirus-like particles induce a CD8 T cell response in C57BL/6 mice. *Vet. Microbiol.* 2019; 237:108405. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.108405.
54. de Wit E., Munster V.J. Animal models of disease shed light on Nipah virus pathogenesis and transmission. *J. Pathol.* 2015; 235(2):196–205. DOI: 10.1002/path.4444.
55. Guillaume V., Lefeuvre A., Faure C., Marianneau P., Buckland R., Lam S.K., Wild T.F., Deubel V. Specific detection of Nipah virus using real-time RT-PCR (TaqMan). *J. Virol. Methods*. 2004; 120(2):229–37. DOI: 10.1016/j.jviromet.2004.05.018.
56. Feldman K.S., Foord A., Heine H.G., Smith I.L., Boyd V., Marsh G.A., Wood J.L., Cunningham A.A., Wang L.F. Design and evaluation of consensus PCR assays for henipaviruses. *J. Virol. Methods*. 2009; 161(1):52–7. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.05.014.
57. Drexler J.F., Corman V.M., Gloz-Rausch F., Seebens A., Annan A., Ipsen A., Kruppa T., Müller M.A., Kalko E.K., Adu-Sarkodie Y., Oppong S., Drosten C. Henipavirus RNA in African bats. *PLoS One*. 2009; 4(7):e6367. DOI: 10.1371/journal.pone.0006367.
58. Tong S., Chern S.W., Li Y., Pallansch M.A., Anderson L.J. Sensitive and broadly reactive reverse transcription-PCR assays to detect novel paramyxoviruses. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46(8):2652–8. DOI: 10.1128/JCM.00192-08.
59. Wacharapluesadee S., Hemachudha T. Duplex nested RT-PCR for detection of Nipah virus RNA from urine specimens of bats. *J. Virol. Methods*. 2007; 141(1):97–101. DOI: 10.1016/j.jviromet.2006.11.023.
60. Feldman K.S., Foord A., Heine H.G., Smith I.L., Boyd V., Marsh G.A., Wood J.L., Cunningham A.A., Wang L.F. Design and evaluation of consensus PCR assays for henipaviruses. *J. Virol. Methods*. 2009; 161(1):52–7. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.05.014.
61. Foord A.J., White J.R., Colling A., Heine H.G. Microsphere suspension array assays for detection and differentiation of Hendra and Nipah viruses. *Biomed. Res. Int.* 2013; 2013:289295. DOI: 10.1155/2013/289295.
62. Liu J., Ochieng C., Wiersma S., Ströher U., Townner J.S., Whitmer S., Nichol S.T., Moore C.C., Kersh G.J., Kato C., Sexton C., Petersen J., Massung R., Hercik C., Crump J.A., Kibiki G., Maro A., Mujaga B., Gratz J., Jacob S.T., Banura P., Scheld W.M., Juma B., Onyango C.O., Montgomery J.M., Hout E., Fields B. Development of a TaqMan array card for acute-febrile-illness outbreak investigation and surveillance of emerging pathogens, including Ebola virus. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54(1):49–58. DOI: 10.1128/JCM.02257-15.
63. Onyango C.O., Loparev V., Lidechi S., Bhullar V., Schmid D.S., Radford K., Lo M.K., Rota P., Johnson B.W., Munoz J., Onoko M., Burton D., Black C.M., Neatherlin J., Montgomery J.M., Fields B. Evaluation of a TaqMan array card for detection of central nervous system infections. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 55(7):2035–44. DOI: 10.1128/JCM.02469-16.
64. Ma L., Chen Z., Guan W., Chen Q., Liu D. Rapid and specific detection of all known Nipah virus strains' sequences with reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification. *Front. Microbiol.* 2019; 10:418. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00418.
65. Chip-based Real Time PCR test for Nipah Virus. [Cited 27 Dec 2022]. [Internet]. Available from: https://www.molbiologicaldiagnostics.com/uploads/product_download/20220411.111556-Truenat-Nipah-packinsert-V-04.pdf.
66. Mazzola L.T., Kelly-Cirino C. Diagnostics for Nipah virus: a zoonotic pathogen endemic to Southeast Asia. *BMJ Glob. Health*. 2019; 4(Suppl. 2):e001118. DOI: 10.1136/bmjgh-2018-001118.
67. Ramasundrum V., Tan C.T., Chua K.B., Chong H.T., Goh K.J., Chew N.K., Tan K.S., Thayaparan T., Kunjapan S.R., Petharunam V., Loh Y.L., Ksiazek T.G., Lam S.K. Kinetics of IgM and IgG seroconversion in Nipah virus infection. *Neurol. J. Southeast Asia*. 2000; 5:23–8.
68. Daniels P., Ksiazek T., Eaton B.T. Laboratory diagnosis of Nipah and Hendra virus infections. *Microbes Infect.* 2001; 3(4):289–95. DOI: 10.1016/S1286-4579(01)01382-x.
69. Tamin A., Harcourt B.H., Lo M.K., Roth J.A., Wolf M.C., Lee B., Weingartl H., Audonnet J.C., Bellini W.J., Rota P.A. Development of a neutralization assay for Nipah virus using pseudotype particles. *J. Virol. Methods*. 2009; 160(1-2):1–6. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.02.025.
70. Kaku Y., Noguchi A., Marsh G.A., Barr J.A., Okutani A., Hotta K., Bazartseren B., Broder C.C., Yamada A., Inoue S., Wang L.F. Antigen capture ELISA system for henipaviruses using polyclonal antibodies obtained by DNA immunization. *Arch. Virol.* 2012; 157(8):1605–9. DOI: 10.1007/s00705-012-1338-3.

Authors:

Krivoshchina E.I., Kartashov M.Yu. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Tran Thi Nhai. Russian-Vietnamese Tropical Research and Technology Center. Hanoi, Socialist Republic of Vietnam.

Naidenova E.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Об авторах:

Кривошеина Е.И., Карташов М.Ю. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Колцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Тран Ти Нхай. Российско-Вьетнамский тропический научно-исследовательский и технологический центр. Ханой, Социалистическая Республика Вьетнам.

Найденова Е.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-37-47

УДК 616.98:579.841.95(470)

Т.Ю. Кудрявцева¹, В.П. Попов², А.Н. Мокриевич¹, Е.С. Куликалова³, А.В. Холин³, А.В. Мазепа³,
М.А. Борзенко³, Н.Л. Пичурина⁴, Н.В. Павлович⁴, А.К. Носков⁴, Д.В. Транквилевский⁵, М.В. Храмов¹,
И.А. Дятлов¹

**Множественная лекарственная устойчивость клеток *F. tularensis* subsp. *holarctica*,
анализ эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по туляремии
на территории Российской Федерации в 2022 г. и прогноз на 2023 г.**

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», р.п. Оболенск, Российская Федерация;
²ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ⁴ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ⁵ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация

В обзоре кратко изложена информация о врожденной способности клеток возбудителя туляремии *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* сопротивляться противомикробным препаратам с помощью разнообразных механизмов, приводящей к его мультирезистентности. Всего, с учетом новых территорий, в 2022 г. в Российской Федерации зарегистрировано 120 случаев инфицирования человека возбудителем туляремии. Эпизоотические проявления инфекции различной степени интенсивности выявлены в 58 субъектах РФ. На этом фоне спорадические случаи заболевания людей туляремией зарегистрированы в 18 регионах страны. Вспышка туляремии произошла в Ставропольском крае, заболевание легкой и средней степени тяжести обнаружили у 76 человек. Продолжается повышенная заболеваемость туляремией на территории Республики Карелия с тяжелыми случаями болезни при отсутствии иммунопрофилактики этой инфекции в регионе. Всего выделена 61 культура возбудителя туляремии *F. tularensis* subsp. *holarctica*, из которых 20 эритромицин-устойчивых штаммов изолировано на территории Ставропольского края. Кроме этого, выделено 8 культур *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* из пробы ила и клещей *Dermacentor silvarum* и *Haemaphysalis concinna*, отловленных в Республике Алтай. На территории Российской Федерации в 2022 г. вакцинировано и ревакцинировано против туляремии 930999 человек. На основании анализа данных, полученных в 2022 г., наиболее вероятны в 2023 г. эпидемические осложнения в виде спорадических случаев заболевания среди невакцинированного населения на территориях: Центрального федерального округа – во Владимирской, Рязанской и Смоленской областях; Северо-Западного федерального округа – в Архангельской области и Республике Карелия; Южного федерального округа – в Волгоградской и Ростовской областях; на территории Северо-Кавказского федерального округа будет оставаться сложной ситуация в Ставропольском крае; в Приволжском федеральном округе – на территориях Саратовской области, а также в Кировской области и Республике Мордовия; Уральского федерального округа – в Ханты-Мансийском и Ямало-Ненецком автономных округах; Сибирского федерального округа – на территориях отдельных районов Омской, Кемеровской, Томской, Новосибирской, Иркутской областей, Алтайского, Красноярского краев; в Дальневосточном федеральном округе эпизоотическая активность природных очагов туляремии наиболее интенсивная на территории Приморского края.

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

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

Для цитирования: Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа А.В., Борзенко М.А., Пичурина Н.Л., Павлович Н.В., Носков А.К., Транквилевский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Множественная лекарственная устойчивость клеток *F. tularensis* subsp. *holarctica*, анализ эпизоотологической и эпидемиологической ситуации по туляремии на территории Российской Федерации в 2022 г. и прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:37–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-37-47

Поступила 14.03.2023. Отправлена на доработку 16.03.2023. Принята к публ. 17.03.2023.

T.Yu. Kudryavtseva¹, V.P. Popov², A.N. Mokrievich¹, E.S. Kulikalova³, A.V. Kholin³, A.V. Mazepa³,
M.A. Borzenko³, N.L. Pichurina⁴, N.V. Pavlovich⁴, A.K. Noskov⁴, D.V. Trankvilevsky⁵,
M.V. Khramov¹, I.A. Dyatlov¹

**Multidrug Resistance of *F. tularensis* subsp. *holarctica*, Epizootiological
and Epidemiological Analysis of the Situation on Tularemia in the Russian Federation
in 2022 and Forecast for 2023**

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

²Plague Control Center, Moscow, Russian Federation;

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

⁴Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

⁵Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The review provides concise information on the innate ability of cells of the tularemia pathogen, *Francisella tularensis* subsp. *Holarctica*, to resist antimicrobials through a variety of mechanisms, leading to its multi-resistance. In total, taking into account new territories, 120 cases of human infection were registered in the Russian Federation in 2022. Epizootic manifestations of the infection of varying degrees of intensity were detected in 58 constituent entities.

Against this background, sporadic cases of tularemia in humans were reported in 18 regions of the country. An outbreak of tularemia occurred in the Stavropol Territory; the disease of mild and moderate severity was found in 76 people. The increased incidence of tularemia persists in the Republic of Karelia with severe cases of the disease in the absence of immunoprophylaxis of this infection in the region. A total of 61 cultures of the tularemia pathogen *F. tularensis* subsp. *holarctica*, out of which 20 erythromycin-resistant strains were isolated in the Stavropol Territory. In addition, 8 cultures of *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* from a silt sample and mites *Dermacentor silvarum* and *Haemaphysalis concinna* caught in the Republic of Altai were isolated. On the territory of the Russian Federation in 2022, 930 999 people were vaccinated and revaccinated against tularemia. Based on the analysis of the data obtained in 2022, epidemic complications in the form of sporadic cases of the disease among the unvaccinated population are most likely to occur in the territories of the Central Federal District – in the Vladimir, Ryazan and Smolensk Regions; Northwestern Federal District – in the Arkhangelsk Region and the Republic of Karelia; Southern Federal District – in the Volgograd and Rostov Regions. The situation in the North Caucasian Federal District will remain tense in the Stavropol Territory; in the Volga Federal District – in the territories of the Saratov Region, as well as in the Kirov Region and the Republic of Mordovia; Ural Federal District – in Khanty-Mansi and Yamalo-Nenets Autonomous Districts; Siberian Federal District – in certain territories of Omsk, Kemerovo, Tomsk, Novosibirsk, Irkutsk Regions, Altai, Krasnoyarsk Territories; in the Far Eastern Federal District, the most intense epizootic activity of natural tularemia foci is in Primorsky Krai.

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

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

Funding: The study was carried out within the framework of the sectoral program of the Rospotrebnadzor and the efforts of the Reference Center of the FBSI SRC AMB to monitor tularemia.

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

Citation: Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Kulikalova E.S., Kholin A.V., Mazepa A.V., Borzenko M.A., Pichurina N.L., Pavlovich N.V., Noskov A.K., Trankvilevsky D.V., Khramov M.V., Dyatlov I.A. Multidrug Resistance of *F. tularensis* subsp. *holarctica*, Epizootiological and Epidemiological Analysis of the Situation on Tularemia in the Russian Federation in 2022 and Forecast for 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:37–47. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-37-47

Received 14.03.2023. Revised 16.03.2023. Accepted 17.03.2023.

Kudryavtseva T.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0707-2376>

Popov V.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4476-7831>

Mokrievich A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3675-8780>

Kulikalova E.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7034-5125>

Kholin A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9344-3542>

Mazepa A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0843-4757>

Borzenko M.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6247-6201>

Pichurina N.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1876-5397>

Pavlovich N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8287-4294>

Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Trankvilevsky D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4896-9369>

Khramov M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1816-0462>

Dyatlov I.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1078-4585>

На территории Европы, Азии и, соответственно, Российской Федерации распространены в основном штаммы голарктического подвида возбудителя туляремии – *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, – которые имеют природную устойчивость ко многим видам противомикробных препаратов. Напомним, этот подвид имеет врожденную устойчивость к пенициллинам, полимиксидам, цефалоспоридам, линкозамидам (клиндамицину), ко-тримоксазолу (сульфаметоксазолу триметоприму). К макролидам, карбопенемам, монобактамам (азтреонеми) наблюдается штамм-зависимая устойчивость изолятов голарктического подвида.

Штаммы вирулентных для человека и животных подвидов *F. tularensis* отличаются от многих грам-отрицательных микроорганизмов тем, что не содержат плазмид [1]. Множественная природная устойчивость к различным токсическим веществам в клетках возбудителя туляремии обусловлена не приобретением плазмид, а является результатом мутаций, которые произошли в генах, кодирующих регуляторы, мишени и переносчики лекарственных средств, а также определена наличием ферментов, модифицирующих противомикробные препараты [2]. По-видимому, широкое распространение возбудителя туляремии *F. tularensis* subsp. *holarctica* в окружающей среде, в различных биосистемах привело к значительно более высокой способности сопротивляться противомик-

робным препаратам и отбору разнообразных, наиболее эффективных и универсальных механизмов.

Наиболее распространенными бактериальными механизмами, вовлеченными в резистентность возбудителя туляремии, являются снижение проницаемости наружной мембраны и естественная и индуцированная активность эффлюксных насосов, посредством которых осуществляется выкачивание молекул антибиотиков всех классов и детергентов из цитоплазмы, как через внутреннюю, так и внешнюю мембрану [2–4].

Природная устойчивость возбудителя туляремии к бета-лактамам антибиотикам (пенициллинам, цефалоспоридам, карбопенемам, монобактамам) обусловлена изменением проницаемости внешней мембраны, взаимодействием с пенициллин-связывающими белками и ферментативным разложением лекарственного средства тремя сериновыми бета-лактамазами класса A [5–8].

Устойчивость к полимиксидам связывают с уникальным строением эндотоксина возбудителя туляремии, а именно с отсутствием одной или двух анионных фосфатных групп в структуре липида A и модификацией 1'-фосфата, если он присутствует, путем связывания с галактозамином, что приводит к уменьшению отрицательного поверхностного заряда и отталкиванию катионных противомикробных препаратов [9–11].

Механизмом устойчивости к эритромицину является модификация гена *rrl* 23S рибосомальной РНК. Введение нуклеотидной замены в положении 2059 этого гена сделало чувствительные к эритромицину штаммы *F. tularensis* устойчивыми. Эта мутация оказалась генетической основой биоварной, фенотипической и таксономической дифференциации *F. tularensis* subsp. *holarctica* биовара II или основной филогенетической группы B.12 [12].

Возбудитель туляремии, *F. tularensis*, проявляет значительную чувствительность только к трем основным классам антибиотиков (тетрациклину, аминогликозидам и фторхинолонам). Однако о неэффективности лечения этими классами антибиотиков сообщалось в 25 % случаев туляремии [13–15].

Частичная устойчивость к антибиотикам, которые используются для лечения туляремии, обусловлена разными причинами. В случае фторхинолонов – это индуцированные антибиотиком мутации в бактериальных гиразах и топоизомеразах (мишенях лекарственного средства), которые придают повышенную устойчивость патогену [16–19].

Тетрациклин оказывает лишь бактериостатическое действие на *F. tularensis*, и лечение туляремии этим антибиотиком может привести к рецидивам, особенно если оно не будет проводиться в течение как минимум 14 дней [13, 20, 21].

Гентамицин не способен проникать через мембрану, поэтому внутриклеточная локализация возбудителя в организме человека или животного – это защита от данного лекарственного средства, но любые внеклеточные, нефагоцитированные бактерии будут уничтожены гентамицином [22, 23].

Поскольку *F. tularensis* является факультативной внутриклеточной бактерией, любой предлагаемый антибиотик предпочтительно должен обладать внутриклеточной активностью. Способностью концентрироваться внутри макрофагов примерно в 1000 раз выше концентрации в сыворотке крови хозяина обладают азитромицин и рифампицин, вследствие чего бактерии возбудителя туляремии могут быть убиты во внутриклеточном состоянии этими антибиотиками, особенно в сочетании с другими антибиотиками, например с ципрофлоксацином [24, 25].

В Российской Федерации с 2000 по 2022 год зарегистрирован 3641 случай туляремии в 67 субъектах, в 2022 г. – 120 случаев в 18 субъектах РФ семи федеральных округов (рис. 1).

С 2000 г. 58,8 % от всех заболевших туляремией зарегистрировано в Центральном и Уральском федеральных округах (рис. 1). При этом в 53,4 % от всех случаев заражения происходили в основном трансмиссивным путем в летние периоды 2005 и 2013 гг. В 2013 г. в Ханты-Мансийском автономном

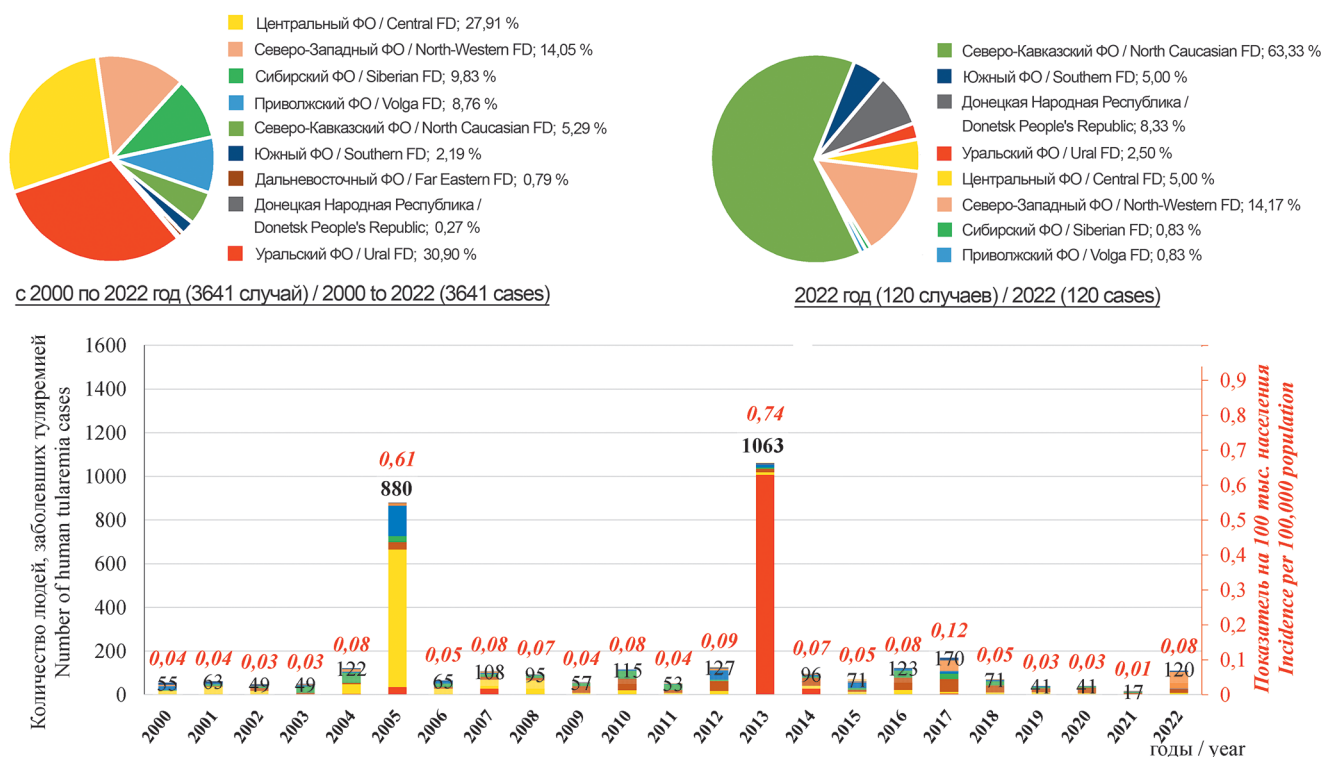


Рис. 1. Число случаев туляремии с 2000 по 2022 год на территориях Российской Федерации (информация по Донецкой Народной Республике – за 2022 г., данные формы государственной статистической отчетности № 2 «Сведения об инфекционной и паразитарной заболеваемости», в том числе по Республике Крым – с 2014 г.). По основной оси ординат приведено число случаев заболеваний, по вспомогательной оси ординат – относительные значения заболеваемости (курсив)

Fig. 1. The number of tularemia cases in the territories of the Russian Federation over the period of 2000-2022 (evidence on the Donetsk People's Republic for 2022, data from the state statistical reporting form No. 2 "Information on infectious and parasitic morbidity", including for the Republic of Crimea – since 2014). The main y-axis shows the number of cases of the disease, the secondary y-axis shows the relative incidence rates per 100 thousand of the population (in italics)

округе – Югре (ХМАО) зарегистрировано 1005 случаев (63,90 на 100 тыс. населения), в 2005 г. – 880 (0,61 на 100 тыс. населения), в том числе в Московской области – 402 случая (включая больных из Москвы), Рязанской – 135, Владимирской – 40, Воронежской – 35.

В 2022 г. в Российской Федерации вакцинировано и ревакцинировано против туляремии 930999 человек (в 2021 г. – 914158 человек, в 2020 г. – 856056, максимальное количество вакцинированных и ревакцинированных – в 2000 г. – 2212673 человека). В недостаточном объеме осуществляли вакцинацию и ревакцинацию в 2022 г. в Красноярском крае, Кировской, Кемеровской и Томской областях, не проводили – в Республике Карелия.

В летне-осенний период 2022 г. на большинстве территорий России сложились благоприятные погодные условия, произошло увеличение численности мелких млекопитающих в природных местах обитания. На отдельных территориях и станциях во второй половине 2022 г. зарегистрированы максимальные показатели численности мелких млекопитающих за последние 10 лет, которые превышали 15 % попаданий на 100 ловушко-суток, в том числе: в открытых луго-полевых станциях на 10 территориях – в Ставропольском и Камчатском краях, в Брянской, Архангельской, Ростовской, Пензенской, Саратовской и Кемеровской областях, Кабардино-Балкарской Республике и Еврейской автономной области (в 2021 г. – на 3 территориях); в лесостепных станциях на 7 территориях – в Брянской, Архангельской и Кемеровской областях, Республике Башкортостан, Кабардино-Балкарской, Удмуртской и Чувашской республиках (в 2021 г. – на 2 территориях); в околородных станциях на 7 территориях – в Брянской, Архангельской, Пензенской, Кемеровской и Томской областях, Кабардино-Балкарской Республике и Республике Башкортостан (в 2021 г. – на 1 территории).

С целью выяснения состояния природных очагов туляремии – полигостальной и поливекторной инфекционной болезни – пробы зоолого-энтомологического материала исследовали при помощи бактериологических, иммунологических и молекулярно-биологических методов.

Лабораторные исследования зоолого-энтомологического материала не проводили только в трех субъектах Российской Федерации: в Ненецком автономном округе и в республиках Дагестан и Ингушетия. Не исследовали зоолого-энтомологический материал от млекопитающих только в Карачаево-Черкесской Республике; от иксодовых клещей – на 16 территориях их распространения; из погадок хищных птиц – на 23 территориях; из воды и ила открытых водоемов – на 20 территориях.

Остальной зоолого-энтомологический материал ежегодно исследовали менее чем в половине субъектов Российской Федерации. В 2022 г. подснежные гнезда мелких млекопитающих исследовали только

на 40 территориях, пробы соломы – на 23, помет хищных млекопитающих – на 18, помет грызунов – на 11, комаров – на 35, слепней – на 35, блох – на 12, мошек – на 11, гамазовых клещей – на 8, мокрецов – на 2 территориях, аргасовых клещей исследовали только в Краснодарском крае.

Анализ результатов зоолого-энтомологического и эпизоотологического мониторинга, представленных в соответствии с формой отраслевой статистической отчетности № 29-2, показал, что за обзорный период эпизоотические проявления туляремийной инфекции различной степени интенсивности имели место в 58 субъектах РФ (в 2021 г. – в 54).

Инфицированные пробы от мелких млекопитающих (рис. 2) выявлены в 45 субъектах РФ (в 2021 г. – в 43). Отрицательные результаты лабораторных исследований получены на 30 территориях: Москва, Белгородская, Ивановская, Московская, Ярославская, Астраханская, Самарская, Саратовская, Ульяновская, Курганская, Свердловская, Челябинская, Амурская, Магаданская и Сахалинская области, республики Калмыкия, Северная Осетия – Алания, Башкортостан, Марий Эл, Алтай, Тыва, Хакасия, Бурятия и Саха (Якутия), Кабардино-Балкарская, Чеченская и Чувашская республики, Забайкальский край, Еврейская автономная область, Чукотский АО.

Инфицированные иксодовые клещи обнаружены в 16 субъектах РФ (в 2021 г. – в 17), в 6 федеральных округах (кроме Уральского и Дальневосточного). При исследовании более 20 тыс. проб от иксодовых клещей 22 видов выявлено 339 инфицированных, что составляет 1,7 % (в 2021 г. – 1,0 %). Видовой состав исследованных и инфицированных иксодовых клещей был разнообразным (рис. 3).

Из 35 территорий, на которых исследовали комаров (в 2021 г. – 28), на 5 территориях выявлены положительные пробы (в 2021 г. – на 3): в Воронежской (р. *Anopheles*), Архангельской (р. *Aedes*), Волгоградской (р. *Aedes* и *Culex*) и Новосибирской (р. *Aedes*) областях, Ямало-Ненецком автономном округе (ЯНАО) (р. *Ochlerotatus*).

При исследовании слепней положительные результаты получены на 5 территориях (в 2021 г. – на 3): в Архангельской (р. *Tabanus*, *Chrysops*, *Haematopota*, *Hybomitra*), Саратовской (р. *Tabanus*), Самарской (р. *Tabanus*) и Томской (р. *Haematopota*) областях, ЯНАО (р. *Hybomitra*).

Мошек исследовали на 11 территориях (в 2021 г. – на 5), при этом инфицированные пробы выявили в Республике Татарстан и ЯНАО.

Блох исследовали на 12 территориях. За последние три года получены отрицательные результаты.

Положительные результаты получены при исследовании проб: погадок хищных птиц на 27 территориях (в 2021 г. – на 23): в г. Санкт-Петербурге, Красноярском, Приморском и Ставропольском краях, Вологодской, Воронежской, Иркутской, Калужской, Липецкой, Московской, Нижегородской, Новосибирской, Омской, Орловской, Пензенской,

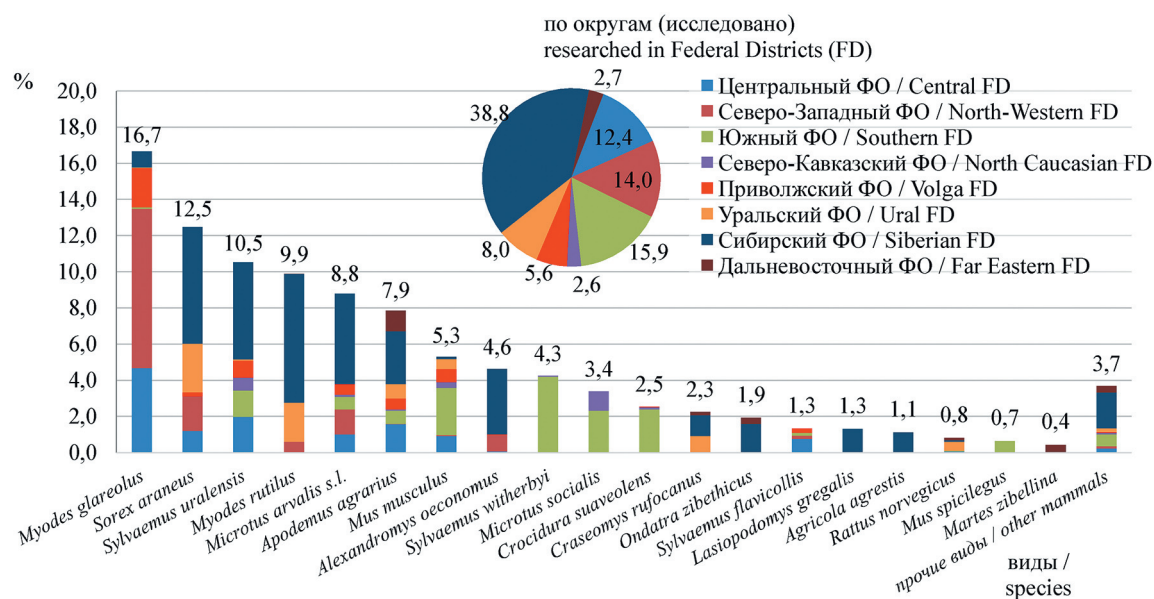


Рис. 2. Структура инфицированных возбудителем туляремии проб от различных видов млекопитающих в Российской Федерации в 2022 г. Прочие 23 вида: восточная полевка, равнозубая бурозубка, кустарниковая полевка, серый хомячок, американская норка, восточноазиатская мышь, обыкновенная кутора, азиатский бурундук, обыкновенная лисица, средняя бурозубка, белозубка сибирская, малая бурозубка, водяная полевка, обыкновенный хомяк, мышь-малютка, алтайская мышовка, европейский крот, белобрюхая белозубка, крошечная бурозубка (Черского), плоскочерепная (бурая) бурозубка, лесная мышовка, крысовидный хомячок, алтайский крот

Fig. 2. Structure of tularemia-infected samples from various mammalian species in the Russian Federation in 2022. Other 23 species: *Alexandromys fortis*, *Sorex isodon*, *Microtus majori*, *Cricetulus migratorius*, *Neovison vison*, *Apodemus peninsulae*, *Neomys fodiens*, *Eutamias sibiricus*, *Vulpes vulpes*, *Sorex caecutiens*, *Crocodyrus sibirica*, *Sorex minutus*, *Arvicola amphibius*, *Cricetus cricetus*, *Microtus minutus*, *Sicista napaea*, *Talpa europaea*, *Crocodyrus leucodon*, *Sorex minutissimus*, *Sorex roboratus*, *Sicista betulina*, *Tscherskia triton*, *Talpa altaica*

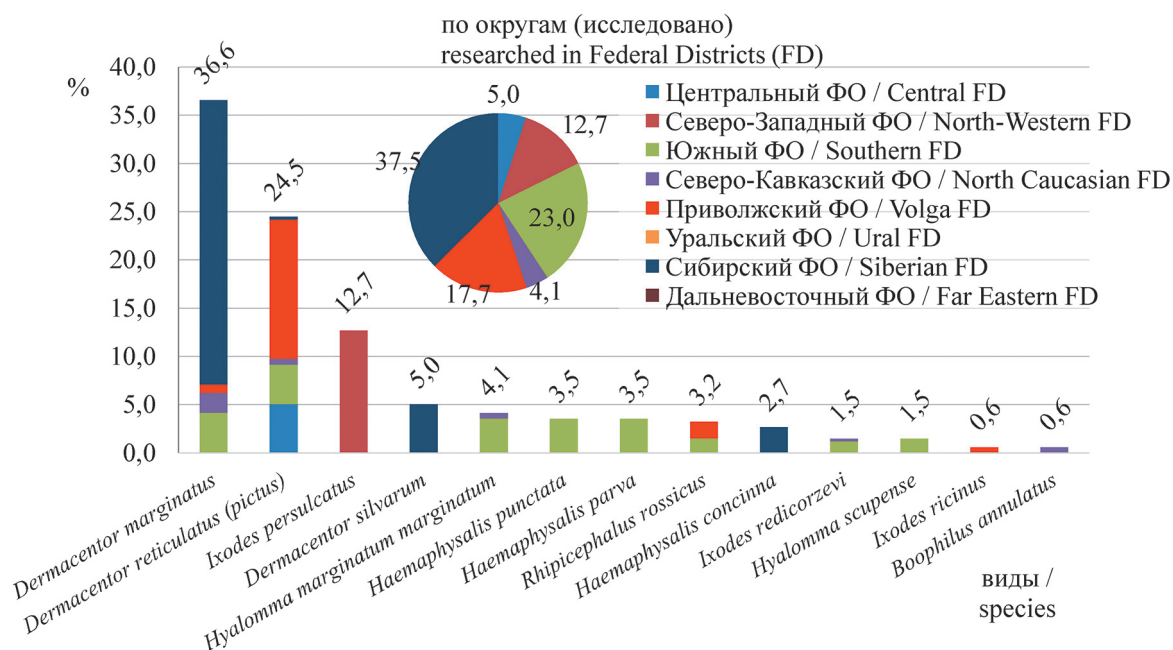


Рис. 3. Структура инфицированных возбудителем туляремии проб иксодовых клещей в Российской Федерации в 2022 г.

Fig. 3. Structure of ixodid tick samples infected with tularemia in the Russian Federation in 2022

Ростовской, Рязанской, Саратовской, Смоленской, Томской и Ярославской областях, республиках Крым, Мордовия, Саха (Якутия), Татарстан и Хакасия, Чувашской Республике; помета хищных млекопитающих на 7 территориях (в 2021 г. – на 7): в Саратовской, Рязанской, Ленинградской, Смоленской и Волгоградской областях, Республике Хакасия

и Камчатском крае; помета грызунов на 4 территориях (в 2021 г. – на 3): в Ленинградской и Томской областях, Республике Татарстан и Камчатском крае; воды и ила из открытых водоемов на 14 территориях (в 2021 г. – на 6): в Санкт-Петербурге и Алтайском крае, Архангельской, Вологодской, Ивановской, Ленинградской, Московской, Новосибирской,

Омской и Орловской областях, республиках Алтай, Мордовия и Татарстан, ЯНАО; гнезд грызунов на 13 территориях (в 2021 г. – на 10): в Алтайском и Красноярском краях, Санкт-Петербурге, Республике Татарстан, Архангельской, Ленинградской, Новосибирской, Омской, Ростовской, Рязанской, Самарской, Смоленской и Ульяновской областях; сена и соломы на 4 территориях (в 2021 г. – на 3): в Орловской и Нижегородской областях, Красноярском крае и Республике Мордовия; прочих объектов на 5 территориях (в 2021 г. – на 3): в Санкт-Петербурге, Новосибирской, Архангельской и Орловской областях, Республике Татарстан.

В течение 2022 г. выделена 61 культура *F. tularensis* subsp. *holarctica*. В Ивановской области из воды р. Вязмы выделено 2 эритромицин-чувствительных штамма. В Московской области из проб воды выделено 7 эритромицин-чувствительных и 1 эритромицин-устойчивый штамм. В Вологодской области также из проб воды выделено четыре эритромицин-чувствительных культуры *F. tularensis* subsp. *holarctica* биовар I EryS. Из проб воды проточных водоемов Санкт-Петербурга (Колпинский, Московский, Фрунзенский районы) выделено 10 культур возбудителя туляремии, а также 4 культуры – от трупов обыкновенных и рыжих полевых, подобранных в Московском и Пушкинском районах города. Изолированы 2 культуры возбудителя в Республике Крым при исследовании материала от степных мышей (*Sylvaeus witherbyi*), отловленных в Джанкойском и Нижнегорском районах Керченского полуострова. В 2022 г. при исследовании проб полевого материала, полученного на территории Новоазовского района Донецкой Народной Республики (ДНР) и переданного во ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», выделены 4 эритромицин-устойчивых культуры *F. tularensis* subsp. *holarctica* от домовых мышей, белозубки и лесной мыши. При исследовании материала от отловленных в Ростовской области мелких млекопитающих и собранных трупов мелких млекопитающих изолировано 7 эритромицин-устойчивых культур возбудителя туляремии, в том числе: от мыши курганчиковой – 1, домовой мыши – 1, серой полевки – 2, павших домовых мышей – 2, малой белозубки – 1. Специалистами Ростовского-на-Дону противочумного института проведено сравнение геномов штаммов, выделенных от мелких млекопитающих в ДНР и Ростовской области. Установлено, что на территории Ростовской области циркулируют как общие, так и генетически отличающиеся от «донецких» штаммы. В Ставропольском крае в ноябре 2022 г. при исследовании проб от мелких млекопитающих и эктопаразитов, очесанных с отловленных млекопитающих, воды родниковых каптажей и воды открытых водоемов выявлена ДНК туляремийного микроба. Изолировано 20 культур возбудителя туляремии (*F. tularensis* subsp. *holarctica* биовар II EryR [эритромицин резистентный]), в том числе от мле-

копитающих – 18 (от зайцев – 2, полевки обыкновенной – 7 [отловленные и павшие], белозубки малой – 6, белозубки белобрюхой – 1, малой лесной мыши – 2), из воды каптажа – 1, из мазка с миндалин больного человека – 1.

Выделено также 8 культур *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* из пробы ила и клещей *Dermacentor silvarum*, *Haemaphysalis concinna*, отловленных на территории Республики Алтай.

К территории России в 2022 г. добавились земли Донецкой и Луганской (ЛНР) народных республик, Херсонской и Запорожской областей. Это свыше 100 тыс. кв. км и 8 млн человек населения. На территории Украины, еще в составе СССР, был зафиксирован 51 природный очаг туляремии, из них наиболее активные – в Волынской, Ровенской, Полтавской, Черниговской и Сумской областях [26]. Вакцинация против туляремии прекратилась в стране в 1991 г. с распадом Советского Союза. При этом в 2014 г. кабинет министров Украины своим решением ликвидировал Государственную санитарно-эпидемиологическую службу. В 2016 г. были упразднены санитарные нормы, которые действовали на ее территории с советских времен (их действие прекратилось с 1 января 2017 г.). В последние годы иммунопрофилактика проводилась только гражданским лицам, а также военным, находящимся в эпидемически неблагоприятных районах ДНР и ЛНР [27].

В 2022 г. в ДНР и ЛНР, Херсонской и Запорожской областях остались необработанные поля зерновых и масличных культур, разрушены хранилища продуктов, пекарни и магазины, что могло способствовать росту численности грызунов. Во время сезонных миграций мышевидных грызунов (в дома, блиндажи, траншеи) у людей на этих территориях возрастает вероятность инфицироваться зоонозными инфекциями.

По информации Республиканского центра санитарно-эпидемиологического надзора Государственной санитарно-эпидемиологической службы министерства здравоохранения ДНР, в 2022 г. в республике зарегистрировано 10 случаев туляремии – у жителей Амвросиевского района, г. Донецка, работающих взрослых жителей сел Порохня, Кузнецы, Розы Люксембург Новоазовского района ДНР. Нет данных по заболеваемости туляремией, сведений об изменении численности грызунов и насекомых за обзорный период и исследований зоолого-энтомологического материала на туляремию на территориях ЛНР, а также Херсонской и Запорожской областей.

По информации Новоазовской центральной районной больницы составлены списки подлежащих вакцинации 693 человек, проживающих как на вновь выявленных энзоотических территориях, так и на ранее зарегистрированных.

Центральный федеральный округ (ЦФО). В 2022 г. зарегистрировано 6 случаев туляремии на территории ЦФО: по 1 больному в Калужской и

Ивановской областях и по 2 случая во Владимирской и Московской областях (в 2021 г. – 2 случая).

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 10,1 % попаданий на 100 ловушко-суток (в 2021 г. – 7,5 %).

Во Владимирской области серологическими методами исследованы мелкие млекопитающие, получены 26,1 % положительных проб, добытых в г. Гусь-Хрустальный, Камешковском и Собинском районах. Положительные результаты получены от рыжих полевков, обыкновенных бурозубок, серой крысы, лесных и полевых мышей.

Эпизоотии туляремии выявлены в Кораблинском, Пронском, Рязанском, Спасском, Старожиловском, Шиловском, Чучковском районах Рязанской области. Самый высокий показатель инфицированности мелких млекопитающих туляремией отмечен в Спасском районе (33,8 %). Наиболее высокий процент инфицирования выявлен у обыкновенной бурозубки (46,4 %). Из объектов внешней среды антиген к туляремии выявлен в погадках. Из 27 исследованных погадок хищных птиц, собранных в Пронском, Рыбновском, Старожиловском районах, в г. Рязани, получено 10 положительных результатов.

В Смоленской области эпизоотии туляремии обнаружены в Духовщинском, Ермичском, Кардымовском, Смоленском, Шумячском и Ярцевском районах. Также были получены положительные результаты от погадок хищных птиц, гнезд и помета грызунов из Руднянского и Смоленского районов.

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

Наиболее неблагоприятная ситуация по туляремии прогнозируется в 2023 г. на территориях Владимирской, Рязанской и Смоленской областей.

Северо-Западный федеральный округ (СЗФО). В 2022 г. на территории СЗФО зарегистрировано 17 больных туляремией (в 2021 г. – 6). В Республике Карелия заболели 9 человек, 4 – в Архангельской области и по 1 заболевшему в Вологодской и Мурманской областях, Республике Коми и Санкт-Петербурге.

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 7,2 % попаданий на 100 ловушко-суток (в 2021 г. – 6,8 %).

Неблагоприятная эпидемическая обстановка по туляремии в Республике Карелия продолжается с 2016 г. На ее территории в 2022 г. туляремией заболели 9 человек. Показатель заболеваемости на 100 тыс. населения в Республике Карелия превышает в последние годы показатель по Российской Федерации в десятки раз (таблица). Несмотря на высокий уровень заболеваемости в Карелии в течение последних 7 лет, первоначальный правильный диагноз «туляремия» в 2022 г. поставлен только двум из девяти заболевших туляремией. Двум пациентам 17 лет первоначально поставлены диагнозы «ОРВИ» и «паратонзиллярный абсцесс» (затем мезаденит, гастроэнтерит), в конечном итоге выяснилось, что дети болеют желудочно-кишечной формой туляремии тяжелой степени тяжести. Четырём пациентам пенсионного возраста диагностировали лимфаденит и отправили на консультацию к онкологам, а также были поставлены диагнозы «пневмония» и «дерматит».

Ни в 2020, ни в 2021, ни в 2022 гг. в Республике Карелия не вакцинировано ни одного человека. Сравнение динамики заболеваемости в республике показало, что в последние годы повышение числа инфицированных людей в соседней Финляндии через некоторое время повторяется в Карелии, чего не было в предыдущие десятилетия, когда количество вакцинированных в Карелии составляло десятки тысяч [28]. Анализ заболеваемости туляремией в Республике Карелия с 1950 г. показал распространение инфекции на всю территорию субъекта Федерации, значительный рост случаев инфекции среди населения и сильное сокращение количества вакцинированных в последние годы, однако автор статьи не делает вывода о необходимости существенного расширения контингента населения для иммунизации вакциной против туляремии на всех территориях республики, в том числе детей и пенсионеров, занимающихся садоводством [28].

В СЗФО заметный уровень иммунопрофилактики туляремии только в Вологодской области (вакцинировано – 1037, ревакцинировано – 6813 человек),

Данные по заболеваемости туляремией в Республике Карелия (2016–2022 гг.)
Data on the incidence of tularemia in the Republic of Karelia (2016–2022)

Год Year	Число случаев Number of cases	Показатель заболеваемости по Карелии Morbidity rate in Karelia	Показатель заболеваемости по РФ Morbidity rate in the Russian Federation	Количество вакцинированных Number of vaccinated people
2016	25	3,95	0,08	30
2017	40	6,34	0,11	30
2018	14	2,07	0,04	15
2019	9	1,44	0,03	865
2020	23	3,73	0,03	0
2021	4	0,65	0,01	0
2022	9	1,62	0,08	0
Всего Total	124	–	–	940

а также в Республике Коми и Ненецком АО. Снижен в три раза уровень вакцинации в Архангельской области, нулевой – в Республике Карелия и Мурманской области.

Наиболее неблагоприятная ситуация по туляремии прогнозируется в 2023 г. на территориях Архангельской области и Республики Карелия.

Южный федеральный округ (ЮФО). В 2022 г. на территории ЮФО зарегистрировано 7 больных туляремии (в 2021 г. – 2). По 2 заболевания туляремии зарегистрировано в Ростовской области и Республике Крым и 3 – в Краснодарском крае.

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 10,0 % попаданий на 100 ловушко-суток (в 2021 г. – 10,2 %).

Согласно данным Ростовского-на-Дону противочумного института, специалистами зоогруппы в ходе эпизоотологического мониторинга установлена высокая численность грызунов в Ростовской области: в Неклиновском районе (средняя численность мелких млекопитающих составила 52,5 % попадания), Родионово-Несветайском (43,5 %), Матвеево-Курганском (19,5 %) и Куйбышевском районе (23,3 %), что значительно превышает показатели 2021 г.

Наиболее неблагоприятная ситуация по туляремии прогнозируется в 2023 г. в Волгоградской и Ростовской областях.

Северо-Кавказский федеральный округ (СКФО). В 2022 г. на территории СКФО зарегистрировано 76 больных туляремии в Ставропольском крае (в 2021 г. – 1 больной).

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 16,2 % попадания на 100 ловушко-суток (в 2021 г. – 9,7 %).

В конце ноября 2022 г., по данным Минприроды Ставропольского края, в 6 районах был отмечен массовый падеж зайцев. Вспышка туляремии произошла в 2022 г. в Петровском городском округе Ставропольского края. Осложнение эпидемической ситуации связано с активизацией природного очага туляремии степного типа, произошедшей на фоне увеличения численности мелких млекопитающих в луго-полевых стациях и возникновения эпизоотии. Из-за неудовлетворительного состояния водозаборных сооружений произошло инфицирование воды водопроводной сети в одном из сел. Инфекция обнаружена в источниках питьевой воды «Ставрополькрайводоканала» в с. Сухая Буйвола Петровского городского округа. Там проведена дезинфекция источников и водопроводных сетей.

Заболевание легкой и средней степени тяжести получили 76 человек из 14 районов края и г. Ставрополя, из них 29 человек – дети до 17 лет. В целом по краю заражения людей происходили при употреблении сырой водопроводной воды из родниковых каптажей, при разделке зайцев, добытых на охоте в энзоотичных районах, при контакте с предметами, инфицированными выделениями грызунов,

при работе с зерносмесями и комбикормами, инфицированными выделениями грызунов, а также при укусе кровососущим членистоногими (клещом) – 1 случай.

Подобная вспышка происходила в 2017 г., когда заболели туляремии 49 человек, большая часть которых заразились в селах Донская Балка и Константиновское того же Петровского района Ставропольского края, в основном при употреблении питьевой водопроводной воды. Естественный вывод заключается в том, что инфраструктура водоснабжения района требует совершенствования и постоянного санитарно-гигиенического контроля.

В 2022 г. высокий уровень иммунопрофилактики туляремии на территории СКФО был исключительно в Ставропольском крае (вакцинировано – 5286, ревакцинировано – 27068 человек), что, однако, не исключило групповую вспышку туляремии, но, возможно, позволило избежать тяжелых случаев этого особо опасного заболевания.

Наиболее неблагоприятная ситуация по туляремии прогнозируется в 2023 г. в Ставропольском крае.

Приволжский федеральный округ (ПФО). В 2022 г. на территории ПФО зарегистрирован 1 больной туляремии в Кировской области (в 2021 г. – 2 больных в Самарской области).

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 17,3 % попаданий на 100 ловушко-суток (в 2020 г. – 13,8 %).

В ПФО значительные уровни иммунопрофилактики туляремии только в Саратовской (вакцинировано – 1783, ревакцинировано – 7442 человека) и Пензенской (вакцинировано – 811, ревакцинировано – 4664 человека) областях.

Эпидемические осложнения по туляремии в виде спорадических случаев заболевания среди невакцинированного населения наиболее вероятны в 2023 г. на территории Саратовской области, а также в Кировской области и Республике Мордовия, где, помимо высокой численности мелких млекопитающих, отмечена высокая инфицированность проб органов грызунов, насекомых и объектов внешней среды, выявленных на значительных территориях регионов, а также низкий объем профилактических мероприятий.

Уральский федеральный округ (УФО). В 2022 г. на территории УФО зарегистрировано 3 случая туляремии на территории ХМАО (в 2021 г. больных туляремии не зарегистрировано).

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 6,3 % попаданий на 100 ловушко-суток (в 2021 г. – 6,3 %).

На территории ХМАО уровень серопозитивных мелких млекопитающих в околородных биотопах колебался от 24,59 до 65,91 % в июне – сентябре с понижением в октябре до 8,11 %. Возбудитель и его антиген в пробах воды из открытых водоемов и в кровососущих двукрылых не выявлены. На Ямале

специфические антитела выявлены у 45,97 % мелких млекопитающих, антиген – у 15,32 % мелких млекопитающих, также антиген обнаружен в пробах воды (75,0 %) и у кровососущих двукрылых (53,85 %).

Таким образом, эпизоотическая активность природных очагов туляремии в 2022 г. была наиболее интенсивной на территориях ХМАО и ЯНАО.

Заметная вакцинопрофилактика туляремии проводится только в Тюменской области (вакцинировано – 10254, ревакцинировано – 31101 человек) и ХМАО (вакцинировано – 15328, ревакцинировано – 24093 человека).

Спорадические случаи заболевания среди невакцинированного населения наиболее вероятны в 2023 г. на территориях ХМАО и ЯНАО.

Сибирский федеральный округ (СФО). В 2022 г. на территории СФО зарегистрирован 1 больной туляремией в Омской области (в 2021 г. – 4).

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 9,6 % попаданий на 100 ловушко-суток (в 2021 г. – 8,3 %).

Лабораторный анализ доставленного материала свидетельствовал об активизации эпизоотического процесса в пределах всех ландшафтных зон Новосибирской области. Подтверждено наличие антител у 32,67 % отловленных мелких млекопитающих в 6 районах, получены положительные серологические результаты исследования проб воды (5,88 %) из 3 водоемов в 2 районах области (Купинский и Баганский), на территории 4 районов отмечены положительные серологические находки в пробах из гнезд грызунов (12,5 %), в 3 районах выявлен антиген возбудителя в погадках птиц (11,36 %) и кровососущих двукрылых (23,33 %).

Эпизоотическая активность различной степени интенсивности установлена на территории Кемеровской области.

Эпизоотологическое обследование природных очагов туляремии в Алтайском крае проведено на 7 административных территориях. Антитела выявлены в организме мелких млекопитающих (60,07 %) в 5 районах, антиген – в воде открытых водоемов (14,14 %) в 2 районах, иле (12,35 %) в 3 районах, иксодовых клещах (0,38 %) в 1 районе.

На территории Красноярского края эпизоотическая активность отмечена в 12 районах. Антитела к возбудителю туляремии выявлялись в организме мелких млекопитающих (41,79 %), антиген тулярийного микроба обнаружен в погадках птиц (до 10,44 %) и гнездах грызунов (32,14 %).

В Иркутской области эпизоотическая активность наблюдалась на территориях Иркутского (у 23,21 % мелких млекопитающих выявлены антитела и у 50 % – тулярийный антиген), Заларинского (10,0 и 20 % соответственно) и Нижнеудинского (8,82 и 20,63 % соответственно) районов.

В Омской области в организме отловленных мелких млекопитающих выявлены антитела к возбу-

дителю туляремии в 9,66 % проб, антиген – в 29,21 %, также антиген возбудителя выявлен в погадках птиц (9,09 %) и воде открытых водоемов (36,36 %).

Проводится вакцинация и ревакцинация населения от туляремии согласно принятым планам. К декабрю 2022 г. в Омской области иммунизация выполнена на 90,10 %; Красноярском крае – вакцинация и ревакцинация на 100 %; Томской области – вакцинация на 78,7 %, ревакцинация на 84,6 %; Кемеровской области – вакцинация на 86,5 %, ревакцинация на 64,3 %; Республике Алтай – вакцинация и ревакцинация на 100 %.

Таким образом, эпизоотическая активность природных очагов туляремии во второй половине 2022 г. была наиболее интенсивной на территориях Омской, Кемеровской, Томской, Новосибирской, Иркутской областей, Алтайского, Красноярского краев. При благоприятных погодных условиях есть вероятность продолжения эпизоотического процесса на этих территориях в зимне-весенний период 2023 г. и возникновения спорадических случаев заболевания туляремией среди невакцинированного населения.

Дальневосточный федеральный округ (ДФО). В 2022 г. на территории ДФО больных туляремией не зарегистрировано, так же как и в 2021 г.

Уровень иммунопрофилактики туляремии явно недостаточный, объем профилактических прививок не превышает 100 человек на территориях всего округа, кроме Республики Саха (Якутия).

Средняя численность мелких млекопитающих на территории округа составила 8,7 % попаданий на 100 ловушко-суток (в 2021 г. – 8,7 %).

Полученные данные говорят о том, что эпизоотическая активность природных очагов туляремии во второй половине 2022 г. была наиболее интенсивной на территории Приморского края.

На основании анализа данных регулярных обзоров Федерального центра гигиены и эпидемиологии, Противочумного центра и Иркутского научно-исследовательского противочумного института, карт эпизоотолого-эпидемиологического обследования очагов зоонозных заболеваний, а также ряда форм статистического наблюдения Роспотребнадзора, эпидемические осложнения по туляремии в виде спорадических случаев заболевания среди невакцинированного населения наиболее вероятны в 2023 г. на территориях: ЦФО – во Владимирской, Рязанской и Смоленской областях; СЗФО – в Архангельской области и Республике Карелия; ЮФО – в Волгоградской и Ростовской областях; на территории СКФО продолжит оставаться сложная ситуация в Ставропольском крае; в ПФО – на территориях Саратовской области, а также в Кировской области и Республике Мордовия; УФО – в ХМАО, ЯНАО; СФО – на территориях отдельных районов Омской, Кемеровской, Томской, Новосибирской, Иркутской областей, Алтайского, Красноярского краев; в ДФО эпизоотическая активность природных очагов туляремии наиболее интенсивная на территории Приморского края.

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

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

Список литературы

- Challacombe J.F., Pillai S., Kuske C.R. Shared features of cryptic plasmids from environmental and pathogenic *Francisella* species. *PLoS One*. 2017; 12(8):e0183554. DOI: 10.1371/journal.pone.0183554.
- Martinez J.L. General principles of antibiotic resistance in bacteria. *Drug Discov. Today*. 2014; 11:33–9. DOI: 10.1016/j.ddtec.2014.02.001.
- Cox G., Wright G.D. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *Int. J. Med. Microbiol.* 2013; 303(6–7):287–92. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.02.009.
- Soto S.M. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. *Virulence*. 2013; 4(3):223–9. DOI: 10.4161/viru.23724.
- Bina X.R., Wang C., Miller M.A., Bina J.E. The Bla2 beta-lactamase from the live-vaccine strain of *Francisella tularensis* encodes a functional protein that is only active against penicillin-class beta-lactam antibiotics. *Arch. Microbiol.* 2006; 186(3):219–28. DOI: 10.1007/s00203-006-0140-6.
- Antunes N.T., Frase H., Toth M., Vakulenko S.B. The class A β -lactamase FTU-1 is native to *Francisella tularensis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012; 56(2):666–71. DOI: 10.1128/AAC.05305-11.
- Biswas S., Raoult D., Rolain J.M. A bioinformatic approach to understanding antibiotic resistance in intracellular bacteria through whole genome analysis. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2008; 32(3):207–20. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2008.03.017.
- Bodey G.P. Penicillins, monobactams, and carbapenems. *Tex. Heart Inst. J.* 1990; 17(4):315–29.
- Llewellyn A.C., Zhao J., Song F., Parvathareddy J., Xu Q., Napier B.A., Laroui H., Merlin D., Bina J.E., Cotter P.A., Miller M.A., Raetz C.R.H., Weiss D.S. NaxD is a deacetylase required for lipid A modification and *Francisella* pathogenesis. *Mol. Microbiol.* 2012; 86(3):611–27. DOI: 10.1111/mmi.12004.
- Li Y., Powell D.A., Shaffer S.A., Rasko D.A., Pelletier M.R., Leszyk J.D., Scott A.J., Masoudie A., Goodlett D.R., Wang X., Raetz C.R.H., Ernst R.K. LPS remodeling is an evolved survival strategy for bacteria. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012; 109(22):8716–21. DOI: 10.1073/pnas.1202908109.
- Stephens M.D., Hubble V.B., Ernst R.K., van Hoek M.L., Melander R.J., Cavanagh J., Melander C. Potentiation of *Francisella* resistance to conventional antibiotics through small molecule adjuvants. *Medchemcomm*. 2016; 7(1):128–31. DOI: 10.1039/C5MD00353A.
- Karlsson E., Golovlyov I., Lärkeryd A., Granberg M., Larsson E., Öhrman C., Niemcewicz M., Birdsall D., Wagner D.M., Forsman M., Johansson A. Clonality of erythromycin resistance in *Francisella tularensis*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016; 71(10):2815–23. DOI: 10.1093/jac/dkw235.
- Pérez-Castrillón J.L., Bachiller-Luque P., Martín-Luquero M., Mena-Martin F.J., Herreros V. Tularemia epidemic in northwestern Spain: clinical description and therapeutic response. *Clin. Infect. Dis.* 2001; 33(4):573–6. DOI: 10.1086/322601.
- Boisset S., Caspar Y., Sutura V., Maurin M. New therapeutic approaches for treatment of tularaemia: a review. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2014; 4:40. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00040.
- Caspar Y., Maurin M. *Francisella tularensis* susceptibility to antibiotics: a comprehensive review of the data obtained *in vitro* and in animal models. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7:122. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00122.
- Caspar Y., Siebert C., Sutura V., Villers C., Aubry A., Mayer C., Maurin M., Renesto P. Functional characterization of the DNA gyrase in fluoroquinolone-resistant mutants of *Francisella novicida*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 61(4):e02277-16. DOI: 10.1128/AAC.02277-16.
- Jiang C.J., McLoughlin K.S., Thissen J.B., Zemla A., Gardner S.N., Vergez L.M., Bourguet F., Mabery S., Fofanov V.Y., Koshinsky H., Jackson P.J. Identification of genome-wide mutations in ciprofloxacin-resistant *F. tularensis* LVS using whole genome tiling arrays and next generation sequencing. *PLoS One*. 2016; 11(9):e0163458. DOI: 10.1371/journal.pone.0163458.
- Sutura V., Hoarau G., Renesto P., Caspar Y., Maurin M. *In vitro* and *in vivo* evaluation of fluoroquinolone resistance associated with DNA gyrase mutations in *Francisella tularensis*, including in tularaemia patients with treatment failure. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2017; 50(3):377–83. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.03.022.
- Sutura V., Levert M., Burmeister W.P., Schneider D., Maurin M. Evolution toward high-level fluoroquinolone resistance in *Francisella* species. *J. Antimicrob. Chemother.* 2014; 69(1):101–10. DOI: 10.1093/jac/dkt321.
- Enderlin G., Morales L., Jacobs R.F., Cross J.T. Streptomycin and alternative agents for the treatment of tularemia: review of the literature. *Clin. Infect. Dis.* 1994; 19(1):42–7. DOI: 10.1093/clinids/19.1.42.
- Maurin M., Mersali N.F., Raoult D. Bactericidal activities of antibiotics against intracellular *Francisella tularensis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44(12):3428–31. DOI: 10.1128/AAC.44.12.3428-3431.2000.
- Gil H., Platz G.J., Forestal C.A., Monfett M., Bakshi C.S., Sellati T.J., Furie M.B., Benach J.L., Thanassi D.G. Deletion of TolC orthologs in *Francisella tularensis* identifies roles in multidrug resistance and virulence. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2006; 103(34):12897–902. DOI: 10.1073/pnas.0602582103.
- Loughman K., Hall J., Knowlton S., Sindeldecker D., Gilson T., Schmitt D.M., Birch J.W.-M., Gajtko T., Kobe B.N., Florjanczyk A., Ingram J., Bakshi C.S., Horzempa J. Temperature-dependent gentamicin resistance of *Francisella tularensis* is mediated by uptake modulation. *Front. Microbiol.* 2016; 7:37. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00037.
- Chen L.F., Kaye D. Current use for old antibacterial agents: polymyxins, rifamycins, and aminoglycosides. *Med. Clin. North Am.* 2011; 95(4):819–42, viii–ix. DOI: 10.1016/j.mcna.2011.03.007.
- Ahmad S., Hunter L., Qin A., Mann B.J., van Hoek M.L. Azithromycin effectiveness against intracellular infections of *Francisella*. *BMC Microbiol.* 2010; 10:123. DOI: 10.1186/1471-2180-10-123.
- Hightower J., Kracalik I.T., Vydayko N., Goodin D., Glass G., Blackburn J.K. Historical distribution and host-vector diversity of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia, in Ukraine. *Parasit. Vectors*. 2014; 7:453. DOI: 10.1186/s13071-014-0453-2.
- Прилуцкий А.С., Роговая Ю.Д., Зубко В.Г. Туляремия: этиология, эпидемиология, вакцинопрофилактика. *Университетская клиника*. 2017; 3(2):231–39.
- Рубис Л.В. Эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по туляремии на территории Республики Карелия. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 4:105–11. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-105-111.

References

- Challacombe J.F., Pillai S., Kuske C.R. Shared features of cryptic plasmids from environmental and pathogenic *Francisella* species. *PLoS One*. 2017; 12(8):e0183554. DOI: 10.1371/journal.pone.0183554.
- Martinez J.L. General principles of antibiotic resistance in bacteria. *Drug Discov. Today*. 2014; 11:33–9. DOI: 10.1016/j.ddtec.2014.02.001.
- Cox G., Wright G.D. Intrinsic antibiotic resistance: mechanisms, origins, challenges and solutions. *Int. J. Med. Microbiol.* 2013; 303(6–7):287–92. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.02.009.
- Soto S.M. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. *Virulence*. 2013; 4(3):223–9. DOI: 10.4161/viru.23724.
- Bina X.R., Wang C., Miller M.A., Bina J.E. The Bla2 beta-lactamase from the live-vaccine strain of *Francisella tularensis* encodes a functional protein that is only active against penicillin-class beta-lactam antibiotics. *Arch. Microbiol.* 2006; 186(3):219–28. DOI: 10.1007/s00203-006-0140-6.
- Antunes N.T., Frase H., Toth M., Vakulenko S.B. The class A β -lactamase FTU-1 is native to *Francisella tularensis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012; 56(2):666–71. DOI: 10.1128/AAC.05305-11.
- Biswas S., Raoult D., Rolain J.M. A bioinformatic approach to understanding antibiotic resistance in intracellular bacteria through whole genome analysis. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2008; 32(3):207–20. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2008.03.017.
- Bodey G.P. Penicillins, monobactams, and carbapenems. *Tex. Heart Inst. J.* 1990; 17(4):315–29.
- Llewellyn A.C., Zhao J., Song F., Parvathareddy J., Xu Q., Napier B.A., Laroui H., Merlin D., Bina J.E., Cotter P.A., Miller M.A., Raetz C.R.H., Weiss D.S. NaxD is a deacetylase required for lipid A modification and *Francisella* pathogenesis. *Mol. Microbiol.* 2012; 86(3):611–27. DOI: 10.1111/mmi.12004.
- Li Y., Powell D.A., Shaffer S.A., Rasko D.A., Pelletier M.R., Leszyk J.D., Scott A.J., Masoudie A., Goodlett D.R., Wang X., Raetz C.R.H., Ernst R.K. LPS remodeling is an evolved survival strategy for bacteria. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012; 109(22):8716–21. DOI: 10.1073/pnas.1202908109.
- Stephens M.D., Hubble V.B., Ernst R.K., van Hoek M.L., Melander R.J., Cavanagh J., Melander C. Potentiation of *Francisella* resistance to conventional antibiotics through small molecule

adjuvants. *Medchemcomm.* 2016; 7(1):128–31. DOI: 10.1039/C5MD00353A.

12. Karlsson E., Golovliov I., Lärkeryd A., Granberg M., Larsson E., Öhrman C., Niemcewicz M., Birdsell D., Wagner D.M., Forsman M., Johansson A. Clonality of erythromycin resistance in *Francisella tularensis*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016; 71(10):2815–23. DOI: 10.1093/jac/dkw235.

13. Pérez-Castrillón J.L., Bachiller-Luque P., Martín-Luquero M., Mena-Martin F.J., Herreros V. Tularemia epidemic in northwestern Spain: clinical description and therapeutic response. *Clin. Infect. Dis.* 2001; 33(4):573–6. DOI: 10.1086/322601.

14. Boisset S., Caspar Y., Sutura V., Maurin M. New therapeutic approaches for treatment of tularemia: a review. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2014; 4:40. DOI: 10.3389/fcimb.2014.00040.

15. Caspar Y., Maurin M. *Francisella tularensis* susceptibility to antibiotics: a comprehensive review of the data obtained *in vitro* and in animal models. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7:122. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00122.

16. Caspar Y., Siebert C., Sutura V., Villers C., Aubry A., Mayer C., Maurin M., Renesto P. Functional characterization of the DNA gyrases in fluoroquinolone-resistant mutants of *Francisella novicida*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 61(4):e02277-16. DOI: 10.1128/AAC.02277-16.

17. Jaing C.J., McLoughlin K.S., Thissen J.B., Zemla A., Gardner S.N., Vergez L.M., Bourguet F., Mabery S., Fofanov V.Y., Koshinsky H., Jackson P.J. Identification of genome-wide mutations in ciprofloxacin-resistant *F. tularensis* LVS using whole genome tiling arrays and next generation sequencing. *PLoS One.* 2016; 11(9):e0163458. DOI: 10.1371/journal.pone.0163458.

18. Sutura V., Hoarau G., Renesto P., Caspar Y., Maurin M. *In vitro* and *in vivo* evaluation of fluoroquinolone resistance associated with DNA gyrase mutations in *Francisella tularensis*, including in tularemia patients with treatment failure. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2017; 50(3):377–83. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2017.03.022.

19. Sutura V., Levert M., Burmeister W.P., Schneider D., Maurin M. Evolution toward high-level fluoroquinolone resistance in *Francisella* species. *J. Antimicrob. Chemother.* 2014; 69(1):101–10. DOI: 10.1093/jac/dkt321.

20. Enderlin G., Morales L., Jacobs R.F., Cross J.T. Streptomycin and alternative agents for the treatment of tularemia: review of the literature. *Clin. Infect. Dis.* 1994; 19(1):42–7. DOI: 10.1093/clinids/19.1.42.

21. Maurin M., Mersali N.F., Raoult D. Bactericidal activities of antibiotics against intracellular *Francisella tularensis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2000; 44(12):3428–31. DOI: 10.1128/AAC.44.12.3428-3431.2000.

22. Gil H., Platz G.J., Forestal C.A., Monfett M., Bakshi C.S., Sellati T.J., Furie M.B., Benach J.L., Thanassi D.G. Deletion of TolC orthologs in *Francisella tularensis* identifies roles in multidrug resistance and virulence. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103(34):12897–902. DOI: 10.1073/pnas.0602582103.

23. Loughman K., Hall J., Knowlton S., Sindeldecker D., Gilson T., Schmitt D.M., Birch J.W.-M., Gajtko T., Kobe B.N., Florjanczyk A., Ingram J., Bakshi C.S., Horzempa J. Temperature-dependent gentamicin resistance of *Francisella tularensis* is mediated by uptake modulation. *Front. Microbiol.* 2016; 7:37. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00037.

24. Chen L.F., Kaye D. Current use for old antibacterial agents: polymyxins, rifamycins, and aminoglycosides. *Med. Clin. North Am.* 2011; 95(4):819–42, viii–ix. DOI: 10.1016/j.mcna.2011.03.007.

25. Ahmad S., Hunter L., Qin A., Mann B.J., van Hoek M.L. Azithromycin effectiveness against intracellular infections of *Francisella*. *BMC Microbiol.* 2010; 10:123. DOI: 10.1186/1471-2180-10-123.

26. Hightower J., Kracalik I.T., Vydayko N., Goodin D., Glass G., Blackburn J.K. Historical distribution and host-vector diversity of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia, in Ukraine. *Parasit. Vectors.* 2014; 7:453. DOI: 10.1186/s13071-014-0453-2.

27. Prilutsky A.S., Rogovaya Yu.D., Zubko V.G. [Tularemia: etiology, epidemiology, vaccinal prevention]. *Universitetskaya Klinika [University Clinic]*. 2017; 13(2):231–39.

28. Rubis L.V. [Epizootiological and epidemiological situation on tularemia in the Republic of Karelia]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (4):105–11. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-105-111.

Authors:

Kudryavtseva T.Yu., Mokrievich A.N., Khramov M.V., Dyatlov I.A. State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: nfo@obolensk.org.

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

Kulikalova E.S., Kholin A.V., Mazepa A.V., Borzenko M.A. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Pichurina N.L., Pavlovich N.V., Noskov A.K. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

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

Об авторах:

Кудрявцева Т.Ю., Мокриевич А.Н., Храмов М.В., Дятлов И.А. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская обл., р.п. Оболенск, E-mail: nfo@obolensk.org.

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

Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа А.В., Борзенко М.А. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Пичурина Н.Л., Павлович Н.В., Носков А.К. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-48-55

УДК 916.921.5

В.Ю. Марченко, С.В. Святченко, Г.С. Онхонова, Н.И. Гончарова, А.Б. Рыжиков,
Р.А. Максютлов, Е.В. Гаврилова

Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России и мире в 2022 г.

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

В статье рассмотрена современная ситуация по вызванному высокопатогенным вирусом гриппа птиц в 2022 г. и сделан прогноз возможного дальнейшего распространения вирусов на территории России. В 2022 г. в мире отмечена циркуляция широкого разнообразия вариантов вируса, имеющих важное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение. Вспышки вызванного высокопатогенным вирусом гриппа птиц зарегистрированы более чем в 60 странах. Помимо этого, зафиксированы случаи инфицирования людей вирусами гриппа подтипов А(Н5Nх) и А(Н9N2). В России в 2022 г. зарегистрирована эпизоотия, которая затронула более 10 регионов европейской части и Дальнего Востока. Вспышки среди диких и домашних птиц были вызваны высокопатогенным вариантом вируса гриппа А(Н5N1) клад 2.3.4.4b, при этом среди циркулирующих на территории России вирусов выявлено генетическое и антигенное разнообразие. Таким образом, в очередной раз показана важная географическая роль территории России в глобальном распространении вируса гриппа птиц, что подчеркивает важность постоянного его мониторинга на территории нашей страны.

Ключевые слова: вирус гриппа птиц, мониторинг, эпизоотия, вспышки, H5N1, Россия.

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

Для цитирования: Марченко В.Ю., Святченко С.В., Онхонова Г.С., Гончарова Н.И., Рыжиков А.Б., Максютлов Р.А., Гаврилова Е.В. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России и мире в 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:48–55. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-48-55
Поступила 28.02.2023. Принята к публ. 14.03.2023.

V.Yu. Marchenko, S.V. Svyatchenko, G.S. Onkhonova, N.I. Goncharova, A.B. Ryzhikov,
R.A. Maksyutov, E.V. Gavrilova

Review on the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza around the World and in Russia in 2022

State Research Center of Virology and Biotechnology “Vector”, Kol'tsovo, Russian Federation

Abstract. This paper describes the current situation on highly pathogenic avian influenza virus in 2022 and provides forecast of the possible further spread of avian influenza in Russia. In 2022, the circulation of a wide variety of highly pathogenic avian influenza virus subtypes, which have epizootiological and epidemiological significance, was recorded in the world. Outbreaks caused by highly pathogenic avian influenza virus were reported in over 60 countries. In addition, human infections with influenza viruses of the A(H5Nх) and A(H9N2) subtypes were registered. There was a large-scale epizootic which affected more than 10 regions of the European part of Russia and the Russian Far East in 2022. Outbreaks among wild birds and poultry were caused by the highly pathogenic influenza virus A(H5N1) of the clade 2.3.4.4b, at the same time genetic and antigenic diversity was observed among viruses circulating in Russia. Thus, an essential geographical role of the territory of Russia in the global spread of avian influenza virus has been shown once again, which highlights the importance of continuous avian influenza virus surveillance in the country.

Key words: avian influenza virus, surveillance, epizooty, outbreaks, H5N1, Russia.

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

Funding: The study was conducted within the framework of the state task for the State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector” of the Rospotrebnadzor “Monitoring of the avian and animal influenza virus”.

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

Citation: Marchenko V.Yu., Svyatchenko S.V., Onkhonova G.S., Goncharova N.I., Ryzhikov A.B., Maksyutov R.A., Gavrilova E.V. Review on the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza around the World and in Russia in 2022. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 1:48–55. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-48-55
Received 28.02.2023. Accepted 14.03.2023.

Marchenko V.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1339-6732>
Svyatchenko S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4573-5783>
Onkhonova G.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1547-1708>

Ryzhikov A.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7009-0748>
Maksyutov R.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1314-281X>
Gavrilova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7118-5749>

Вирусы гриппа занимают особое место в эпидемиологии и эпизоотологии. Это достаточно известная и широко описанная группа инфекционных агентов, способных вызывать заболевание человека и множества видов животных. Вирусы гриппа относятся к семейству *Orthomyxoviridae*, которое включа-

ет четыре рода вирусов гриппа: *Alphainfluenzavirus*, *Betainfluenzavirus*, *Gammainfluenzavirus* и *Deltainfluenzavirus*, – каждый из которых представлен одним видом: *Alphainfluenzavirus influenzae* (вирус гриппа А), *Betainfluenzavirus influenzae* (вирус гриппа В), *Gammainfluenzavirus influenzae* (вирус гриппа С) и

Deltainfluenzavirus influenzae (вирус гриппа D) соответственно [1]. Вирусы гриппа А (ВГА) способны инфицировать значительное количество различных видов птиц и млекопитающих [2]. Вирусы гриппа В и С – это патогены человека, которые редко заражают другие виды, хотя сообщалось о заражении свиней и тюленей [3]. Вирус гриппа D способен вызывать респираторные заболевания у свиней и крупного рогатого скота [4, 5]. Благодаря глобальной распространенности и способности инфицировать наиболее широкий круг восприимчивых хозяев вирусы гриппа А являются особо важными членами своей таксономической группы и представляют серьезную угрозу сельскому хозяйству и общественному здравоохранению. Вирусы гриппа А подразделяются на подтипы на основании антигенных различий в поверхностных гликопротеинах. На сегодняшний день известно 18 подтипов гемагглютинина и 11 подтипов нейраминидазы ВГА, при этом большинство известных комбинаций сохраняется в популяциях диких птиц, за исключением вирусов гриппа подтипов А(Н17N10) и А(Н18N11), выделенных от летучих мышей, которые до настоящего времени от других видов хозяев не выделялись [6, 7]. Основную роль в циркуляции вируса гриппа в природе играют птицы отрядов гусеобразных (*Anseriformes*) и ржанкообразных (*Charadriiformes*) [8–10]. Большинство видов птиц, принадлежащих к этим отрядам, являются дальними мигрантами, способными преодолевать значительные расстояния, и, если учесть, что длительная адаптация вируса гриппа А к естественным хозяевам привела к возможности бессимптомного носительства, это создает предпосылки для глобального распространения данного инфекционного агента [11]. При этом благодаря своим генетическим особенностям вирус гриппа постоянно изменяется, приобретая уникальные мутации, которые способствуют не только его распространению, но и образованию генетических линий, клад и субклад, а также формированию различных вариантов вируса гриппа А [12]. Тем не менее среди широкого разнообразия вариантов данного инфекционного агента лишь определенные субтипы ВГА показали способность преодолевать межвидовой барьер и вызывать заболевание человека. Это обусловлено тем, что в процессе эволюции вируса гриппа возникают его новые, высокопатогенные для человека и животных варианты. Циркуляция таких вариантов вируса в популяциях восприимчивых хозяев может вызывать заболевание, часто с летальным исходом. Подтверждением этому служат масштабные эпизоотии среди сельскохозяйственных животных, наносящие колоссальный экономический ущерб, а также документированные случаи инфицирования человека и домашних животных высокопатогенными вирусами гриппа подтипов гемагглютинина H5 и H7, а также вирусами подтипа H9. На сегодняшний день зарегистрировано 868 случаев инфицирования человека вирусом гриппа А(Н5N1), 456 из которых

имели летальный исход [13]; 83 случая – вирусом гриппа А(Н5N6) (33 летальных); 1568 случаев – вирусом гриппа А(Н7N9) (615 летальных); 115 случаев – вирусом гриппа А(Н9N2), 2 из которых имели летальный исход [14].

Учитывая вышесказанное, становится очевидным, что к борьбе с данным инфекционным агентом необходим комплексный подход. В частности, важным является сбор и анализ информации о циркулирующих в настоящее время и зарегистрированных ранее вариантах вируса гриппа. Полученные данные позволяют спрогнозировать эпидемиологическую и эпизоотологическую ситуацию, оценив возможные пути распространения высокопатогенных вариантов вируса гриппа.

В данной работе представлен анализ циркуляции наиболее важных в эпидемиологическом значении вариантов вируса гриппа птиц в России и мире за 2022 г.

Ситуация по вызванному высокопатогенным вирусом гриппу птиц в мире. В 2022 г. в мире отмечалась неблагоприятная эпидемиологическая ситуация по гриппу птиц. Зарегистрирован рост числа случаев заражения людей различными вариантами зоонозного вируса гриппа, а также отмечено расширение географии распространения этого вируса в сравнении с предыдущими годами [15]. Так, в 2022 г. зарегистрировано несколько случаев инфицирования людей различными вариантами вируса гриппа птиц. Зафиксировано 5 новых случаев заражения людей вирусами гриппа А(Н5N1) клады 2.3.4.4b. В январе 2022 г. поступило сообщение о впервые зарегистрированном случае, вызванном вирусом гриппа А(Н5N1), в Великобритании. Заражение человека произошло после тесного контакта с домашней птицей [16]. Затем в апреле 2022 г. впервые зарегистрирован случай выявления вируса гриппа А(Н5N1) у человека на территории США. У инфицированного человека наблюдалось легкое течение заболевания, а заражение произошло во время уничтожения птиц на птицефабрике, где была зафиксирована вспышка, вызванная вирусом гриппа А(Н5N1) [17]. Два случая выявления вируса гриппа А(Н5N1) у людей впервые зарегистрированы на территории Испании в сентябре и октябре 2022 г. Вирусы гриппа выявлены в биоматериале от сотрудников птицефабрики, на которой была зафиксирована гибель птиц, при этом никаких клинических признаков заболевания у людей не наблюдалось [18]. Также в октябре 2022 г. подтверждено еще два случая инфицирования людей вирусами гриппа А(Н5N1). Один случай, который имел летальный исход, зарегистрирован на территории Китая, второй – выявлен на территории Вьетнама, и здесь стоит отметить, что это первый зарегистрированный после 2014 г. случай инфицирования человека вирусом гриппа птиц в этой стране. Таким образом, в 2022 г. география случаев заражения людей вирусами гриппа А(Н5N1) была существенно расширена и на сегодняшний день насчитывает 21 страну [19].

Помимо случаев инфицирования людей вирусами гриппа A(H5N1), в 2022 г. зарегистрировано 16 случаев заражения людей вирусами гриппа A(H5N6), один из которых имел летальный исход. Все случаи зафиксированы на территории Китая и произошли после тесного контакта с домашней птицей. Также за прошлый год выявлено 10 новых случаев инфицирования людей вирусами гриппа A(H9N2), 9 из которых зарегистрированы на территории Китая, один – в Камбодже [19].

В эпизоотологическом плане ситуация также была напряженной. За прошедший год более чем в 60 странах Азии, Европы, Африки, Северной и Южной Америки зарегистрировано множество вспышек заболевания среди дикой и домашней птицы, вызванных различными вариантами высокопатогенного гриппа подтипа A(H5Nx) линии A/goose/Guangdong/1/96 [20, 21]. Только в Европе за 2022 г. зарегистрировано более 2500 вспышек среди сельскохозяйственной птицы на территориях 37 стран, в результате чего погибло или было уничтожено более 50 млн голов птиц. Также зарегистрировано более 3500 случаев выделения высокопатогенного вируса гриппа от диких птиц [19].

За прошедший год в мире отмечена циркуляция только двух клад вируса гриппа A(H5Nx) – 2.3.2.1 и 2.3.4.4, однако было представлено довольно широкое разнообразие подтипов вируса гриппа, которые вызывали вспышки. Так, вирусы гриппа A(H5N1) клады 2.3.2.1a зарегистрированы во время вспышек среди дикой и сельскохозяйственной птицы на территории Индии, Непала и Бангладеш, а представители того же подтипа клады 2.3.2.1c циркулировали в Камбодже и Вьетнаме. Представители клады 2.3.2.1e вызвали вспышки в Восточном Тиморе и Индонезии. Следует отметить, что в предыдущие годы вирусы гриппа A(H5N1) вышеуказанных клад так же регистрировались среди дикой и сельскохозяйственной птицы на территории этих стран [20, 21].

Наиболее широкое распространение в 2022 г. показали вирусы гриппа клады 2.3.4.4. При этом основное количество вспышек среди дикой и домашней птицы было вызвано вирусами гриппа подтипа A(H5N1) клады 2.3.4.4b и зарегистрировано во многих странах Европы, Азии, Африки, Северной и Южной Америки. Данный вариант вируса гриппа начал распространяться с осени 2021 г. и впоследствии практически вытеснил широко циркулировавший до этого вирус гриппа подтипа A(H5N8) клады 2.3.4.4b [22, 23]. В 2022 г. вспышки среди птиц, вызванные вирусом гриппа A(H5N8), зарегистрированы только в Албании, Израиле, Сербии, Египте, Ираке, а также в Китае, Вьетнаме, Камбодже и на Филиппинах, по сравнению с 2020 г., когда вирус гриппа A(H5N8) был зарегистрирован более чем в 30 странах Азии, Европы и Африки [22]. Новый вариант вируса гриппа A(H5N1) показал более широкую географию распространения. Начиная с декабря 2021 г. вспышки среди сельскохозяйственной птицы начали регистри-

роваться в США и Канаде, а затем и в других странах Северной и Южной Америки [15, 19].

Вспышки вируса гриппа A(H5N1) клады 2.3.4.4b регистрировались в течение всего года и нанесли серьезный экономический ущерб. Погибли или уничтожены в результате принятых противоэпизоотических мер миллионы голов сельскохозяйственной птицы: кур, уток, индюков, – при этом данный вариант вируса показал способность инфицировать большое количество видов млекопитающих. В 2022 г. зафиксировано увеличение числа случаев выявления вируса гриппа A(H5N1) среди млекопитающих на территории стран Европы и Северной Америки. Так, например, на территории Нидерландов, Бельгии, Норвегии, Словении, Финляндии и Ирландии зарегистрированы случаи заболевания и гибели обыкновенных лисиц (*Vulpes vulpes*), обыкновенных выдр (*Lutra lutra*), лесных и домашних хорьков (*Mustela putorius*, *Mustela furo*), а также обыкновенной рыси (*Lynx lynx*). При этом у некоторых вирусов гриппа A(H5N1), вызвавших гибель животных, выявлено наличие генетических маркеров адаптации к млекопитающим, описанных ранее [24–27]. На территории США и Канады зарегистрированы случаи инфицирования барибалов (*Ursus americanus*) и бурых медведей (*Ursus arctos*). Также впервые выявлены случаи инфицирования вирусами гриппа A(H5N1) клады 2.3.4.4b некоторых видов водных млекопитающих. На территории Швеции вирус выделен от морской свиньи (*Phocoena phocoena*), на территории США зарегистрирован случай инфицирования афалины (*Tursiops truncatus*), а на территории Канады выявлен случай инфицирования атлантического белобочкого дельфина (*Lagenorhynchus acutus*) [19]. Стоит отдельно отметить вспышку, вызванную вирусом гриппа A(H5N1) клады 2.3.4.4b, которая была зарегистрирована на ферме по разведению американских норков (*Neovison vison*) на северо-западе Испании в октябре 2022 г. Данный случай показал, что новый вариант вируса способен эффективно передаваться от животного к животному, а анализ геномов выделенных вирусов показал наличие генетических маркеров адаптации и более эффективной репликации в организме млекопитающих. В результате данной вспышки уничтожено поголовье более чем в 50 тыс. животных [28].

Ситуация по вызванному высокопатогенным вирусом гриппу птиц в России. В настоящее время в России действует комплексная система мониторинга за высокопатогенным вирусом гриппа птиц. Данная система мониторинга регламентируется приказом Руководителя Роспотребнадзора от 30.09.2013 № 714 «Об организации мониторинга за циркуляцией вирусов гриппа птиц», а также приказом от 04.08.2016 № 842 «Об организации опорных баз по мониторингу за вирусом гриппа с пандемическим потенциалом». На сегодняшний день в данной программе мониторинга участвуют 48 региональных учреждений Роспотребнадзора – центры гигиены

и эпидемиологии (ЦГиЭ), деятельность которых регулируют три опорные базы, которыми являются управления Роспотребнадзора по Хабаровскому краю, Новосибирской области и Краснодарскому краю. Региональные учреждения Роспотребнадзора организуют взаимодействие с местными лечебными учреждениями и ветеринарной службой, которые обеспечивают сбор образцов первичного материала от людей и животных и направляют его для дифференциальной диагностики в региональные ЦГиЭ. Все пробы, в которых обнаруживается РНК вируса гриппа А, направляются в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора для изоляции вируса гриппа, углубленного изучения и оценки его пандемического потенциала. В 2022 г. в рамках данной программы мониторинга за вирусом гриппа птиц совместно с региональными учреждениями Роспотребнадзора собрано и обследовано 12819 образцов биоматериала, из них 2598 образцов от диких птиц, 191 образец от свиней, 3317 образцов от домашних птиц и 6713 образцов от людей, по роду своей деятельности контактирующих с дикой или домашней птицей, включая 4042 пробы сывороток крови.

В 2022 г. в России наблюдалась неблагоприятная ситуация по вызванному высокопатогенным вирусом гриппу птиц. Так же как в странах Европы, Азии и Америки, на территории России зарегистрировано несколько вспышек среди птиц, которые были вызваны высокопатогенным вирусом гриппа А(Н5N1). Случаи заболевания и гибели сельскохозяйственных и диких птиц регистрировались в течение всего года и зафиксированы на территориях регионов европейской части России и Дальнего Востока. Так, в ходе мониторинга в феврале 2022 г. зарегистрирована вспышка на птицефабрике Ставропольского края. В марте на территории ФГБУ «Астраханский государственный заповедник» в Астраханской области выявлена гибель кудрявых пеликанов (*Pelecanus crispus*). В апреле 2022 г. вирусы гриппа А(Н5N1) выделены от павших ворон (*Corvus cornix*) на территории Хабаровского края. В июне вспышки гриппа зарегистрированы в личном подсобном хозяйстве в Рязанской области, а также среди черноголовых чаек (*Ichthyophaga melanocephalus*) на острове Малый Жемчужный в Астраханской области. В июле 2022 г. зарегистрированы повторные вспышки в личных подсобных хозяйствах Рязанской области, а также на территориях Курской, Орловской и Магаданской областей. В сентябре 2022 г. падеж сельскохозяйственной птицы зарегистрирован на птицефабриках и личных подсобных хозяйствах в Саратовской, Челябинской и Ростовской областях.

Также стоит отметить, что в биоматериале, полученном в сентябре 2022 г. из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия», подтверждено наличие РНК вируса гриппа А(Н9N2) в пробе от дикой птицы, а также РНК вируса гриппа А(Н1N1) в биоматериале от свиньи. К сожалению,

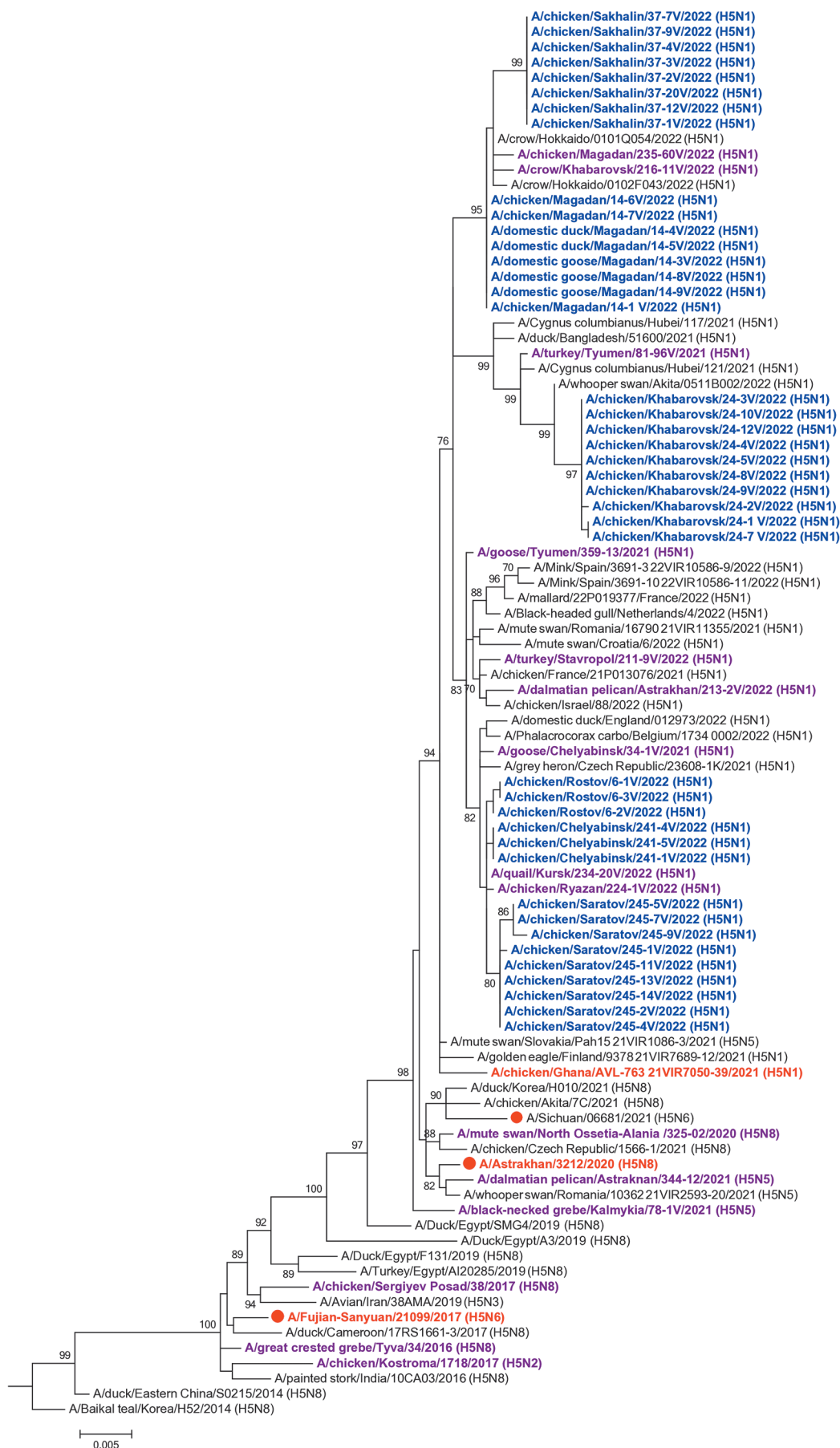
выделить и исследовать вирус из проб не удалось и информация о его молекулярно-генетических и вирусологических характеристиках недоступна. Тем не менее факт регистрации данных вирусов на территории России имеет важное эпидемиологическое и эпизоотологическое значение и говорит о необходимости проведения дополнительных мониторинговых исследований на указанной территории.

В IV квартале 2022 г. на территории Российской Федерации продолжились регистрироваться вспышки, вызванные вирусами гриппа птиц. В октябре гибель птиц зарегистрирована в личных подсобных хозяйствах на территории Магаданской и Саратовской областей, а также на птицефабрике в Хабаровском крае. В результате исследований в пробах выявлено и подтверждено наличие РНК вируса гриппа А(Н5N1). В ноябре 2022 г. зарегистрирован падеж среди кур на птицефабрике в Сахалинской области, а также зафиксирована повторная вспышка на территории Саратовской области.

По результатам исследований все описанные выше вспышки были вызваны высокопатогенным вирусом гриппа А(Н5N1) клады 2.3.4.4b, что подтверждается проведенным филогенетическим анализом, который указывает на высокую степень идентичности выделенных штаммов с кандидатными вакцинными штаммами A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8) и A/chicken/Ghana/AVL-763_21 VIR7050-39/2021 (H5N1) клады 2.3.4.4b, рекомендованными Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) (рисунок). При этом среди циркулирующих штаммов наблюдаются незначительные генетические отличия. Так, вирусы, выделенные на Дальнем Востоке России, находятся в одной группе со штаммами, циркулирующими в Азии, тогда как вирусы, выделенные в европейской части России, – в одной группе со штаммами, циркулирующими в Европе.

По данным сервиса GISAID FluSurver (<http://flusurver.bii.a-star.edu.sg>), исследованные штаммы имеют незначительное количество аминокислотных замен по сравнению с вышеуказанными кандидатными вакцинными штаммами и между собой. При этом выявленные мутации в исследованных штаммах могут отвечать за изменение антигенных свойств.

При исследовании антигенных свойств выделенных штаммов в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с использованием референс-антигенов и сывороток, полученных на кандидатные вакцинные штаммы, рекомендованные ВОЗ, а также на штаммы, циркулирующие в России, и эритроцитов индюка было показано, что выявленные вирусы гриппа А(Н5N1) имеют антигенные отличия от кандидатного вакцинного штамма A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8), а также между собой. Так, сыворотка, полученная на штамм A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8), хорошо распознает только вирусы, выделенные на территории Магаданской области. Сыворотка, полученная на штамм A/dalmatian pelican/Astrakhan/213-2V/2022 (H5N1), не проявляет высокую степень антигенного



Филогенетическое дерево гена HA штаммов вируса гриппа A/H5Nx клады 2.3.4.4b. Штаммы, выделенные в России в 2022 г., отмечены синим цветом. Штаммы, выделенные в России ранее, – фиолетовым. Кандидатные вакцинные штаммы, использованные для определения генетических групп/подгрупп, выделены красным. Филогенетическое дерево построено с помощью программного обеспечения MEGA X (www.megasoftware.net) с использованием метода neighbor-joining (1000 повторов) с Kimura 2-parameter model

Phylogenetic tree depicting the HA gene of A/H5Nx influenza virus strains, clade 2.3.4.4b. Newly characterized viruses isolated in Russia in 2022 are indicated by blue color. Viruses previously isolated in Russia – by purple color. Candidate vaccine strains used for the identification of genetic groups/subgroups are marked by red. The tree was constructed using MEGA X software (www.megasoftware.net) applying neighbor-joining method (1000 replicates) with Kimura 2-parameter model

родства с циркулирующими в России вирусами клады 2.3.4.4b (таблица).

При этом сыворотка, полученная на штамм A/chicken/Khabarovsk/24-1V/2022, хорошо распознавала вирусы, циркулировавшие как в европейской части России, так и на Дальнем Востоке. Таким образом было показано, что в 2022 г. в России циркулировали две группы европейских и азиатских вариантов вируса гриппа A(H5N1) клады 2.3.4.4b.

Нужно отметить, что по результатам исследований рецепторной специфичности циркулирующих вирусов с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса и расчета равновесных констант диссоциации с клеточными рецепторами так называемо-

го «птичьего» типа (3'-Sialyl-N-acetylactosamine) и «человеческого» типа (6'-Sialyl-N-acetylactosamine) было показано, что все циркулировавшие в 2022 г. вирусы гриппа A(H5N1) имеют доминирующую специфичность к рецепторам типа $\alpha 2-3$, что не относит данные штаммы к потенциально опасным штаммам вируса гриппа в отношении человека и указывает на низкую степень риска распространения данных вирусов среди людей. В результате исследования биоматериала от людей, собранного в 2022 г., РНК вирусов гриппа птиц, в том числе H5, H7, H9-субтипа, не выявлено.

Прогноз развития ситуации по гриппу птиц в России. При анализе полученных данных становится

Результаты РТГА с вирусами гриппа A/H5Nx клады 2.3.4.4 с использованием эритроцитов индюка

Results of hemagglutination inhibition reaction with A/H5Nx viruses, clade 2.3.4.4, using turkey RBC

Вирусы Viruses	Подтип Subtype	Клада Clade	Референс-сыворотка хорька Reference ferret serum				
			A/gyrfalcon/ Washington/ 41088-6/2014	A/Astrakhan/ 3212/2020	A/chicken/ Vietnam/ NCVD- 15A59/2015	A/dalmatian pelican/ Astrakhan/ 213-2V/2022	A/chicken/ Khabarovsk/ 24-1V/2022
			2.3.4.4c	2.3.4.4b	2.3.4.4f	2.3.4.4b	2.3.4.4b
Референс-антиген / Reference antigens							
A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014	H5N8	2.3.4.4c	80	80	80	80	40
A/Astrakhan/3212/2020	H5N8	2.3.4.4b	40	40	40	40	80
A/chicken/Vietnam/NCVD-15A59/2015	H5N6	2.3.4.4f	80	80	160	80	160
A/dalmatian pelican/Astrakhan/213-2V/2022	H5N1	2.3.4.4b	160	160	160	160	320
A/chicken/Khabarovsk/24-1V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	10	<10	20	160
Исследуемый антиген / Test antigens							
A/chicken/Chelyabinsk/241-1V/2022	H5N1	2.3.4.4b	10	<10	<10	40	80
A/chicken/Chelyabinsk/241-4V/2022	H5N1	2.3.4.4b	10	<10	10	40	80
A/chicken/Chelyabinsk/241-5V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	<10	<10	40	80
A/chicken/Saratov/245-1V/2022	H5N1	2.3.4.4b	10	<10	<10	40	80
A/chicken/Saratov/245-2V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	<10	<10	40	80
A/chicken/Saratov/245-5V/2022	H5N1	2.3.4.4b	10	10	10	40	80
A/chicken/Rostov-on-Don/6-1V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	<10	<10	20	40
A/chicken/Rostov-on-Don/6-2V/2022	H5N1	2.3.4.4b	10	10	10	20	40
A/chicken/Rostov-on-Don/6-3V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	<10	<10	20	80
A/chicken/Magadan/14-1V/2022	H5N1	2.3.4.4b	20	40	20	20	80
A/domestic goose/Magadan/14-3V/2022	H5N1	2.3.4.4b	20	20	10	20	40
A/domestic duck/Magadan/14-4V/2022	H5N1	2.3.4.4b	40	40	20	20	80
A/chicken/Magadan/14-7V/2022	H5N1	2.3.4.4b	20	40	20	20	80
A/chicken/Khabarovsk/24-1V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	<10	<10	20	80
A/chicken/Khabarovsk/24-2V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	<10	<10	20	160
A/chicken/Khabarovsk/24-5V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	<10	<10	10	80
A/chicken/Khabarovsk/24-7V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	<10	<10	20	160
A/chicken/Khabarovsk/24-8V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	<10	<10	10	80
A/chicken/Sakhalin/37-1V/2022	H5N1	2.3.4.4b	20	20	<10	20	80
A/chicken/Sakhalin/37-2V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	10	<10	10	40
A/chicken/Sakhalin/37-3V/2022	H5N1	2.3.4.4b	10	20	<10	20	80
A/chicken/Sakhalin/37-9V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	20	<10	20	40
A/chicken/Sakhalin/37-20V/2022	H5N1	2.3.4.4b	10	10	<10	10	40

очевидным, что в 2022 г. ситуация по вызванному высокопатогенным вирусом гриппу птиц в России была напряженной. Вспышки среди дикой и сельскохозяйственной птицы, вызванные вирусами гриппа A(H5N1) клады 2.3.4.4b, зарегистрированные в 2022 г. в нескольких регионах Российской Федерации, свидетельствуют о возможном сохранении некоторых вариантов вируса на территории России, а также заносе на территорию нашей страны новых вариантов. Если говорить о возможных прогнозах распространения высокопатогенных вирусов гриппа птиц, то в настоящее время имеются данные о продолжающихся вспышках гриппа в странах Европы, Африки и Юго-Восточной Азии в местах зимовки диких перелетных птиц. Учитывая высокую возможность вирусов A(H5Nx) распространяться с дикими перелетными птицами, можно предположить повторный занос вируса вдоль Черноморско-Средиземноморского пролетного пути, охватывающего густонаселенные промышленные регионы европейской части России, на которых сосредоточены крупные птицеводческие предприятия. Традиционным началом миграции птиц в эти районы является март, затем птицы перемещаются к местам гнездования в полярных широтах России [29, 30]. Поэтому в весенний период 2023 г. можно ожидать повторного заноса вирусов A(H5N1) дикими птицами в регионы Южного федерального округа. Из Юго-Восточной Азии, где наблюдается циркуляция различных вариантов вирусов гриппа клады 2.3.2.1 и 2.3.4.4, по восточно- или центральноазиатскому пролетному пути вирусы гриппа A(H5Nx) могут проникнуть на территорию Сибири и Дальнего Востока.

Можно предположить, что дальнейшее развитие ситуации по высокопатогенному вирусу гриппа во многом будет зависеть от комплекса своевременных принятых соответствующими службами противоэпизоотических и противоэпидемических мер, которые должны быть направлены на недопущение дальнейшего распространения вируса и снижение риска инфицирования людей. Так, необходимо постоянно вести информационный мониторинг ситуации по гриппу в соседствующих с Россией странах и усиливать мониторинговые исследования в пограничных регионах для раннего обнаружения циркулирующих вариантов вируса гриппа птиц. В случае выявления вируса гриппа или вспышек заболевания среди дикой или домашней птицы, вызванных его высокопатогенными вариантами, необходимо укреплять межведомственное взаимодействие, а также принимать незамедлительные ответные противоэпизоотические и противоэпидемические меры, которые, возможно, позволят предотвратить распространение высокопатогенного гриппа птиц в России.

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

Финансирование. Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания

ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора «Мониторинг вируса гриппа птиц и животных».

References / Список литературы

1. The International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Virus Taxonomy: 2021 Release. (Cited 28 Feb 2023). [Internet]. Available from: <https://ictv.global/taxonomy>.
2. Sreenivasan C.C., Thomas M., Kaushik R.S., Wang D., Li F. Influenza A in bovine species: a narrative literature review. *Viruses*. 2019; 11(6):561. DOI: 10.3390/v11060561.
3. Osterhaus A.D., Rimmelzwaan G.F., Martina B.E., Bestebroer T.M., Fouchier R.A. Influenza B virus in seals. *Science*. 2000; 288(5468):1051–3. DOI: 10.1126/science.288.5468.1051.
4. Hause B.M., Collin E.A., Liu R., Huang B., Sheng Z., Lu W., Wang D., Nelson E.A., Li F. Characterization of a novel influenza virus in cattle and swine: proposal for a new genus in the *Orthomyxoviridae* family. *mBio*. 2014; 5(2):e00031-14. DOI: 10.1128/mBio.00031-14.
5. Collin E.A., Sheng Z., Lang Y., Ma W., Hause B.M., Li F. Cocirculation of two distinct genetic and antigenic lineages of proposed influenza D virus in cattle. *J. Virol.* 2015; 89(2):1036–42. DOI: 10.1128/JVI.02718-14.
6. Tong S., Li Y., Rivailler P., Conrardy C., Castillo D.A., Chen L.M., Recuenco S., Ellison J.A., Davis C.T., York I.A., Turmelle A.S., Moran D., Rogers S., Shi M., Tao Y., Weil M.R., Tang K., Rowe L.A., Sammons S., Xu X., Frace M., Lindblade K.A., Cox N.J., Anderson L.J., Rupprecht C.E., Donis R.O. A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012; 109(11):4269–74. DOI: 10.1073/pnas.1116200109.
7. Tong S., Zhu X., Li Y., Shi M., Zhang J., Bourgeois M., Yang H., Chen X., Recuenco S., Gomez J., Chen L.M., Johnson A., Tao Y., Dreyfus C., Yu W., McBride R., Carney P.J., Gilbert A.T., Chang J., Guo Z., Davis C.T., Paulson J.C., Stevens J., Rupprecht C.E., Holmes E.C., Wilson I.A., Donis R.O. New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathog.* 2013; 9(10):e1003657. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003657.
8. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.* 1992; 56(1):152–79. DOI: 10.1128/mr.56.1.152-179.1992.
9. Olsen B., Munster V.J., Wallensten A., Waldenström J., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science*. 2006; 312(5772):384–8. DOI: 10.1126/science.1122438.
10. Alexander D.J. A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiol.* 2000; 74(1-2):3–13. DOI: 10.1016/S0378-1135(00)00160-7.
11. Yoon S.W., Webby R.J., Webster R.G. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2014; 385:359–75. DOI: 10.1007/82_2014_396.
12. WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group. Toward a unified nomenclature system for highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(7):e1. DOI: 10.3201/eid1407.071681.
13. World Health Organization. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003–2023, 5 January 2023. (Cited 28 Feb 2023). [Internet]. Available from: [https://www.who.int/publications/m/item/cumulative-number-of-confirmed-human-cases-for-avian-influenza-a\(h5n1\)-reported-to-who-2003-2022-5-jan-2023](https://www.who.int/publications/m/item/cumulative-number-of-confirmed-human-cases-for-avian-influenza-a(h5n1)-reported-to-who-2003-2022-5-jan-2023).
14. World Health Organization. Avian Influenza Weekly Update Number 883. (Cited 28 Feb 2023). [Internet]. Available from: https://www.who.int/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avian-influenza/ai_20230217.pdf?sfvrsn=22ea0816_24#:~:text=To%20date%2C%20a%20total%20of,Western%20Pacific%20Region%20since%202014.
15. European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control; European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Marangon S., Niqueux E., Staubach C., Terregino C., Guajardo I.M., Chuzhakina K., Baldinelli F. Avian influenza overview June – September 2022. *EFSA J.* 2022; 20(10):e07597. DOI: 10.2903/j.efsa.2022.7597.
16. Oliver I., Roberts J., Brown C.S., Byrne A.M., Mellon D., Hansen R., Banyard A.C., James J., Donati M., Porter R., Ellis J., Cogdale J., Lackenby A., Chand M., Dabrera G., Brown I.H., Zambon M. A case of avian influenza A(H5N1) in England, January 2022. *Euro Surveill.* 2022; 27(5):2200061. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.5.2200061.
17. Centers for Disease Control and Prevention. U.S. Case of Human Avian Influenza A(H5) Virus Reported. (Cited 28 Feb 2023). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/media/releases/2022/s0428-avian-flu.html>.
18. World Health Organization. Avian Influenza A (H5N1) – Spain. [Internet]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON420> (Cited 28 Feb 2023).

19. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Marangon S., Niqueux E., Staubach C., Terregino C., Aznar I., Guajardo I.M., Baldinelli F. Avian influenza overview September – December 2022. *EFSA J.* 2023; 21(1):e07786. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7786.
20. World Health Organization (WHO). Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza A viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness. September 2022. (Cited 28 Feb 2023). [Internet]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/who-influenza-recommendations/vcm-southern-hemisphere-recommendation-2023/202209_zoonotic_vaccinupdate.pdf?sfvrsn=a91f123b_7.
21. World Health Organization (WHO). Genetic and antigenic characteristics of zoonotic influenza A viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness. February 2023. (Cited 28 Feb 2023). [Internet]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/who-influenza-recommendations/vcm-northern-hemisphere-recommendation-2023-2024/20230224_zoonotic_recommendations.pdf?sfvrsn=38c739fa_4.
22. European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control; European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Marangon S., Niqueux E., Staubach C., Terregino C., Aznar I., Muñoz Guajardo I., Baldinelli F. Avian influenza overview December 2021 – March 2022. *EFSA J.* 2022; 20(4):e07289. DOI: 10.2903/j.efsa.2022.7289.
23. European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control; European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Marangon S., Niqueux E., Staubach C., Terregino C., Aznar I., Guajardo I.M., Baldinelli F. Avian influenza overview March – June 2022. *EFSA J.* 2022; 20(8):e07415. DOI: 10.2903/j.efsa.2022.7415.
24. Manzoor R., Sakoda Y., Nomura N., Tsuda Y., Ozaki H., Okamatsu M., Kida H. PB2 protein of a highly pathogenic avian influenza virus strain A/chicken/Yamaguchi/7/2004 (H5N1) determines its replication potential in pigs. *J. Virol.* 2009; 83(4):1572–8. DOI: 10.1128/JVI.01879-08.
25. Kim J.H., Hatta M., Watanabe S., Neumann G., Watanabe T., Kawaoka Y. Role of host-specific amino acids in the pathogenicity of avian H5N1 influenza viruses in mice. *J. Gen. Virol.* 2010; 91(Pt. 5):1284–9. DOI: 10.1099/vir.0.018143-0.
26. Herfst S., Schrauwen E.J., Linster M., Chutinimitkul S., de Wit E., Munster V.J., Sorrell E.M., Bestebroer T.M., Burke D.F., Smith D.J., Rimmelzwaan G.F., Osterhaus A.D., Fouchier R.A. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. *Science.* 2012; 336(6088):1534–41. DOI: 10.1126/science.1213362.
27. Suttie A., Deng Y.M., Greenhill A.R., Dussart P., Horwood P.F., Karlsson E.A. Inventory of molecular markers affecting biological characteristics of avian influenza A viruses. *Virus Genes.* 2019; 55(6):739–68. DOI: 10.1007/s11262-019-01700-z.
28. Agüero M., Monne I., Sánchez A., Zecchin B., Fusaro A., Ruano M.J., Del Valle Arrojo M., Fernández-Antonio R., Souto A.M., Tordable P., Cañas J., Bonfante F., Giussani E., Terregino C., Orejas J.J. Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus infection in farmed minks, Spain, October 2022. *Euro Surveill.* 2023; 28(3):2300001. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.3.2300001.
29. Lycett S.J., Duchatel F., Digard P. A brief history of bird flu. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2019; 374(1775):20180257. DOI: 10.1098/rstb.2018.0257.
30. Veen J., Yurlov A.K., Delany S.N., Mihantiev A.I., Selivanova M.A., Boere G.C. An Atlas of Movements of Southwest Siberian Waterbirds. Wetlands International; 2005. 60 p. (Cited 28 Feb 2023). [Internet]. Available from: http://gull-research.org/papers/articles09/atlas_SE_siberinan_waterbirds_2.pdf.

Authors:

Marchenko V.Yu., Svyatchenko S.V., Onkhonova G.S., Goncharova N.I., Ryzhikov A.B., Maksyutov R.A., Gavrilova E.V. State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”. Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

Марченко В.Ю., Святченко С.В., Онхонова Г.С., Гончарова Н.И., Рыжиков А.Б., Максютлов Р.А., Гаврилова Е.В. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Колыцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66

УДК 616.932:614.4

А.К. Носков¹, В.Д. Кругликов¹, Э.А. Москвитина¹, Л.В. Миронова², Е.В. Монахова¹, Е.Г. Соболева¹,
О.С. Чемисова¹, А.С. Водопьянов¹, А.А. Лопатин³, С.М. Иванова³, Е.А. Меньшикова¹,
О.А. Подойницына¹, М.И. Ежова¹, А.В. Евтеев¹

Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г.

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

²ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ³ФКУЗ «Противочумный центр», Москва, Российская Федерация

Цель обзора – проанализировать и оценить эпидемиологическую ситуацию по холере в мире и России в 2013–2022 гг. и дать прогноз на 2023 г. В период 2013–2022 гг. выявлено 500 пораженных холерой административных территорий в различных регионах 71 страны Азии, Африки и Америки (регион Карибского бассейна) с формированием 69 эндемичных очагов в 16, 41 и 12 странах соответственно. В 2022 г. зарегистрирован 1209301 случай холеры в 36 странах мира. Усилилась интенсивность эпидемического процесса в странах Азии (Сирия, Ливан). Сохранилась неблагоприятная эпидемиологическая обстановка на Африканском континенте. Продолжались эпидемии и крупные вспышки, которые начались в 2021–2022 гг. в связи с чрезвычайными ситуациями (ЧС) социального и природного характера. Прогноз о стабильности эпидемиологической ситуации по холере на территориях субъектов РФ, данный на 2022 г., подтвердился. В 2022 г. из водных объектов окружающей среды (ООС) выделено 43 нетоксигенных штамма *Vibrio cholerae* O1, от людей – 8 штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139. Показано сходство указанных штаммов с генетически близкородственными штаммами, выделенными в ходе мониторинга в предшествующие годы в России, Донецкой Народной Республике (ДНР) и Запорожской области. В 2023 г. сохраняются риски завоза инфекции на территорию РФ, связанные с активизацией эпидемического процесса в странах Азии, Африки и регионе Карибского бассейна. Повышению степени рисков способствует протяженная граница с Украиной, куда вероятен завоз холеры из эндемичных стран. Не исключается и биотерроризм. Последствия возможного эпидосложнения по холере в ДНР, Луганской Народной Республике, Запорожской и Херсонской областях усугубляются ЧС, приводящей к нарушению инфраструктуры, перебоям водоснабжения и др. При отсутствии реализации рисков завоза этой инфекции на территории РФ будет сохраняться стабильная эпидемиологическая обстановка по холере. Прогнозируется обнаружение в водных ООС нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1-серогруппы (не исключая вероятность формирования клональных комплексов), а также штаммов nonO1/nonO139, которые могут явиться этиологическим фактором спорадических случаев или вспышек диарейных заболеваний.

Ключевые слова: холера, эпидемический процесс, *Vibrio cholerae* O1, nonO1/nonO139, эпидемиологическая обстановка, нетоксигенные штаммы, генотипирование, филогенетические связи, прогноз.

Корреспондирующий автор: Кругликов Владимир Дмитриевич, e-mail: vd kru58@mail.ru.

Для цитирования: Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Соболева Е.Г., Чемисова О.С., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Меньшикова Е.А., Подойницына О.А., Ежова М.И., Евтеев А.В. Холера: анализ и оценка эпидемиологической обстановки в мире и России. Прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:56–66. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66

Поступила 17.02.2023. Отправлена на доработку 02.03.2023. Принята к публ. 03.03.2023.

A.K. Noskov¹, V.D. Kruglikov¹, E.A. Moskvitina¹, L.V. Mironova², E.V. Monakhova¹,
E.G. Soboleva¹, O.S. Chemisova¹, A.S. Vodop'yanov¹, A.A. Lopatin³, S.M. Ivanova³,
E.A. Men'shikova¹, O.A. Podoynitsyna¹, M.I. Ezhova¹, A.V. Evteev¹

Cholera: Analysis and Assessment of Epidemiological Situation around the World and in Russia (2013–2022). Forecast for 2023

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation;

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

³Plague Control Center, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the review was to analyze and assess the epidemiological situation on cholera in the world and Russia in 2013–2022 and to make a forecast for 2023. Over the period of 2013–2022, 500 administrative territories affected by cholera were identified in various regions of 71 countries of Asia, Africa and America (the Caribbean region) with formation of 69 endemic foci in 16, 41 and 12 countries, respectively. In 2022, 1 209 301 cases of cholera were registered in 36 countries of the world. The intensity of epidemic process in Asian countries (Syria, Lebanon) increased. Unfavorable epidemiological situation on the African continent persisted. Epidemics and large outbreaks, which began in 2021–2022 due to emergency situations (ES) of social and natural character, continued. The prediction of the stability of the epidemiological situation on cholera in the territories of constituent entities of the Russian Federation (RF), given for 2022, has been confirmed. In 2022, 43 non-toxicogenic strains of *Vibrio cholerae* O1 were isolated from surface water bodies, 8 *V. cholerae* nonO1/nonO139 strains – from humans. Similarity of those strains with genetically closely related ones isolated in the course of monitoring in previous years in Russia, Donetsk People's Republic (DPR) and Zaporozhye Region was demonstrated. In 2023, the risks of importation of the infection into RF are retained. It is associated with the intensification of epidemic processes in Asian, African and Caribbean region countries.

The extended border with Ukraine, to where importation of cholera from endemic countries is possible, contributes to increased degree of threat. Bioterrorism is also not excluded. The consequences of a possible cholera epidemic complication in DPR, Lugansk People's Republic, Zaporozhye and Kherson Regions are exacerbated by social emergencies resulting in disruption of infrastructure, interruptions in water supply, etc. In the absence of implementation of the risks of importation of this infection on the territory of RF, a stable epidemiological situation on cholera will be retained. Detection of non-toxigenic *V. cholerae* O1 strains (including probability of clonal complexes formation), as well as strains of non-O1/non-O139 serogroups, which can be etiological factors of sporadic cases or outbreaks of diarrheal diseases, in surface water bodies is predicted.

Key words: cholera, epidemic process, *Vibrio cholerae* O1 and nonO1/nonO139, epidemiological situation, non-toxigenic strains, genotyping, phylogenetic relations, forecast.

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

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

Citation: Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Mironova L.V., Monakhova E.V., Soboleva E.G., Chemisova O.S., Vodop'yanov A.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Men'shikova E.A., Podoyntsina O.A., Ezhova M.I., Evteev A.V. Cholera: Analysis and Assessment of Epidemiological Situation around the World and in Russia (2013–2022). Forecast for 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 1:56–66. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66

Received 17.02.2023. Revised 02.03.2023. Accepted 03.03.2023.

Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>

Moskvitina E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5020-1466>

Mironova L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8481-6442>

Monakhova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9216-7777>

Soboleva E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7571-7848>

Chemisova O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>

Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Lopatin A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5426-3311>

Ivanova S.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6999-1875>

Men'shikova E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6003-4283>

Podoyntsina O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9996-4189>

Ezhova M.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4254-3313>

Evteev A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0087-9153>

Седьмая пандемия холеры продолжается за счет масштабных эпидемий и крупных вспышек, обусловленных чрезвычайными ситуациями (ЧС) социального и природного происхождения, наличием эндемичных очагов на различных континентах и межгосударственными, в том числе межконтинентальными, завозами инфекции [1].

Анализ эпидемиологической ситуации по холере в мире (1993–2022 гг.)

Ретроспективный анализ за прошедший тридцатилетний период (1993–2022 гг.) показал, что динамика заболеваемости холерой в мире носила неравномерный характер с тенденцией к росту при среднем ежегодном темпе 2,5 % (рис. 1, А).

За указанный временной период в мире зарегистрировано 9607470 случаев холеры, из которых 4330360 – в странах Азии, что составило 45,1 %. Пики заболеваемости холерой отмечены начиная с 2011 г., когда зарегистрировано 590144 больных. Выраженные подъемы заболеваемости прослеживались в 2017 г. (1227414 случаев холеры), 2019 г. (923764) и 2022 г. (1209301). Спады заболеваемости в 2020 и 2021 гг., по нашему мнению, были связаны с масштабными мерами ограничения передвижения населения, введенными в связи с пандемией COVID-19. Показательно, что удельный вес числа больных холерой в мире с 2013 по 2022 г. составил 52,1 % (5009980) от общего числа случаев за последние тридцать лет. В связи с этим прогноз развития эпидемиологической ситуации по холере в мире и России с учетом существующих рисков базировался на анализе и оценке эпидемиологической обстановки за последнее десятилетие.

Анализ и оценка эпидемиологической ситуации по холере в регионах мира (2013–2022 гг.). Прогноз на 2023 г.

Азия. По данным ВОЗ, за анализируемый период в 29 странах Азии зарегистрировано 3871687 слу-

чаев холеры, что составило 77,4 % в структуре мировой заболеваемости. В динамике заболеваемости выявлена тенденция роста со средним ежегодным темпом прироста 61,7 % (рис. 1, В). В 2016 г. на фоне военного конфликта и гуманитарного кризиса в Йемене началась эпидемия холеры с числом больных – 1032481. В 2018 г. в этой стране было выявлено 371326 случаев холеры, в 2019 г. – 861096, 2020 г. – 221436, 2021 г. – 72765. В 2022 г. сведения о подтвержденных случаях отсутствовали, но сообщено о 4158 больных с подозрением на холеру. Намечившаяся в 2020–2022 гг. тенденция к снижению заболеваемости не является очевидной в связи с тем, что причины, послужившие активному развитию эпидемического процесса, и в настоящее время являются актуальными, что, в свою очередь, не исключает роста заболеваемости холерой в этой стране в 2023 г.

Страны Южной Азии. Интенсивные и масштабные вспышки и эпидемии зафиксированы в 2022 г. в Афганистане (233449 случаев холеры), Пакистане (258139), чему способствовали ЧС социального и природного происхождения [2–4].

Страны Восточного Средиземноморья. В Сирии, где гражданская война продолжается с 2012 г., на всех 14 административных территориях с 25 августа по 10 декабря 2022 г. зарегистрирован 61671 случай заболевания холерой [5–8]. Эпидемический процесс принял затяжной характер с завозом холеры в Ливан, где зарегистрировано 5372 случая холеры [9, 10]. Это первая вспышка в Ливане с 1993 г. [11]. Неблагополучная эпидемиологическая обстановка сохранится и в 2023 г. [12].

Юго-Восточная Азия. В Индии в период 2013–2022 гг. ежегодно имели место эпидемические проявления холеры с реализацией водного пути распространения возбудителя [13, 14]. В Бангладеш каждый год выявляют заболевания на юго-востоке

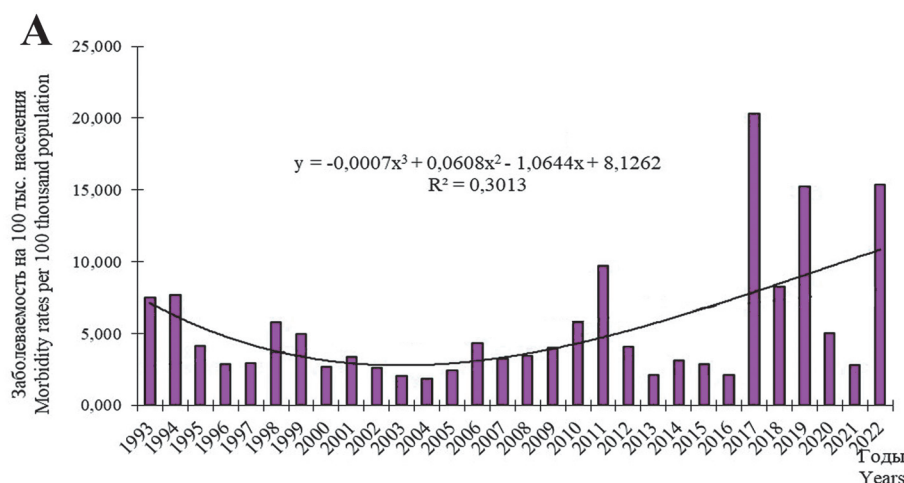
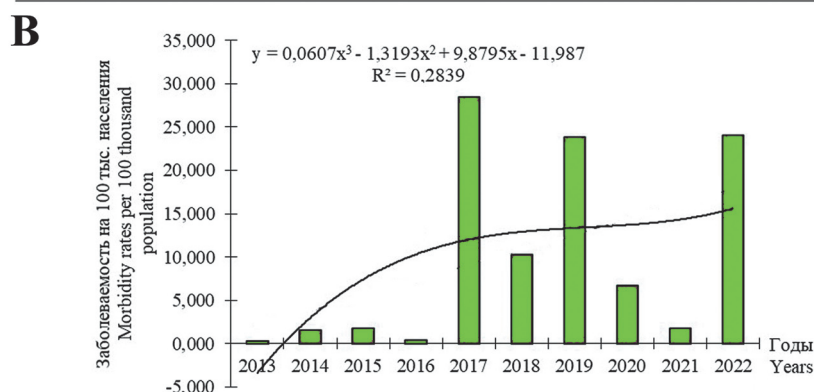


Рис. 1. Динамика заболеваемости холерой:
А – в мире, 1993–2022 гг.; В – в Азии, 2013–2022 гг.

Fig. 1. Dynamics of cholera incidence:
А – in the world, 1993–2022; В – in Asia, 2013–2022



страны среди беженцев из Мьянмы, массовая миграция которых началась в 2017 г. из-за вооруженного конфликта в стране. Нарушение инфраструктуры водоснабжения и водоотведения привело к контаминации *Vibrio cholerae* O1 воды в водопроводной распределительной сети, в результате чего в мае 2022 г. возникла вспышка холеры с острым эксплозивным характером течения и с регистрацией 495433 случаев холеры и 29 смертей [15].

Регион западной части Тихого океана. На Филиппинах в связи со стихийным бедствием (тропический шторм, апрель 2020 г.) усилилась миграция населения из районов, где ранее регистрировалась холера, и, как следствие, повысился риск активизации эпидпроцесса [16, 17]. Зарегистрирован случай холеры с выделением от больного нетоксигенного штамма *V. cholerae* O1 в Китае [18] и завоз болезни в Кувейт из Ирака, где с июня по август 2022 г. имела место вспышка холеры [19].

В Азиатском регионе в 2023 г. прогнозируется напряженная эпидемиологическая ситуация по холере в связи с продолжением и вероятным ростом активности эпидемического процесса.

Африка. С 2013 по 2022 г. поступили сведения из 34 стран Африки о 944298 случаях холеры. В динамике заболеваемости выявлена тенденция снижения со средним ежегодным темпом 1,6 %. Летальность варьировала от 1,3 % (2015 г.) до 2,4 % (2013 г.). В 2022 г. зарегистрировано 71090 больных холерой в 16 странах с наибольшим удельным весом в стра-

нах Западной (Нигерия – 29,5 %) и Центральной (Камерун – 20,9 %) Африки. Эпидемический процесс в этих и сопредельных странах характеризуется как активный. В 2022 г. летальность составила 1,9 % [20–25]. Эпидемические осложнения по холере имели место в регионе Великих Африканских озер – одном из самых густонаселенных в мире, в который входят Бурунди, Демократическая Республика Конго (ДРК), Кения, Танзания, Эфиопия, Малави, Мозамбик, Замбия, Руанда и Уганда. Наибольший удельный вес случаев холеры в 2022 г. среди стран этого региона выявлен в Малави, Мозамбике и ДРК – 51,3; 27,0 и 10,1 % соответственно от общего количества больных в регионе. В Малави с марта по декабрь 2022 г. зарегистрировано 17824 случая заболевания холерой, что составило 77,6 % от общего числа больных в этой стране за предшествующий десятилетний период. Вспышка характеризовалась высокой летальностью (3,4 %), инфицированностью значительного числа детей, на долю которых приходилось 35 % случаев холеры и 17 % летальных исходов. В 2022 г. случаи холеры также зарегистрированы в Бенине, Буркина-Фасо, Нигере, Того, Бурунди, Танзании, Эфиопии, Кении, Южном Судане, Зимбабве и Замбии [26, 27].

На основании приведенных данных прогнозируется продолжение эпидемического процесса в странах Африканского региона на 2023 г. с сохранением потенциальных рисков распространения болезни посредством внутри- и межгосударственных завозов.

Северная Америка. За анализируемый десятилетний период в США и Канаде зарегистрировано соответственно 55 и 10 завозных случаев холеры, в том числе 4 в 2022 г. (США). В 2023 г. остается вероятность единичных завозов инфекции.

Регион Карибского бассейна

Республика Гаити. Страна не сообщала о холере со времени эпидемии холеры (2010–2019 гг.), когда было выявлено 820 тыс. случаев, в том числе более 9 тыс. летальных. В 2022 г., после почти трехлетнего отсутствия заболеваемости, в Гаити зарегистрирована вспышка холеры. В ноябре 2022 г. опубликована информация о первом случае холеры, выявленном в столице (г. Порт-о-Пренс) [28]. Всего за 2022 г. зарегистрировано 1570 подтвержденных случаев холеры в девяти департаментах страны [29]. Установлено, что штамм холерного вибриона, ответственный за вспышку 2022 г., принадлежал к «гаитянской» группе и отличался от штаммов из Мексики (2013 г.) и от штаммов, циркулирующих в настоящее время в Бангладеш [30]. Приведенные данные позволяют судить об имеющихся предпосылках продолжения эпидемического процесса в Гаити в 2023 г. [31].

Доминиканская Республика. По данным Pan American Health Organization, в 2022 г. зарегистрировано 4 случая завоза холеры из Гаити, выявлено 6 местных случаев [32].

Южная Америка. За анализируемый период зарегистрировано 8 случаев холеры, в том числе в Венесуэле – 4 (2013 г.), Чили – 2 (2013 г.) и 1 (2014 г.), Эквадоре – 1 (2016 г.). В Чили в 2018 г. зарегистрирована вспышка (31 больной), обусловленная нетоксигенным штаммом *V. cholerae* [33]. В 2022 г. сведений о случаях заболевания людей холерой не поступало. На основании этого можно предположить стабилизацию эпидемического процесса в этих странах в 2023 г.

Европа. В ВОЗ поступила информация о 80 завозных случаях холеры без распространения в 12 странах Европы: в Великобритании (2013–2016 гг.), Германии (2013–2016 гг.), Дании (2016 г.), Испании (2013, 2015, 2022 гг.), Италии (2013 г.), Нидерландах (2013, 2016, 2020 гг.), Норвегии (2015 г.), Франции (2014, 2015 гг.), Швейцарии (2015 г.), Швеции (2015, 2022 гг.), Чехии (2017 г.) и России (2014 г.). В Европейском регионе в 2022 г. эпидемиологическая ситуация по холере характеризовалась как стабильная, в то же время отмечено 2 случая завоза холеры в Швецию из Ирака. В Испании выявлен случай холеры, обусловленный нетоксигенным штаммом *V. cholerae* O1 [34, 35]. В 2023 г. останется вероятность единичных завозов холеры в Европу без распространения инфекции.

Австралия с Океанией. Имели место 12 случаев завоза в Австралию (2014, 2016–2017 гг.) без распространения возбудителя инфекции. В настоящее время ситуация стабильна.

Страны СНГ. В 2017 и 2018 гг. зарегистрированы завозы холеры в Казахстан из Индии [36, 37]. На 2023 г. нельзя исключить вероятность завозов.

Таким образом, в результате мониторинга заболеваемости холерой на глобальном уровне за период с 2013 по 2022 г. выявлено 1903 случая завоза болезни, в том числе в странах Азии – 1319 (69,3 %), Африки – 420 (22,1 %), Европы – 80 (4,2 %), Америки – 72 (3,8 %) и Австралии с Океанией – 12 (0,6 %). На протяжении указанного периода в 71 стране мира выявлено 500 пораженных холерой административных территорий. Из них эндемичных – 69, которые сформировались в странах Азии (16), Африки (41) и Америки – в регионе Карибского бассейна (12).

В 2022 г. случаи холеры зарегистрированы в 36 странах мира, на 191 административной территории. Из них эндемичных территорий – 18, которые сформировались в Азии (2) и Африке (16). При этом тенденция в структуре заболеваемости сохранилась, наибольший удельный вес больных пришелся на страны Азии. Летальность в мире в 2022 г. составила 0,18 %. Эти данные в совокупности определяют потенциальные риски активизации эпидемического процесса в 2023 г. с распространением болезни, связанным с внутри- и межгосударственными завозами в страны различных континентов.

Анализ факторов и причин, обусловивших тенденцию к росту заболеваемости холерой в мире и активизацию эпидемического процесса с распространением болезни на новые территории в 2023 г., наряду с ЧС природного характера (землетрясения, ураганы, штормы, ливни, наводнения и др.) однозначно выводит на первый план ЧС социального характера (военные конфликты, приводящие к гуманитарному кризису, разрушению инфраструктуры водоснабжения и канализования, ухудшению санитарного состояния среды, недостатку доброкачественной питьевой воды, нехватке медицинской помощи, миграции населения и др.).

Перечисленные условия присутствуют в текущий момент и на территории Украины, и в четырех новых субъектах РФ, что обуславливает потенциальные риски формирования эпидемических очагов холеры на этих территориях с распространением болезни в случае завоза из эндемичных по холере стран и возможных биологических диверсий.

Анализ и оценка эпидемиологической ситуации по холере в России (2013–2022 гг.). Прогноз на 2023 г.

За период с 2013 по 2022 г. в 26 субъектах РФ из проб воды поверхностных водоемов изолировано 543 штамма *V. cholerae* O1 Эль Тор, в том числе один штамм *ctxA⁺tcpA⁺* (Ростовская область, 2014 г.), 50 штаммов *ctxA⁺tcpA⁺* (Ростовская область, Республика Калмыкия, Ставропольский край, Республика Коми, Хабаровский край) и 492 штамма *ctxA⁺tcpA⁺*. За анализируемый период штаммы *V. cholerae* серогруппы O139 не выделены. Наибольший удельный вес изолятов (57,6 %) приходится на территории II типа по эпидемическим проявлениям холеры. Установлено, что более 70 % нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 изолированы из проб воды

стационарных точек отбора в местах неорганизованного рекреационного водопользования на территории 28 субъектов РФ. В местах сброса сточных вод выделено 17,0 % штаммов *V. cholerae* O1 на территории 15 субъектов РФ.

Холерные вибрионы O1 обнаруживали с мая (Ростовская область, 2013, 2022 гг.; Республика Крым, 2020, 2022 гг.) по сентябрь (Ростовская область, 2020, 2022 гг.; Республика Калмыкия, 2013, 2016–2019 гг.; Приморский край, 2014, 2021 гг.; Краснодарский край, 2015, 2020 гг.; Удмуртская Республика, 2020 г.).

Потенциальные угрозы, связанные с высокими рисками завоза холеры на территории новых субъектов РФ, вероятность биотеррористических актов, а также сложившиеся в 2022 г. температурные условия поверхностных водоемов обусловили необходимость начала мониторинговых исследований в более ранние сроки при достижении температуры воды +15 °C и выше (апрель 2022), а окончание – в более поздние сроки, при температуре ниже +15 °C (октябрь 2022 г.).

В результате проведения мониторинговых исследований специалистами СПЭБ Роспотребнадзора во взаимодействии с территориальными учреждениями изолировано 2 нетоксигенных штамма *V. cholerae* O1 из пруда ОАО «Гормаш» (Донецкая Народная Республика – ДНР, г. Донецк) и три штамма – из реки Молочной (Запорожская область, г. Мелитополь). Контаминация *V. cholerae* O1 водных объектов в Запорожской области была отмечена и ранее [38].

В 2022 г. на территории РФ не выделено токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 от людей и из объектов окружающей среды (ООС). В десяти субъектах РФ из ООС изолировано 43 нетоксигенных штамма *V. cholerae* O1 Эль Тор, что на 35,8 % меньше, чем за аналогичный период 2021 г. [1]. Все штаммы изолированы из проб воды поверхностных водоемов, в том числе 39 (90,7 %) из воды рек и 4 (9,3 %) из воды прудов. Установлено, что 72,1 % штаммов выделено из проб воды в местах неорганизованного рекреационного водопользования, 14,0 % – в местах сброса сточных вод, 11,6 % – в местах водозабора и 2,3 % – в местах организованного рекреационного водопользования. Наибольший удельный вес изолятов отмечен в июне – 34,9 % (15 штаммов), августе – 27,9 % (12 штаммов) и сентябре – 23,3 % (10 штаммов). В 2022 г. наибольшее количество культур (26) выделено в Ростовской области (21 штамм в Ростове-на-Дону и 5 – в Азовском районе), что составило 60,5 % от общего числа выделенных штаммов. В Республике Калмыкия (Элиста), Хабаровском крае (Хабаровский район) и Запорожской области (Мелитополь) изолировано по 3 штамма (20,9 %). В ДНР (Донецк) и Архангельской области (Приморский район) – по 2 штамма (9,3 %), в республиках Крым (г. Керчь), Башкортостан (Ишимбайский район), Иркутской (Иркутский район) и Вологодской (д. Маурино) областях – по 1 штамму (9,3 %).

Все обнаруженные штаммы были типичными по родовым и видовым свойствам, принадлежали к биовару Эль Тор. В отличие от 2021 г. [1] выявилось количественное преобладание штаммов серовара Огава (76,7 %). К серовару Инаба отнесено 23,3 % штаммов. Холерные вибрионы серогруппы O139, как и в прошлом году, не выделены. В геномах всех штаммов отсутствовал ген *ctxA*, а ген *tcpA* обнаружен у 16 штаммов, выделенных в Ростовской области (в Ростове-на-Дону – 15) и Республике Калмыкия (в Элисте – 1).

В Референс-центре по мониторингу за холерой проведено высокопроизводительное секвенирование ДНК штаммов, выделенных в РФ в 2022 г. Результаты SNP-анализа полученных сиквенсов, в который были также включены геномы изолятов предшествующих лет, показали значительную гетерогенность штаммов 2022 г., которые на дендрограмме попали в разные кластеры (рис. 2).

В частности, три штамма, выделенные в Хабаровском крае, вошли в кластер D вместе с обнаруженными ранее в этом и других регионах (Иркутская область, Забайкальский край, Республика Бурятия). Штамм из Вологодской области попал в кластер E, содержащий штаммы, выделенные в 2021 г. на территории этого же субъекта. Аналогичная ситуация наблюдается со штаммом из Иркутской области – он вошел в кластер F, в составе которого были ранее выделенные в этом же регионе штаммы. Кластер G образован штаммами, выделенными в Архангельской области в 2022 г. и в Удмуртской Республике в 2020 г.

Необходимо отдельно отметить штаммы, изолированные из воды открытых водоемов в новых субъектах РФ. Так, штаммы, выделенные в 2022 г. в Донецке (ДНР), вошли в состав кластера H (вместе с выделенными там же ранее, а также в 2022 г. в Республике Калмыкия). Штаммы из Мелитополя (Запорожская область) распределились между двумя кластерами: 2 штамма попали в кластер L, образованный штаммами из ДНР (2017–2019 гг.), тогда как 1 изолят (кластер K) оказался близок штаммам из Ростовской области (2006 г.) и Ялты (2016 г.).

Штаммы, обнаруженные в Ростове-на-Дону, распределились между тремя кластерами (рис. 2). В кластер A, помимо данных штаммов, вошли изоляты из республик Башкортостан, Татарстан и Крым (2021 г.). Кластер I образован штаммами *tcpA*[–], изолированными в Ростовской области в 2022 г., а кластер N – только штаммами *tcpA*⁺ (Ростов-на-Дону, 2021–2022 гг.). Ранее мы сообщали о том, что 10 штаммов *tcpA*⁺ 2021 г. (Ростов-на-Дону) относились к одному клональному комплексу, вероятно, связанному с изолятом 2018 г., который мог сохраниться в данном регионе [1]. В 2022 г. в Ростове-на-Дону выделено 15 штаммов, практически идентичных упомянутым. Более подробный биоинформационный анализ, результаты которого будут представлены в отдельной публикации, подтвердил при-

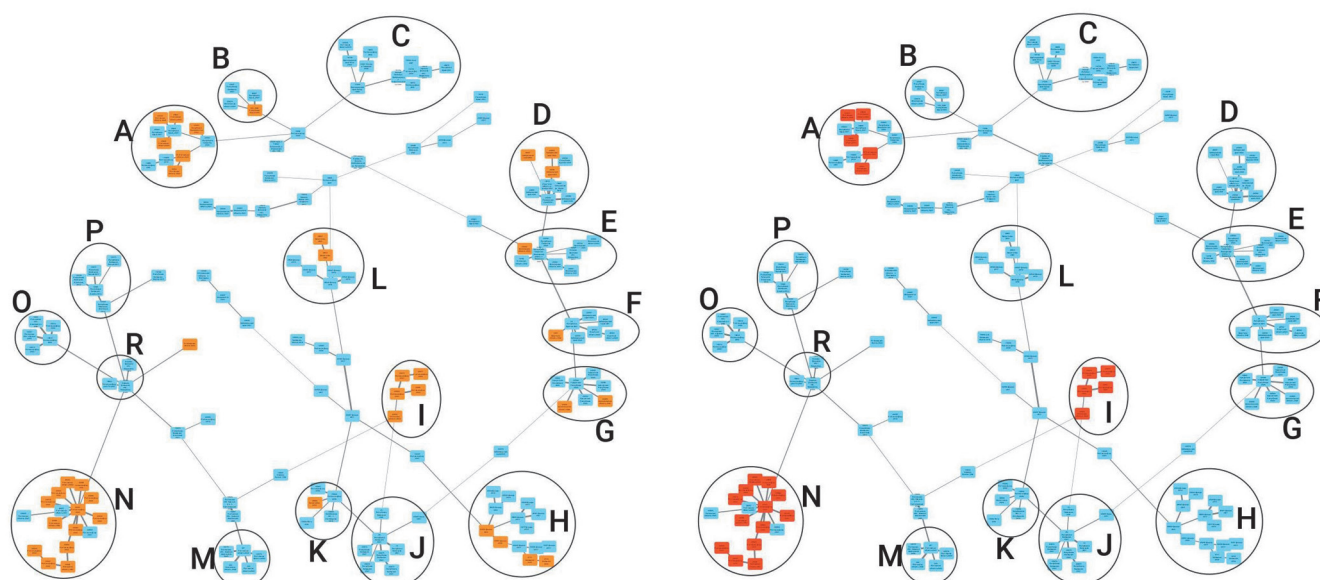


Рис. 2. Дендрограммы, полученные с использованием алгоритма минимального остовного дерева (Minimum Spanning Tree, MST) и программы Cytoscape [39] и отражающие генетическую близость между различными штаммами *V. cholerae* O1:

штаммы 2022 г. обозначены оранжевым цветом (слева); изолированные в Ростовской области в 2022 г. – красным (справа)

Fig. 2. Dendrograms obtained using the Minimum Spanning Tree (MST) algorithm and the Cytoscape software [39], reflecting the genetic proximity between different strains of *V. cholerae* O1:

2022 strains are marked in orange color (on the left), isolated in the Rostov Region in 2022 – in red color (on the right)

надлежность этих штаммов к одному клональному комплексу. Все они обладали наборами детерминант, достаточными для реализации патогенетического и персистентного потенциала, что указывает на их потенциальную опасность как возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ).

Клональные комплексы холерных вибрионов в 2022 г. выявлены в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах в рамках микробиологического мониторинга в Хабаровском крае (3) и Иркутской области (1). При оперативном молекулярно-генетическом типировании на основе анализа вариабельных тандемных повторов в геноме (MLVA-типирование) штаммы, выделенные в Хабаровском крае, отнесены к одному генотипу (VcA16_VcB0_VcC10_VcD3_VcG2). Все штаммы изолированы в течение месяца из проб воды р. Черной в местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод. Следует отметить, что в 2021 г. из воды р. Черной в районе п. Черная Речка изолирован *V. cholerae* O1 с идентичным со штаммами 2022 г. MLVA-профилем. В 2018 г. из проб воды этого же водоема, а также из воды р. Амур в месте сброса хозяйственно-бытовых сточных вод выделены штаммы серовара Инаба, отнесенные при генотипировании к однолокусным вариантам (изменение кратности повтора VcA) относительно изолятов 2022 г.

Углубленный филогенетический анализ полногеномных сиквенсов штаммов *V. cholerae*, изолированных в 2022 г., в сравнении с выделенными ранее на данных территориях и представителями глобальной выборки геномов холерного вибриона, подтвердил данные MLVA-типирования. Штаммы из р. Черной Хабаровского края (2022 г.) демон-

стрируют сходство генотипа как между собой, так и со штаммом холерного вибриона, выделенным из р. Черной в 2021 г. (рис. 3). Эти данные позволяют судить о закреплении клона холерного вибриона в р. Черной и незначительной трансформации его генотипа (не выходящей за рамки адаптивных изменений) в процессе персистенции в водной окружающей среде. Персистенции холерного вибриона в данной экологической нише, по всей вероятности, способствуют экологические и санитарно-гигиенические условия (сброс сточных вод, наличие застойных мелководных участков) водоема. Подтверждением этому служит и обнаружение в данном водоеме в 2013 г. штамма *V. cholerae* O1 с генотипом *ctx⁻tcp⁺*. Результаты эпидемиологического анализа при выделении указанного штамма (однократное обнаружение, несмотря на увеличение кратности отбора проб и количества точек; тип стационарной точки – место сброса сточных вод) и реконструкции филогении на основе полных геномов (кластеризация с изолятами из Китая) позволили сделать заключение о его завозном происхождении [40].

В целом выявление генетически близкородственных изолятов холерных вибрионов O1 среди выделенных в разные годы в различных регионах РФ свидетельствует об отсутствии связей свежесделанных штаммов с новыми заносами.

В 2022 г. зарегистрировано семь случаев ОКИ, вызванных нетоксигенными *tcpA⁻* холерными вибрионами nonO1/nonO139. Из восьми клинических изолятов два выделены от одного больного ребенка (Ростов-на-Дону) и оказались субкультурами одного штамма [41], а пять штаммов из ДНР и один из Волгоградской области выделены от разных боль-

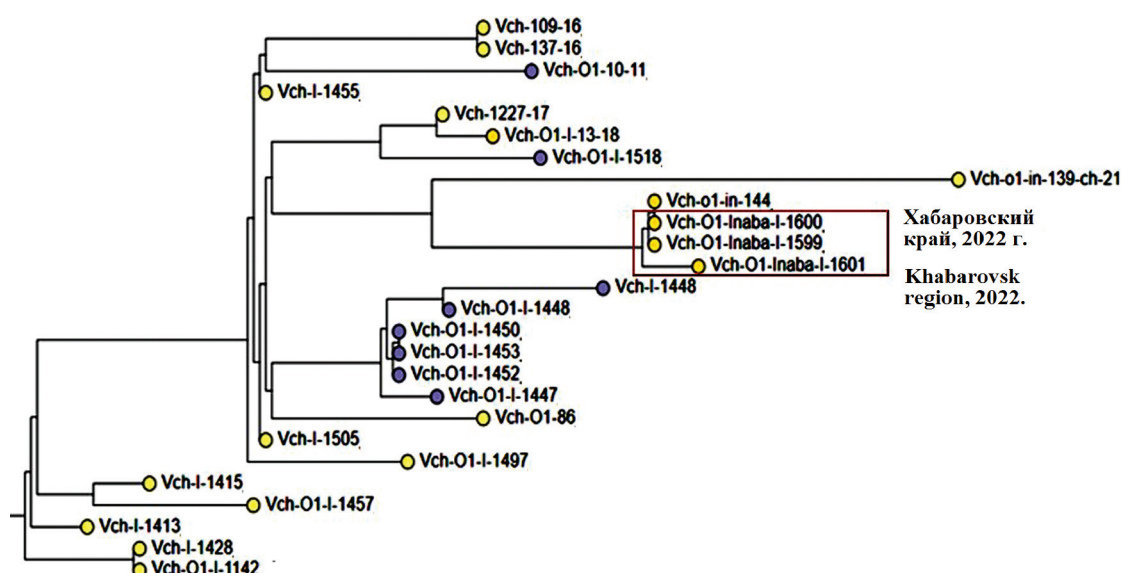


Рис. 3. Фрагмент дендрограммы, построенной в программе IQTREE с использованием метода максимального правдоподобия, на основании анализа геномов *V. cholerae* O1

Fig. 3. Fragment of the dendrogram constructed in the IQTREE program using the maximum likelihood method, based on the analysis of *V. cholerae* O1 genomes

ных. По итогам проведения кластерного анализа по 55 тыс. SNP построена дендрограмма, отражающая филогенетические связи между этими штаммами (рис. 4).

Две субкультуры штамма из Ростова-на-Дону практически не различались и были ближе всего одному из двух штаммов, выделенных в Мариуполе. Все они содержали в геномах кластер генов системы секреции III типа (T3SS) – мощного фактора патогенности [42]. Второй штамм T3SS⁺ из Мариуполя оказался в составе совершенно другой ветви вместе с изолятом T3SS⁻ из Донецка и тремя выделенными ранее в Ростовской области штаммами (два T3SS⁺ и один T3SS⁻). Еще два штамма из Донецка, T3SS⁻ и T3SS⁺, попали в разные ветви, при этом последний был ближе изоляту из Волгограда.

Таким образом, анализ филогенетических связей между этими штаммами показал их генетическую близость таким же штаммам, изолированным ранее от больных на данных территориях, то есть в 2022 г. новых завозов холерных вибрионов nonO1/nonO139 не выявлено. Вместе с тем выделение нетоксигенных штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 от больных ОКИ свидетельствует о наличии контактов населения с ООС, загрязненными холерными вибрионами, а также о повышенном уровне риска распространения инфекции в случае попадания токсигенного штамма – возбудителя холеры – в водные экосистемы.

С 2013 по 2022 г. выявлена тенденция роста в динамике заболеваемости холерой в мире. Отмечена крупная эпидемия в Йемене, а после длительного перерыва активизировался эпидемический процесс в ряде стран Азии (Сирия, Ливан). Вероятны риски осложнения эпидемиологической ситуации по холере в Сирии и Турции в связи с произошедшим

масштабным землетрясением. Градус риска завоза холеры на территорию РФ смещен с Африканского на Ближневосточный регион. Сохранилась неблагоприятная эпидемиологическая обстановка на Африканском континенте. Масштабные эпидемии и крупные вспышки, которые начались в 2021–2022 гг. в связи с ЧС социального и природного характера, продолжаются в 2023 г.

На основании анализа и оценки результатов мониторинга можно заключить, что прогноз по холере на территориях субъектов РФ, данный на 2022 г., полностью подтвердился. Завозы инфекции не зарегистрированы, поэтому эпидемиологическая ситуация характеризовалась как стабильная и благополучная – отсутствие больных и носителей. Как и предполагалось, из ООС выделены десятки нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1. От единичных больных ОКИ изолированы штаммы *V. cholerae* nonO1/nonO139. Происхождение всех штаммов, выделенных в 2022 г., не связано с новыми заносами. Сходство указанных штаммов с генетически близкородственными штаммами, выделенными в ходе мониторинга в предшествующие годы, свидетельствует о циркуляции этих и подобных штаммов на территориях субъектов РФ.

Вместе с тем полученные данные свидетельствуют о возможности создания благоприятных условий для размножения и переживания (в течение месяца и более) холерных вибрионов и формирования клональных комплексов. В связи с этим нельзя исключить аналогичную ситуацию в случае попадания (посредством завоза) в водный объект токсигенного штамма, что может повлечь за собой реализацию пролонгированного по времени эпидемиологического риска, связанного с возможностью распространения инфекции водным путем.

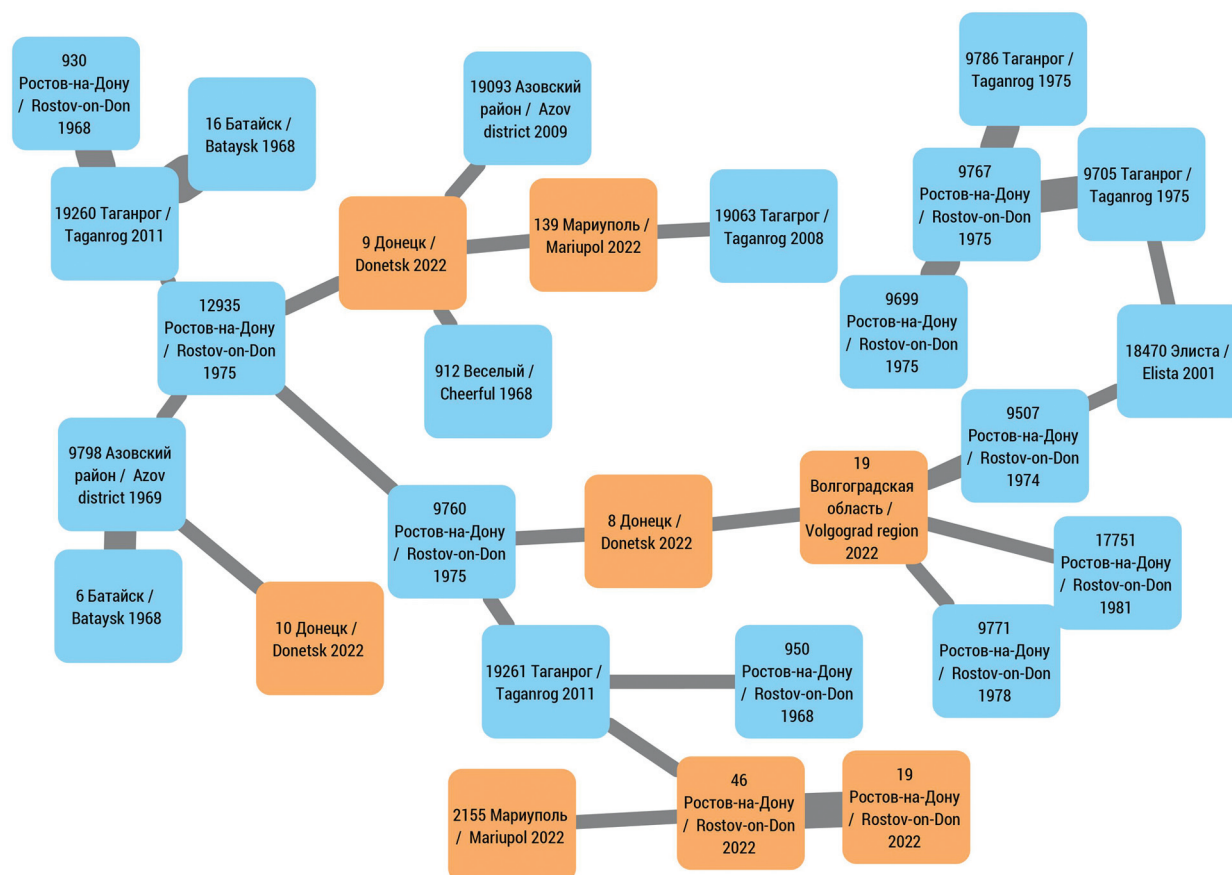


Рис. 4. Дендрограмма, построенная по итогам кластерного анализа 55 тыс. SNP в геномах штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139. Расстояние между штаммами и толщина линий на дендрограмме обратно пропорциональны натуральному логарифму количества отличающихся SNP

Fig. 4. Dendrogram based on the results of cluster analysis of 55 000 SNPs in the genomes of *V. cholerae* nonO1/nonO139 strains. The distance between strains and the thickness of the lines on the dendrogram are inversely proportional to the natural logarithm of the number of discrepant SNPs

Прогноз на 2023 г. Сохранятся эпидемиологические риски завоза инфекции на любую административную территорию России в течение 2023 г., связанные с активизацией эпидемического процесса в отдельных странах Азии, Африки и регионе Карибского бассейна, где сформировались эндемичные очаги. Последствия стихийного бедствия в Сирии и Турции и вероятность связанных с ними рисков осложнения эпидемической ситуации по холере необходимо учитывать при подготовке к туристическому сезону, так как основной туристический поток населения России – именно в Турцию. Повышению уровней потенциальных рисков способствует протяженная граница с Украиной, на территорию которой возможен завоз холеры из стран, эндемичных по холере. Кроме того, не исключаются акты биотерроризма. Последствия возможного заноса возбудителя на территорию Донецкой и Луганской народных республик, Запорожской и Херсонской областей усугубляются ЧС социального характера (нарушение систем водоснабжения, водоотведения, канализования, медицинского обеспечения и др.). При отсутствии реализации данных эпидемиологических рисков на территории РФ будет сохраняться стабильная эпидемиологическая обстановка по холере. В этих услови-

ях прогнозируется обнаружение в водных объектах окружающей среды нетоксигенных штаммов холерных вибрионов O1 (не исключая вероятность формирования клональных комплексов), а также штаммов nonO1/nonO139, которые могут явиться этиологическим фактором спорадических случаев или вспышек диарейных заболеваний.

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

Список литературы

1. Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В., Миронова Л.В., Крицкий А.А., Лопатин А.А., Чемисова О.С., Соболева Е.Г., Иванова С.М., Водопьянов А.С., Стенина С.И., Писанов Р.В., Левченко Д.А., Подойницына О.А., Непомнящая Н.Б., Ежова М.И. Холера: тенденции развития эпидемического процесса в 2021 г, прогноз на 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:24–34. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-24-34.
2. Asia and the Pacific: Weekly Regional Humanitarian Snapshot (5–11 July 2022). Source OCHA. Posted 13 Jul 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/bangladesh/asia-and-pacific-weekly-regional-humanitarian-snapshot-5-11-july-2022> (дата обращения 14.07.2022).
3. Earthquake in Paktika and Khost Provinces, Afghanistan – Situation Report # 9 (As of 10 July 2022). Sources Health Cluster, WHO. Posted 12 Jul 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/afghanistan/earthquake-paktika-and-khost-provinces-afghanistan-situation-report-9-10-july-2022> (дата обращения 14.07.2022).

4. Khan H.A., Masood W., Siddiqui A., Ahmad S., Salman Y., Essar M.Y. The cholera outbreak in Karachi, Pakistan: Challenges, efforts and recommendations. *Ann. Med. Surg. (Lond.)*. 2022; 78:103873. DOI: 10.1016/j.amsu.2022.103873.
5. Syria – Cholera (DG ECHO Partners, WHO, MoH Syria, NES Forum) (ECHO Daily Flash of 12 September 2022). Source ECHO. Posted 12 Sep 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/syrian-arab-republic/syria-cholera-dg-echo-partners-who-moh-syria-nes-forum-echo-daily-flash-12-september-2022> (дата обращения 13.09.2022).
6. Education Cannot Wait Announces US\$1.5 Million Grant to Slow the Spread of Cholera in Schools in Syria, ECW Funding in Syria Totals US\$50 Million. Source Education Cannot Wait. Posted 25 Dec 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/syrian-arab-republic/education-cannot-wait-announces-us15-million-grant-slow-spread-cholera-schools-syria-ecw-funding-syria-totals-us50-million> (дата обращения 26.12.2022).
7. Crisis fatigue not an option as global hunger crisis deepens, the International Red Cross Red Crescent Movement warns. Sources ICRC, IFRC. Posted 13 Sep 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/world/crisis-fatigue-not-option-global-hunger-crisis-deepens-international-red-cross-red-crescent-movement-warns> (дата обращения 14.09.2022).
8. Syria. Syria Humanitarian Fund: Allocation Strategy Paper - 2022 1st Reserve Allocation. Format Manual and Guideline. Source OCHA. Posted 11 Oct 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/syrian-arab-republic/syria-humanitarian-fund-allocation-strategy-paper-2022-1st-reserve-allocation> (дата обращения 12.10.2022).
9. Министерство здравоохранения объявило о регистрации первого случая заболевания холерой в Аккаг. Источник: Министерство общественного здравоохранения Ливанской Республики. Дата: 2022/10/06 [Электронный ресурс]. URL: <https://www.moph.gov.lb/ar/Media/view/64430/1> (дата обращения 06.10.2022).
10. Cholera – Lebanon (02): (Akkar) M3 обновления / Published Date: 2022-10-07. Archive Number: 20221007.8706020 [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8706020> (дата обращения 10.10.2022).
11. Lebanon 2023 IFRC network country plan (MGRLB001). Source IFRC. Posted 3 Jan 2023 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/lebanon/lebanon-2023-ifrc-network-country-plan-mgrlb001> (дата обращения 04.01.2023).
12. Cholera surveillance report. 5 Jan 2023 [Электронный ресурс]. URL: <https://www.moph.gov.lb/userfiles/images/Prevention/Communicable%20Diseases/Cholera-Surveillance-2022/5-1-2023.pdf> (дата обращения 11.01.2023).
13. PRO/EDR> Cholera, diarrhea & dysentery update (25): Asia, Africa. Published Date: 2022-07-21. Archive Number: 20220720.8704529 [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8704529> (дата обращения 21.07.2022).
14. PRO/SOAS> Cholera – India: (Maharashtra) conf, fatal. Published Date: 2022-07-17. Archive Number: 20220717.8704462 [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8704462> (дата обращения 17.07.2022).
15. Cholera – Bangladesh: (Dhaka). Published Date: 2022-03-29. Archive Number: 20220329.8702284 [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8702284> (дата обращения 30.03.2022).
16. Crisis in sight weekly picks, 20 April 2022. Source ACAPS. Posted 20 Apr 2022. [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/djibouti/crisisinsight-weekly-picks-20-april-2022> (дата обращения 21.04.2022).
17. Asia and the Pacific: Weekly Regional Humanitarian Snapshot (19–25 April 2022). Source OCHA. Posted 27 Apr 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/philippines/asia-and-pacific-weekly-regional-humanitarian-snapshot-19-25-april-2022> (дата обращения 27.04.2022).
18. Huang Y., Jia L., Tian Y., Lyu B., Qu M., Zhang X., Liu B.W., Huo D., Wu X.N., Yan H.Q., Yang P. [Etiological and epidemiological characteristics of *Vibrio cholerae* in Beijing, 2015–2021]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2022; 43(5):734–8. (In Chinese). DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20220123-00064.
19. Holera – Kuwait: ex IRAQ/ Source: Arab Times. Published Date: 2022-11-29. Archive Number: 20221129.8706958 [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8706958> (дата обращения 30.11.2022).
20. Northeast Nigeria Humanitarian Response: Health Sector Bulletin – November 2022. Sources Govt. Nigeria, Health Cluster, WHO. Posted 31 Dec 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/nigeria/northeast-nigeria-humanitarian-response-health-sector-bulletin-november-2022> (дата обращения 03.01.2023).
21. West and Central Africa: Weekly Regional Humanitarian Snapshot (27 December 2022 – 2 January 2023). Source OCHA. Posted 4 Jan 2023 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/cameroon/west-and-central-africa-weekly-regional-humanitarian-snapshot-27-december-2022-2-january-2023> (дата обращения 05.01.2023).
22. Cholera, diarrhea & dysentery update (10): Africa (Cameroon). Archive Number: 20220325.8702214. Published Date: 2022-03-25 [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8702214> (дата обращения 28.03.2022).
23. Children suffering dire drought across parts of Africa are ‘one disease away from catastrophe’ – warns UNICEF [EN/AR]. Source UNICEF. Posted 23 Aug 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/somalia/children-suffering-dire-drought-across-parts-africa-are-one-disease-away-catastrophe-warns-unicef-enar> (дата обращения 24.08.2022).
24. Weekly bulletin on outbreaks and other emergencies. Week 52: 19 to 25 December 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://www.afro.who.int/health-topics/disease-outbreaks/outbreaks-and-other-emergencies-updates> (дата обращения 03.01.2023).
25. Зарубежное эпидемиологическое – холера – Нигерия (2). Archive Number: 20220824.8705214. Published Date: 2022-08-24 [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8705214> (дата обращения 25.08.2022).
26. Weekly bulletin on outbreaks and other emergencies. Week 14: 28 March – 3 April 2022. [Электронный ресурс]. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/352849/OEW14-280303042022.pdf> (дата обращения 08.04.2022).
27. UNICEF Malawi Humanitarian Situation Report (Tropical Storm Ana) as of 15 February 2022. Source UNICEF. Posted 16 Feb 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/malawi/unicef-malawi-humanitarian-situation-report-tropical-storm-ana-15-february-2022> (дата обращения 17.02.2022).
28. World Health Organization (12 October 2022). Disease Outbreak News; Cholera – Haiti [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON415/> (дата обращения 12.10.2022).
29. Daniels J.P. Cholera surges in Haiti. *Lancet*. 2022; 400(10367):1913. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)02482-5.
30. Rubin D.H.F., Zingl F.G., Leitner D.R., Ternier R., Compere V., Marseille S., Slater D., Harris J.B., Chowdhury F., Qadri F., Boncy J., Ivers L.C., Waldor M.K. Reemergence of cholera in Haiti. *N. Engl. J. Med.* 2022; 387(25):2387–9. DOI: 10.1056/NEJMc2213908.
31. Actualización epidemiológica – Cólera – 10 de enero del 2023. Source PAHO. Posted 11 Jan 2023 [Электронный ресурс]. URL: <https://reliefweb.int/report/haiti/actualizacion-epidemiologica-colera-10-de-enero-del-2023> (дата обращения 12.01.2023).
32. Vibrio Cholerae – República Dominicana: ex Haití, caso importado confirmado. Published Date: 2022-10-22. Archive Number: 20221022.8706309 [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8706309> (дата обращения 22.10.2022).
33. Cholera, diarrhea & dysentery update (37): Americas (Chile) non-toxicogenic. Published Date: 2018-09-21. Archive Number: 20180921.6044225 [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=6044225> (дата обращения 20.09.2021).
34. Communicable disease threats report. Week 29, 17-23 July 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/communicable-disease-threats-report-17-23-july-week-29> (дата обращения 25.07.2022).
35. El País: в Испании обнаружили первый аутохтонный случай холеры с 1979 года. Источник: El País. Дата публикации 22 июня 2022 [Электронный ресурс]. URL: <https://russian.rt.com/world/news/1017604-ispaniya-sluchai-holera> (дата обращения 22.06.2022).
36. Сагиев З.А., Мусагалиева Р.С., Абдирасилова А.А., Аязбаев Т.З., Кульбаева М.М., Молдагасимова А.Б., Жунусова А.С., Утепова И.Б., Бегимбаева Э.Ж., Избанова У.А., Омашева Г.М., Турлиев З.С., Иманбекова Ж.Ж., Ниязбеков Н.Ш. О завозных случаях холеры в город Алматы в 2017 г., Казахстан. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 3:83–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-83-87.
37. Холера (завозные случаи) – Казахстан (Алматы). Published Date: 2018-02-09. Archive Number: 20180209.5618941 [Электронный ресурс]. URL: <https://promedmail.org/promed-post/?id=5618941> (дата обращения 09.02.2018).
38. Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Круликов В.Д., Титова С.В., Куриленко М.Л., Пичурина Н.Л., Водопьянов А.С., Левченко Д.А., Иванова С.М., Водопьянов С.О., Олейников И.П. Прогноз по холере на 2019 г. на основании анализа эпидемиологической обстановки в мире, СНГ и России в 2009–2018 гг. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 1:64–73. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-64-73.
39. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N.S., Wang J.T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res*. 2003; 13(11):2498–504. DOI: 10.1101/gr.1239303.
40. Миронова Л.В., Бочалгин Н.О., Гладких А.С., Феранчук С.И., Пономарева А.С., Балахонов С.В. Филогенетическое по-

ложение и особенности структуры геномов *ctxAB tcpA* *Vibrio cholerae* из поверхностных водоемов на эндемичной по холере территории. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 1:115–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-115-123.

41. Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Селянская Н.А., Ежова М.И., Носков А.К. Молекулярно-генетическая характеристика штамма *Vibrio cholerae* nonO139 – возбудителя нового случая острой кишечной инфекции в Ростове-на-Дону. *Инфекция и иммунитет*. 2022; 12(6):1156–62. DOI: 10.15789/2220-7619-MGC-2022.

42. Shin O.S., Tam V.C., Suzuki M., Ritchie J.M., Bronson R.T., Waldor M.K., Mekalanos J.J. Type III secretion is essential for the rapidly fatal diarrheal disease caused by non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae*. *mBio*. 2011; 2(3):e00106–11. DOI: 10.1128/mBio.00106-11.

References

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

2. Asia and the Pacific: Weekly Regional Humanitarian Snapshot (5–11 July 2022). Source OCHA. Posted 13 Jul 2022 (Cited 14 Jul 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/bangladesh/asia-and-pacific-weekly-regional-humanitarian-snapshot-5-11-july-2022>.

3. Earthquake in Paktika and Khost Provinces, Afghanistan - Situation Report # 9 (As of 10 July 2022) Sources Health Cluster, WHO. Posted 12 Jul 2022. (Cited 14 Jul 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/afghanistan/earthquake-paktika-and-khost-provinces-afghanistan-situation-report-9-10-july-2022>.

4. Khan H.A., Masood W., Siddiqui A., Ahmad S., Salman Y., Essar M.Y. The cholera outbreak in Karachi, Pakistan: Challenges, efforts and recommendations. *Ann. Med. Surg. (Lond.)*. 2022; 78:103873. DOI: 10.1016/j.amsu.2022.103873.

5. Syria – Cholera (DG ECHO Partners, WHO, MoH Syria, NES Forum) (ECHO Daily Flash of 12 September 2022). Source ECHO. Posted 12 Sep 2022. (Cited 13 Sep 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/syrian-arab-republic/syria-cholera-dg-echo-partners-who-moh-syria-nes-forum-echo-daily-flash-12-september-2022>.

6. Education Cannot Wait Announces US\$1.5 Million Grant to Slow the Spread of Cholera in Schools in Syria, ECW Funding in Syria Totals US\$50 Million. Source Education Cannot Wait. Posted 25 Dec 2022. (Cited 26 Dec 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/syrian-arab-republic/education-cannot-wait-announces-us15-million-grant-slow-spread-cholera-schools-syria-ecw-funding-syria-totals-us50-million>.

7. Crisis fatigue not an option as global hunger crisis deepens, the International Red Cross Red Crescent Movement warns. Sources ICRC, IFRC. Posted 13 Sep 2022. (Cited 14 Sep 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/world/crisis-fatigue-not-option-global-hunger-crisis-deepens-international-red-cross-red-crescent-movement-warns>.

8. Syria. Syria Humanitarian Fund: Allocation Strategy Paper – 2022 1st Reserve Allocation. Format Manual and Guideline. Source OCHA. Posted 11 Oct 2022. (Cited 12 Oct 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/syrian-arab-republic/syria-humanitarian-fund-allocation-strategy-paper-2022-1st-reserve-allocation>.

9. [The Ministry of Health announced the registration of the first case of cholera in Akkar. Source: Ministry of Public Health of the Lebanese Republic]. Date: 2022/10/06/. (Cited 6 Oct 2022). [Internet]. Available from: <https://www.moph.gov.lb/ar/Media/view/64430/1>.

10. Cholera – Lebanon (02): (Akkar) M3 обновления. Published Date: 2022-10-07. Archive Number: 20221007.8706020 (Cited 10 Oct 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8706020>.

11. Lebanon 2023 IFRC network country plan (MGRLB001). Source IFRC. Posted 3 Jan 2023. (Cited 4 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/lebanon/lebanon-2023-ifrc-network-country-plan-mgrlb001>.

12. Cholera surveillance report. 5 Jan 2023. (Cited 11 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://www.moph.gov.lb/userfiles/images/Prevention/Communicable%20Diseases/Cholera-Surveillance-2022/5-1-2023.pdf>.

13. PRO/EDR> Cholera, diarrhea & dysentery update (25): Asia, Africa. Published Date: 2022-07-21. Archive Number: 20220720.8704529. (Cited 21 Jul 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8704529>.

14. PRO/SOAS> Cholera – India: (Maharashtra) conf, fatal. Published Date: 2022-07-17. Archive Number: 20220717.8704462/

(Cited 17 Jul Oct 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8704462>.

15. Cholera – Bangladesh: (Dhaka). Published Date: 2022-03-29. Archive Number: 20220329.8702284. (Cited 30 Mar 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8702284>.

16. Crisis in sight weekly picks, 20 April 2022. Source ACAPS. Posted 20 Apr 2022. (Cited 21 Apr 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/djibouti/crisisinsight-weekly-picks-20-april-2022>.

17. Asia and the Pacific: Weekly Regional Humanitarian Snapshot (19–25 April 2022). Source OCHA. Posted 27 Apr 2022. (Cited 27 Apr 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/philippines/asia-and-pacific-weekly-regional-humanitarian-snapshot-19-25-april-2022>.

18. Huang Y., Jia L., Tian Y., Lyu B., Qu M., Zhang X., Liu B.W., Huo D., Wu X.N., Yan H.Q., Yang P. Etiological and epidemiological characteristics of *Vibrio cholerae* in Beijing, 2015–2021. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2022; 43(5):734–8. (In Chinese). DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20220123-00064.

19. Holera – Kuwait: ex IRAQ. Source: Arab Times. Published Date: 2022-11-29. Archive Number: 20221129.8706958. (Cited 30 Nov 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8706958>.

20. Northeast Nigeria Humanitarian Response: Health Sector Bulletin – November 2022. Sources Govt. Nigeria, Health Cluster, WHO. Posted 31 Dec 2022. (Cited 3 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/nigeria/northeast-nigeria-humanitarian-response-health-sector-bulletin-november-2022>.

21. West and Central Africa: Weekly Regional Humanitarian Snapshot (27 December 2022 – 2 January 2023). Source OCHA. Posted 4 Jan 2023. (Cited 5 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/cameroon/west-and-central-africa-weekly-regional-humanitarian-snapshot-27-december-2022-2-january-2023>.

22. Cholera, diarrhea & dysentery update (10): Africa (Cameroon). Archive Number: 20220325.8702214. Published Date: 2022-03-25. (Cited 28 Mar 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8702214>.

23. Children suffering dire drought across parts of Africa are 'one disease away from catastrophe' – warns UNICEF [EN/AR]. Source UNICEF. Posted 23 Aug 2022. (Cited 24 Aug 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/somalia/children-suffering-dire-drought-across-parts-africa-are-one-disease-away-catastrophe-warns-unicef-enar>.

24. Weekly bulletin on outbreaks and other emergencies. Week 52: 19 to 25 December 2022. (Cited 3 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://www.afro.who.int/health-topics/disease-outbreaks/outbreaks-and-other-emergencies-updates>.

25. [Foreign epidemiological overview – cholera – Nigeria (2)]. Archive Number: 20220824.8705214. Published Date: 2022-08-24. (Cited 25 Aug 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8705214>.

26. Weekly bulletin on outbreaks and other emergencies. Week 14: 28 March – 3 April 2022. (Cited 8 Apr 2022). [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/352849/OEW14-280303042022.pdf>.

27. UNICEF Malawi Humanitarian Situation Report (Tropical Storm Ana) as of 15 February 2022. Source UNICEF. Posted 16 Feb 2022. (Cited 17 Feb 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/malawi/unicef-malawi-humanitarian-situation-report-tropical-storm-ana-15-february-2022>.

28. World Health Organization (12 October 2022). Disease Outbreak News: Cholera – Haiti. (Cited 12 Oct 2022). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON415/>.

29. Daniels J.P. Cholera surges in Haiti. *Lancet*. 2022; 400(10367):1913. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)02482-5.

30. Rubin D.H.F., Zingl F.G., Leitner D.R., Ternier R., Compere V., Marseille S., Slater D., Harris J.B., Chowdhury F., Qadri F., Boncy J., Ivers L.C., Waldor M.K. Reemergence of cholera in Haiti. *N. Engl. J. Med.* 2022; 387(25):2387–9. DOI: 10.1056/NEJMc2213908.

31. Actualización epidemiológica – Cólera – 10 de enero del 2023. Source PAHO. Posted 11 Jan 2023. (Cited 12 Jan 2022). [Internet]. Available from: <https://reliefweb.int/report/haiti/actualizacion-epidemiologica-colera-10-de-enero-del-2023>.

32. Vibrio Cholerae – República Dominicana: ex Haiti, caso importado confirmado. Published Date: 2022-10-22. Archive Number: 20221022.8706309. (Cited 22 Oct 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=8706309>.

33. Cholera, diarrhea & dysentery update (37): Americas (Chile) non-toxigenic. Published Date: 2018-09-21. Archive Number: 20180921.6044225. (Cited 20 Sep 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=6044225>.

34. Communicable disease threats report. Week 29, 17-23 July 2022. (Cited 25 Jul 2022). [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/communicable-disease-threats-report-17-23-july-week-29>.

35. [El Pais: The first autochthonous case of cholera has been detected in Spain since 1979]. Source: El Pais. Publication date June 22, 2022. (Cited 22 Jun 2022). [Internet]. Available from: <https://russian.rt.com/world/news/1017604-ispaniya-sluchai-holera>.

36. Sagiev Z.A., Musagalieva R.S., Abdirasilova A.A., Ayazbaev T.Z., Kul'baeva M.M., Moldagasimova A.B., Zhunusova A.S., Utepova I.B., Begimbaeva E.Z., Izbanova U.A., Omasheva G.M., Turliev Z.S., Imanbekova Z.Z., Niyazbekov N.S. [Concerning imported cases of cholera in the city of Almaty, Kazakhstan, 2017]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (3):83–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-3-83-87.

37. [Cholera (imported cases) – Kazakhstan (Almaty)]. Published: 2018-02-09. Archive Number: 20180209.5618941. (Cited 9 Feb 2022). [Internet]. Available from: <https://promedmail.org/promed-post/?id=5618941>.

38. Moskvitina E.A., Yanovich E.G., Kruglikov V.D., Titova S.V., Kurilenko M.L., Pichurina N.L., Vodop'yanov A.S., Levchenko D.A., Ivanova S.M., Vodop'yanov S.O., Oleynikov I.P. [Cholera forecast for the year 2019 based on assessment of epidemiological situation around the world, across CIS and Russia in 2009–2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (1):64–73. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-64-73.

39. Shannon P., Markiel A., Ozier O., Baliga N.S., Wang J.T., Ramage D., Amin N., Schwikowski B., Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res.* 2003; 13(11):2498–504. DOI: 10.1101/gr.1239303.

40. Mironova L.V., Bochalgin N.O., Gladkikh A.S., Feranchuk S.I., Ponomareva A.S., Balakhonov S.V. [Phylogenetic affinity and genome structure features of *ctxAB-tcpA*⁺ *Vibrio cholerae* from the surface water bodies in the territory that is non-endemic as regards cholera]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (1):115–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-115-123.

41. Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Selyanskaya N.A., Ezhova M.I., Noskov A.K. [Molecular genetic characteristics of *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 strain, the causative agent of a new case of acute intestinal infection in Rostov-on-Don]. *Infektsiya i immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2022; 12(6):1156–62. DOI: 10.15789/2220-7619-MGC-2022.

42. Shin O.S., Tam V.C., Suzuki M., Ritchie J.M., Bronson R.T., Waldor M.K., Mekalanos J.J. Type III secretion is essential for the rapidly fatal diarrheal disease caused by non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae*. *mBio*. 2011; 2(3):e00106–11. DOI: 10.1128/mBio.00106-11.

Authors:

Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Monakhova E.V., Soboleva E.G., Chemisova O.S., Vodop'yanov A.S., Men'shikova E.A., Podoyntsina O.A., Ezhova M.I., Evteev A.V. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Mironova L.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation.

Lopatin A.A., Ivanova S.M. Plague Control Center. 4, Mussorgsky St., Moscow, 127490, Russian Federation.

Об авторах:

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

Миронова Л.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78.

Лопатин А.А., Иванова С.М. Противочумный центр. Российская Федерация, 127490, Москва, ул. Мусоргского, 4.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-67-74

УДК 616.98:579.842.23(470)

Н.В. Попов¹, И.Г. Карнаухов¹, А.А. Кузнецов¹, А.Н. Матросов¹, А.В. Иванова¹, К.С. Марцоха¹,
В.М. Корзун², Д.Б. Вержуцкий², Е.В. Чипанин², А.В. Холин², А.А. Лопатин³, В.М. Дубянский⁴,
У.М. Ашибокhov⁴, А.Ю. Газиева⁴, С.В. Балахонов², А.Н. Куличенко⁴, В.В. Кутырев¹

Совершенствование эпидемиологического надзора за природными очагами чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2023 г.

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

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

Целью работы являлась оценка эпидемической обстановки по чуме в мире и эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации в 2022 г. В результате выполнения комплексных планов профилактических мероприятий отмечено снижение эпизоотической активности Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного природных очагов, прекращение эпизоотий чумы в Центральном-Кавказском высокогорном очаге. Общая площадь эпизоотий в 2022 г. в Российской Федерации составила 248,3 км², что в 7 раз меньше, чем в 2021 г. В Терско-Сунженском низкогорном, Дагестанском равнинно-предгорном, Прикаспийском Северо-Западном степном, Волго-Уральском степном, Забайкальском степном, Волго-Уральском песчаном, Прикаспийском песчаном, Восточно-Кавказском высокогорном природных очагах зараженные животные не обнаружены. В 2023 г. прогнозируется сохранение напряженной эпизоотологической обстановки на территории Республики Алтай и Республики Тыва. Обоснована перспективность использования ГИС-портала ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора для оперативной оценки реально складывающейся эпидемиологической обстановки в природных очагах чумы.

Ключевые слова: природные очаги чумы, эпизоотическая активность, эпизоотологический прогноз, профилактические мероприятия, электронная паспортизация, ГИС-портал.

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

Для цитирования: Попов Н.В., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Иванова А.В., Марцоха К.С., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Чипанин Е.В., Холин А.В., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Ашибокhov У.М., Газиева А.Ю., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Совершенствование эпидемиологического надзора за природными очагами чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:67–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-67-74

Поступила 16.03.2023. Принята к публ. 22.03.2023.

N.V. Popov¹, I.G. Karnaukhov¹, A.A. Kuznetsov¹, A.N. Matrosov¹, A.V. Ivanova¹, K.S. Martsokha¹,
V.M. Korzun², D.B. Verzhutsky², E.V. Chipanin², A.V. Kholin², A.A. Lopatin³, V.M. Dubyansky⁴,
U.M. Ashibokhov⁴, A.Yu. Gazieva⁴, S.V. Balakhonov², A.N. Kulichenko⁴, V.V. Kutyrev¹

Improvement of Epidemiological Surveillance of Natural Plague Foci of the Russian Federation and the Forecast of Their Epizootic Activity for 2023

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

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

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

⁴Plague Control Center, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to assess the epidemic situation on plague in the world and epizootic activity of natural plague foci of the Russian Federation in 2022. Following the implementation of comprehensive preventive interventions plans, there was a decrease in the epizootic activity of the Gorno-Altai high-mountain and Tuva mountain natural foci, the cessation of plague epizootics in the Central Caucasian high-mountain focus. The total area of epizootics in the Russian Federation in 2022 reached 248.3 km², which is 7 times less than in 2021. Infected animals were not found in the Tersko-Sunzhensky low-mountain, Dagestan plain-piedmont, Caspian North-Western steppe, Volga-Ural steppe, Trans-Baikal steppe, Volga-Ural sandy, Caspian sandy, East Caucasian high-mountain natural foci. Persistence of tense epizootiological situation in 2023 is predicted for the territory of the Altai Republic and the Republic of Tuva. The prospects of using the GIS portal of the Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rospotrebnadzor for an operational assessment of the actual epidemiological situation in natural plague foci are substantiated.

Key words: natural plague foci, epizootic activity, epizootiological forecast, preventive measures, electronic certification, GIS portal.

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

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

Citation: Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Ivanova A.V., Martsokha K.S., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Kholin A.V., Lopatin A.A., Dubyansky V.M., Ashibokhov U.M., Gazieva A.Yu., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. Improvement of Epidemiological Surveillance of Natural Plague Foci of the Russian Federation and the Forecast of Their Epizootic Activity for 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:67–74. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-67-74

Received 16.03.2023. Accepted 22.03.2023.

Popov N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4099-9261>
Karnaukhov I.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8181-6727>
Kuznetsov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0677-4846>
Ivanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4849-3866>
Martsokha K.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2913-3766>
Korzun V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1947-5252>
Chipanin E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6051-1409>
Kholin A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9344-3542>

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

В последнее десятилетие в мире отмечено сохранение напряженной эпидемиологической ситуации по чуме [1–6]. Эпидемические осложнения в 2013–2022 гг. зарегистрированы на территории 11 государств: общее число случаев заболевания составило 5836, из них летальных – 699 (летальность – 11,9 %). Большинство случаев болезни отмечалось среди населения стран Африки: в Республике Мадагаскар – 4597 (591 летальный исход), Демократической Республике Конго (ДРК) – 1061 (70), Республике Уганда – 24 (5) и Объединенной Республике Танзании – 36 (4). В Американском регионе случаи болезни за указанный период отмечались в Республике Перу – 33 (4), Боливии – 3 (2) и Соединенных Штатах Америки (США) – 47 (7). На территории Азии регистрировали спорадическую заболеваемость в Китайской Народной Республике (КНР) – 17 (8), Монголии – 14 (7), Российской Федерации – 3 и Киргизской Республике – 1 (1). В 2022 г. официальные источники сообщили о регистрации 620 случаев заболевания чумой среди населения в трех странах мира. Эпидемические осложнения отмечены на территории ДРК, КНР и Монголии. Кроме того, в США отмечены эпизоотические проявления чумы среди животных: в городе Ларамии, округ Олбани, штат Вайоминг (домашняя кошка) и в районе Гесперус-Брин, округ Ла-Плата, штат Колорадо (луговая собачка).

В ДРК за последнее десятилетие случаи заболевания чумой среди населения регистрируются ежегодно. Эндемичные по чуме территории располагаются в основном на северо-востоке страны. В 2022 г. все случаи заболевания зарегистрированы в одной провинции Итури (как и годом ранее). Всего отмечено 615 случаев чумы (включая 4 случая легочной формы), 10 случаев заболевания закончились летальным исходом. Летальность составила 1,6 %. Наиболее пострадавшими районами провинции Итури являются Локпа, Рассия и Укета.

КНР в 2022 г. сообщила о регистрации двух случаев легочной формы чумы в Тибетском автономном районе, закончившихся летально, – в городе Лхока, округ Цон, префектура Лхока (Шаннан), и одном случае бубонной формы чумы у скотовода из города Иньчуань Нинся-Хуэйского автономного района, ранее посещавшего городской округ Баотоу автономного района Внутренняя Монголия, где ранее сообщалось о случаях эпизоотий среди диких животных.

В Монголии в 2022 г. зарегистрировано по одному подтвержденному случаю заболевания чумой в сомоне Цэцэг и сомоне Жаргалант аймака Ховд, закончившихся летально. В обоих случаях в эпидемиологическом анамнезе отмечена охота на сурка и упо-

требление в пищу мяса инфицированного животного. До этого последние случаи заболевания в аймаке Ховд были отмечены в 2020 г.

Кроме того, по данным неофициальных источников (СМИ Мадагаскара), в Республике Мадагаскар в 2022 г. зарегистрировано 134 подозрительных случая заболеваний, по клиническому течению не включающих чуму, из них 37 – с летальным исходом. Случаи болезни отмечены в 15 районах страны. Однако официального подтверждения информации о выявлении заболеваний чумой на сайтах министерства здравоохранения и Института Пастера Мадагаскара не представлено.

На территории Российской Федерации в 2013–2022 гг. зараженные чумой животные выявлены в пяти природных очагах: Центральном-Кавказском высокогорном, Горно-Алтайском высокогорном, Восточно-Кавказском высокогорном, Тувинском горном, Прикаспийском песчаном. Всего в 2013–2022 гг. на энзоотичной по чуме территории Российской Федерации выделено 487 штаммов чумного микроба. Общая площадь выявленных эпизоотий чумы составляет 20200 км². В 2014–2016 гг. в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы имели место единичные случаи заражения бубонной формой чумы [7, 8].

В 2022 г. локальные эпизоотии чумы зарегистрированы на территории Кош-Агачского района Республики Алтай и Монгун-Тайгинского кожууна Республики Тыва. Эпизоотии чумы выявлены на территории двух из 11 природных очагов чумы Российской Федерации – в Горно-Алтайском высокогорном (2 культуры) и Тувинском горном (17 культур). Общая эпизоотическая площадь составила 248,3 км², что почти в 7 раз меньше показателя 2021 г. (1650 км²). Всего в 2022 г. изолировано 19 культур чумного микроба античного биовара основного подвиды *Yersinia pestis* ssp. *pestis*.

В 2022 г. обеспечено эпидемиологическое благополучие в эпизоотически активных ранее Центральном-Кавказском и Горно-Алтайском высокогорных, Тувинском горном природных очагах, главным образом за счет выполнения комплекса профилактических (противоэпидемических) мероприятий, а также укрепления материально-технического оснащения и кадровых ресурсов Алтайской и Тувинской противочумных станций Роспотребнадзора за счет командирования специалистов из других противочумных учреждений страны. В частности, для обеспечения в 2022 г. эпидемиологического благополучия по чуме на территории Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного природных очагов чумы были дополнительно привлечены специалисты

Российского противочумного института «Микроб» (7 человек), Иркутского (8 человек), Ставропольского (1 человек), Ростовского (6 человек) противочумных институтов, Читинской противочумной станции (2 человека).

В результате выполнения «Комплексного плана мероприятий учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2022 г.» и «Программы дезинсекционных и дератизационных обработок в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы в 2022 г.», «Комплексного плана по снижению эпидемиологических рисков заболеваний населения в Тувинском горном очаге в 2022 г.», «Межведомственного комплексного плана мероприятий по профилактике чумы на территории Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы на 2022–2024 гг.» усилен контроль за эпидемиологической обстановкой на очаговой территории Российской Федерации и значительно снижены риски заражений в зонах развития эпизоотий. В 2016–2022 гг. значительный оздоровительный эффект получен при проведении барьерной дезинсекции вокруг стоянок животноводов на эпизоотических участках Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы (таблица). Техническая эффективность полевой барьерной дезинсекции на эпизоотических участках составила в среднем 95,5 %. Причем если в 2016 г. эффективность была ниже 90 %, то в 2019, 2021 и 2022 гг., по мере накопления опыта проведения таких мероприятий, результативность дезинсекции превысила 98,5 %. Эффективность поселковой дератизации колебалась от 80 до 100 %, в среднем за 7 лет составила 89,7 %, инсектицидных обработок в населенных пунктах – 100 %.

Техническая эффективность полевой барьерной дезинсекции на эпизоотических участках составляла в среднем 97,3 %, родентицидных и инсектицид-

ных обработок в населенных пунктах приближалась к 100 %.

Косвенным подтверждением высокой противоэпизоотической эффективности комплекса профилактических (противоэпидемических) мероприятий, выполненных в указанные годы на территории Горно-Алтайского высокогорного природного очага, служит и факт сохранения в 2018–2022 гг. высокой эпизоотической и эпидемической активности трансграничного Сайлюгемского высокогорного природного очага, расположенного на территории Монголии, где оздоровительные мероприятия не проводились [9].

В 2022 г., равно как и в предыдущие 2017–2021 гг., все профилактические (противоэпидемические) мероприятия в природных очагах чумы Российской Федерации осуществлялись с учетом среднесрочных и краткосрочных прогнозов эпизоотической обстановки, внедренных в практику учреждений Роспотребнадзора (письма Руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека А.Ю. Поповой от 01.02.2022 № 02/22090-2022-32 «О прогнозе эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2022 г.», от 19.07.2022 № 02/14945-2022-32 «О прогнозе эпизоотической активности природных очагов чумы в Российской Федерации на второе полугодие 2022 г.»). Прогностические данные были оперативно использованы для упреждающего проведения профилактических мероприятий на участках высокого риска заражения.

Складывающаяся в 2022 г. эпизоотологическая ситуация в 11 природных очагах чумы Российской Федерации полностью соответствовала долгосрочному эпизоотологическому прогнозу на 2020–2025 гг. [10]. Развитие локальных эпизоотий чумы в 2022 г. ожидалось на территории Центрально-Кавказского высокогорного, Горно-Алтайского вы-

Показатели эпизоотической активности и объемы профилактических мероприятий на территории Горно-Алтайского высокогорного очага чумы в 2016–2022 гг.

Indicators of epizootic activity and the volume of preventive measures on the territory of the Gorno-Altai high-mountain plague focus in 2016–2022

Годы Year	Число культур Number of isolates		Площадь эпизоотий чумы, км ² Area of plague epizootics, km ²	Число положительных серологических проб Number of positive serological samples	Число положительных проб с ДНК Number of positive DNA samples	Объемы барьерной полевой дезинсек- ции, км ² Volumes of barrier field disinfection, km ²	Объемы поселковой дератизации и дезинсекции, тыс. м ² Volumes of community deratization and disinsection, km ²	
	<i>Y. pestis</i> ssp. <i>pestis</i>	<i>Y. pestis</i> central <i>asiatica</i>					Дератизация Deratization	Дезинсекция Disinsection
2016	65	2	1607	15	30	30,4	102,9	72,8
2017	49	0	925	13	52	43,5	99,1	13,9
2018	11	6	837	16	67	32,7	77,7	12,9
2019	8	5	668	5	69	32,0	39,0	7,4
2020	5	4	503	40	39	2,3	74,5	10,7
2021	5	4	340	25	63	26,3	76,5	11,2
2022	2	–	84	–	32	40,2	72,5	11,1
Всего Total	145	21	3456	114	352	207,4	542,2	140,0

сокогорного и Тувинского горного природных очагов чумы. Ниже представлена информация, характеризующая состояние паразитарных систем этих природных очагов и результатов эпизоотологического обследования их территорий в 2022 г.

Центрально-Кавказский высокогорный природный очаг. В 2008–2020 гг. эпизоотий чумы на территории очага не зарегистрировано. В 2021 г., после перерыва в 2007–2020 гг., локальные эпизоотии выявлены в поселениях горного суслика в Карачаевском районе Карачаево-Черкесской Республики (выделено 11 культур *Y. pestis* ssp. *pestis* на 3 участках общей площадью 0,75 км²). В результате выполнения в 2021–2022 гг. комплекса профилактических (противоэпидемических) мероприятий, предусмотренных «Межведомственным комплексным планом мероприятий по профилактике чумы на территории Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы на 2022–2024 гг.», эпизоотический процесс был оперативно купирован. Полевая дезинсекция в этом очаге была проведена на 7 участках в местах выявления штаммов микроба чумы в 2021 г. и положительных проб методом ПЦР в 2022 г. С 1 по 31 августа 2022 г. проведена полевая дезинсекция на территории площадью 0,27 км². В 2022 г. зараженных животных на территории очага не выявлено. Полевой материал исследован методами ПЦР (2877 проб), бактериологическим (5224 посева, включая посевы от биопробных животных) и биологическим (464 пробы). При исследовании зоолого-энтомологического материала методом ПЦР получено 14 положительных результатов на наличие ДНК возбудителя чумы.

Средний показатель численности горного суслика в 2022 г. снизился до 17,4 особи на 1 га (средне-многолетнее значение – 21,6). Плотность основного носителя по ландшафтно-экологическим районам составила: в Верхне-Кубанском – 21,0; Кубано-Малкинском – 16,5; Малко-Баксанском – 20,0; Баксано-Чегемском – 12,0 особи на 1 га. Общие запасы блох *Citelliphilus tesquorum* варьировали от 366 до 865,9 экз. на 1 га (в 2021 г. – от 235,2 до 676,5 экз. на 1 га). Численность мышевидных грызунов в природных биотопах составила 2,0 % попадания в орудия лова, в закрытых – 6,0 %. Учитывая повышенную, по сравнению с прошлым годом, численность блох, не исключаются локальные эпизоотические проявления в 2023 г. Для снижения эпидемических рисков необходимо обеспечить дальнейшее выполнение «Межведомственного комплексного плана мероприятий по профилактике чумы на территории Центрально-Кавказского высокогорного природного очага чумы на 2022–2024 гг.».

Горно-Алтайский высокогорный природный очаг. В 2022 г. локальная эпизоотия зарегистрирована на территории Кош-Агачского района Республики Алтай на площади 84 км². Изолированы два штамма *Y. pestis* ssp. *pestis* от серого сурка (остатки стола хищных птиц). Эпизоотия выявлена на участке Вершина р. Уландрык. Методом ПЦР фрагменты ДНК *Y. pestis* обнаружены в 32 (2,3 %) пробах. Положительные результаты методом ПЦР получены в 16 секторах на 17 участках в Уландрыкском, Тархатинском, Талдуайском и Укокском мезоочагах (рис. 1).

Средние по очагу показатели численности серого сурка весной составили 0,8 жилого бутана на

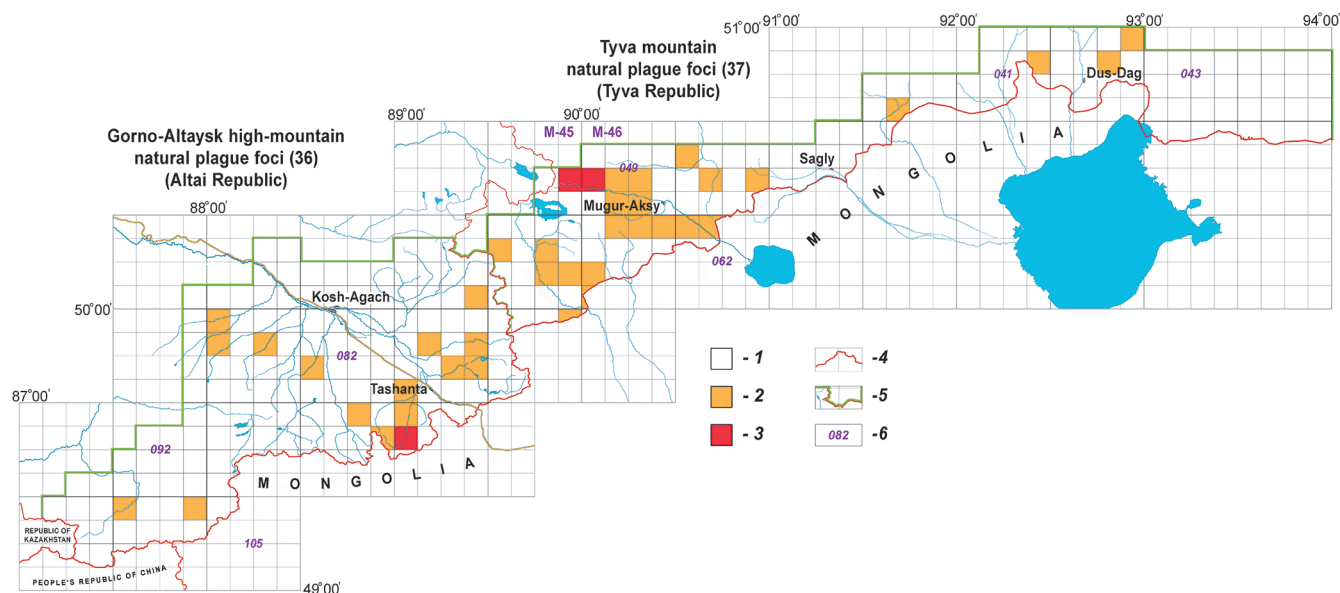


Рис. 1. Результаты эпизоотологического мониторинга территории Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного очагов чумы в 2022 г.:

1 – секторы с отрицательным результатом исследований на чуму; 2 – секторы находок ДНК чумного микроба; 3 – секторы выделения штаммов *Y. pestis* ssp. *pestis*; 4 – административные границы; 5 – границы очагов чумы; 6 – номера листов топографических карт масштаба 1:100000

Fig. 1. Results of epizootiological monitoring of the territory of the Gorno-Altai high-mountain and Tuva mountain plague foci in 2022:

1 – sectors with negative result of studies for plague; 2 – findings of plague microbe DNA; 3 – isolation of *Y. pestis* ssp. *pestis* strains; 4 – administrative borders; 5 – borders of plague foci; 6 – numbers of topographic map sheets, the scale of 1:100000.

1 га (среднемноголетнее значение – 0,8). По осенним учетам средняя численность равна 1,1 жилого бутана на 1 га (среднемноголетнее значение – 0,9). Низкой продолжает оставаться численность серого сурка на участках, где в предыдущие годы протекали эпизоотии: это приграничные с Монголией участки (Арка, Кызыл-Капчал, ур. Ташанта, Большие и Малые Сары-Гобо, Низовье р. Уландрык), участки Середина р. Ирбисту и Середина р. Елангаш. На плоскогорье Укок численность высокая – 1,4 жилого бутана на 1 га. На локальных участках в очаге плотность бутов серого сурка на высотах 2400–2700 м остается на высоком уровне – 2,2–3,3 жилого бутана на 1 га.

Численность длиннохвостого суслика весной оставалась на высоком уровне – 4,3 особи на 1 га (средняя многолетняя – 3,9), осенью существенно снизилась – до 2,9 особи на 1 га (средняя многолетняя – 5,6). Численность даурской пищухи высокая, весной – 2,9 жилой норы на 1 га (средняя многолетняя – 1,2), осенью – 2,4 (средняя многолетняя – 1,7). Показатель численности плоскочерепной полевки весной находился на среднем уровне – 13,0 % попадания в орудия лова (среднемноголетнее значение – 11,4), осенью на низком – 18,9 % (среднемноголетнее – 29,3). В населенных пунктах весенняя численность грызунов составила 4,0 %, осенняя – 1,0 %. На стоянках животноводов показатель численности мышевидных грызунов составлял весной 7,6 %, осенью – 6,6 % попаданий в орудия лова. Индекс обилия (ИО) блох на сером сурке составил 0,2. ИО блох на монгольской пищухе весной – 12,1, осенью сократился до 1,9. На длиннохвостом суслике годовой ИО блох составил 3,5. Годовой ИО блох на даурской пищухе – 5,9, на плоскочерепной полевке – 1,6. В 2023 г. ожидается низкий уровень численности серого сурка на участках, где в предыдущие годы протекали интенсивные эпизоотии. В высокогорье в поселениях, не затронутых эпизоотией, прогнозируется высокая численность серого сурка. В связи с этим в очаге сохраняются условия для циркуляции штаммов античного биовара *Y. pestis* ssp. *pestis* и алтайского биовара *Y. pestis* *central asiatica*. Развитие эпизоотий, обусловленных чумным микробом основного подвида, ожидается в поселениях серого сурка и длиннохвостого суслика в высокогорной местности на склонах хребтов Сайлюгем, Южно-Чуйский, Чихачева и на плоскогорье Укок. Развитие эпизоотий, вызванных возбудителем чумы центральноазиатского подвида, возможно в поселениях монгольской пищухи в отрогах хребтов Сайлюгем, Южно-Чуйский и Курайский. Для минимизации эпидемиологических рисков необходимо выполнение «Комплексного плана мероприятий учреждений Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2023 г.».

Тувинский горный природный очаг. В 2022 г. эпизоотия чумы обнаружена на территории Монгун-Тайгинского кожууна Республики Тыва. Культуры

чумы выделены в Каргинском мезоочаге в трех урочищах, расположенных в двух секторах на площади 164,6 км² (рис. 1). Изолировано 17 культур возбудителя чумы античного биовара *Y. pestis* ssp. *pestis* (2021 г. – 8 штаммов). Все изоляты получены от блох длиннохвостого суслика: 12 – от основного переносчика чумы в очаге *C. tesquorum* (11 – из входов нор длиннохвостого суслика и одна культура из блох, снятых со зверька этого же вида), 3 – от блох *Oropsylla alaskensis* (из входов нор и с очеса) и 2 – от блох *Frontopsylla elatoides* со входов нор. При исследовании полевого материала молекулярно-генетическим методом (ПЦР) получено 123 положительных результата. Эпизоотические проявления по всем положительным находкам обнаружены в пределах 40 урочищ, расположенных в 26 секторах 10 мезоочагов чумы, что свидетельствует о высоком эпизоотическом потенциале Тувинского природного очага чумы. Среди положительных результатов ПЦР 12 (9,8 %) получены из материала от носителей (9 – от длиннохвостого суслика и по одному – от тарбагана, монгольской и даурской пищух), 98 позитивных результатов (79,7 %) пришлось на 14 видов блох, среди них 48 (49,0 %) получены от основного переносчика – блохи *C. tesquorum*. На другие группы эктопаразитов пришлось 13 находок с выявленными фрагментами ДНК чумного микроба (10,6 % от всех позитивных реакций), в том числе 8 – от личинок и нимф иксодового клеща *Dermacentor nuttalli*, 4 – от вшей *Linognathoides laevisculus* и 1 положительная проба получена от гамазовых клещей. Почти все эктопаразиты с положительными на чуму результатами собраны с длиннохвостых сусликов или из входов его нор.

Численность длиннохвостого суслика на стационарных учетных участках Каргинского мезоочага весной составила 4,7 особи на 1 га (среднемноголетнее значение – 3,7). В летний период наблюдалось лишь незначительное повышение плотности длиннохвостого суслика до 6,0 особи на 1 га. По всей территории очага весенняя численность суслика оценивалась в 5,0 особи на 1 га (с колебаниями по мезоочагам от 2,3 до 12,8), летняя – 6,1 особи на 1 га (с колебаниями от 3,0 до 11,1). По данным весенних учетов, в среднем на территории очага численность тарбагана составила 1,0 жилого бутана на 1 га (среднемноголетнее значение – 1,1). Летняя численность тарбагана почти не изменилась – 1,1 жилого бутана на 1 га. Весенняя численность монгольской пищухи оставалась на низком уровне и составила 2,1 жилой норы на 1 га. Летняя численность оценивалась в 2,3 жилой норы на 1 га. По территории очага средняя численность даурской пищухи весной 2022 г. составила 2,2 жилой норы на 1 га, средняя летняя численность – 2,8. В 2022 г. на территории очага отмечено повышение численности мелких мышевидных грызунов в природных стациях: в весенний период средний уровень попадания их в орудия лова составил 2,4 %, в летний период – 7,0 %.

Общий индекс обилия блох на длиннохвостом суслике по очагу за сезон составил 4,6; вшей – 2,7, иксодовых клещей – 7,6, гамазовых клещей – 0,06. ИО блох во входах нор суслика – 0,45, в гнездах суслика – 130, личинок блох – 390, гамазовых клещей – 345. По сравнению с прошлым годом численность блох на суслике снизилась в 1,2 раза, во входах нор – в 1,6 раза, но в гнездах возросла в 1,8 раза. Рост ИО блох в гнездах в первую очередь связан с резким увеличением численности основного переносчика чумы *C. tesquorum*. В 2023 г. численность длиннохвостого суслика останется на среднем уровне, так же как и численность тарбагана. В 2023 г. в связи с высоким уровнем численности блох, в первую очередь основного переносчика *C. tesquorum*, прогнозируется сохранение высокой эпизоотической активности Тувинского природного очага чумы. Для обеспечения эпидемиологического благополучия обеспечено выполнение «Комплексного плана мероприятий учреждений Роспотребнадзора по снижению рисков в Тувинском природном очаге чумы в Монгун-Тайгинском, Овюрском и Тэс-Хемском районах (кожуунах) Республики Тыва в 2023 г.».

Паразитарные системы равнинных, предгорных и низкогорных природных очагов чумы Российской Федерации продолжают оставаться в состоянии глубокой депрессии.

Таким образом, в 2023 г. можно прогнозировать сохранение напряженной эпизоотической обстановки в Тувинском горном (Республика Тыва) и Горно-Алтайском высокогорном (Республика Алтай) очагах чумы. На территории Центрально-Кавказского высокогорного очага (Карачаево-Черкесская и

Кабардино-Балкарская республики) можно ожидать развитие локальных эпизоотических проявлений (рис. 2). В остальных 8 природных очагах на территории Российской Федерации условий для эпизоотических проявлений нет.

В целях дальнейшего повышения эффективности эпидемиологического надзора в природных очагах чумы в практику противочумных учреждений Роспотребнадзора активно внедряются ГИС-технологии [11]. В рамках реализации государственных программ «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья» и «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации» продолжается разработка системы электронной паспортизации природных очагов чумы. Электронный паспорт природного очага чумы является электронной базой данных, ассоциированной с геоинформационными системами. В отличие от архивов на бумажных носителях и классических паспортов очагов, электронные паспорта обладают значительно большим объемом данных, но при этом имеют простой и интуитивный доступ ко всей интересующей информации в одном месте, а встроенные инструменты для фильтрации, анализа, обработки и визуализации данных помогают сделать доступ к информации еще быстрее, удобнее и нагляднее, как для специалиста, так и для более широкого круга пользователей. Помимо классического табличного материала с архивными и актуализируемыми данными об эпидемических проявлениях и своевременном эпизоотологическом мониторинге, электронные паспорта содержат информацию о составе, количестве и плотности населения на конкретных территориях,

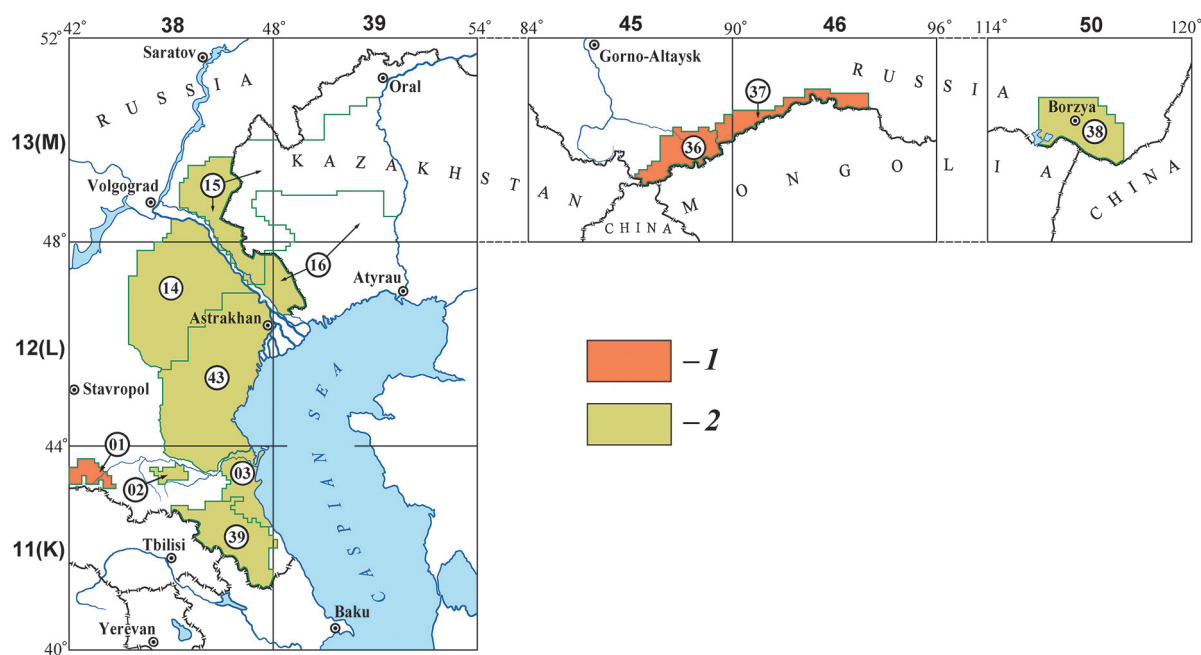


Рис. 2. Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской Федерации на 2023 г.:

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

Fig. 2. Forecast of epizootic activity of natural plague foci for 2023:

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

а также данные о группах риска, расположение медицинских и ветеринарных сетей, сведения о физико-географических характеристиках местности, климатические данные, расположение пунктов выпаса скота, сеть животноводческих хозяйств и рекреационных учреждений. Основным преимуществом при этом является способ визуализации необходимой информации с привязкой данных к картографической основе.

На данный момент Российским противочумным институтом «Микроб» и Ставропольским противочумным институтом подготовлено 6 действующих электронных паспортов очагов чумы, вмещающих широкий спектр сведений эпизоотологического и эпидемиологического профиля. К настоящему времени база электронных паспортов содержит свыше 7 тыс. объектов на 80 интерактивных слоях, создано 30 электронных таблиц, несущих информацию о местах проведения прошлых исследований, географических координатах эпизоотических и эпидемических проявлений, о расположении населенных пунктов и составе населения на территории очагов, о проведении актуального эпизоотологического мониторинга и диагностики возбудителя, климатических условиях, особенностях ландшафта и многом другом.

В 2022 г. также решена задача по объединению всего объема баз данных, собранных в виде отдельных электронных паспортов, в одну общую интерактивную сеть на базе веб-портала и реализован запуск сервиса ГИС-паспортизации на сервере ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. Основными целями создания сервиса ГИС-паспортизации является упрощение доступа к данным для компетентных лиц, совершенствование процессов публикации, анализа и визуализации оперативной информации, повышение скорости взаимосвязи и эффективности работы групп специалистов из разных учреждений. Настоящий ГИС-портал находится на этапе пробной эксплуатации, но его инструментарий по визуализации и анализу данных уже позволяет проводить экспертный анализ и составлять прогнозы. ГИС-сервис в реальном времени отображает оперативную ситуацию на территории природных очагов чумы и других опасных инфекционных болезней, обеспечивает стандартизацию объемов, форматов и расширение файлов, необходимых для внедрения и публикации новых эпизоотологических и эпидемиологических данных.

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

Список литературы

1. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств. Калининград: ПА Полиграфич, 2022. 348 с.
2. Yang R. Plague: recognition, treatment, and prevention. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 56(1):e01519-17. DOI: 10.1128/JCM.01519-17.

3. Barbieri R., Signoli M., Chev   D., Costedoat C., Tzortzis S., Aboudharam G., Raoult D., Drancourt M. *Yersinia pestis*: the natural history of plague. *Clin. Microbiol. Rev.* 2020; 34(1):e00044-19. DOI: 10.1128/CMR.00044-19.
4. Andrianavaorimanana V., Piola P., Wagner D.M., Rakotomanana F., Maheriniaina V., Andrianalimanana S., Chanteau S., Rahalison L., Ratsitorahina M., Rajerison M. Trends of human plague, Madagascar, 1998–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(2):220–8. DOI: 10.3201/eid2502.171974.
5. Han H., Liang Y., Song Z., He Z., Duan R., Chen Y., Gao Z., Qin S., Liang J., Tang D., Lv D., Zhang P., Zhang D., Jing H., Wang X. Epidemiological characteristics of human and animal plague in Yunnan Province, China, 1950 to 2020. *Microbiol. Spectr.* 2022; 10(6):e0166222. DOI: 10.1128/spectrum.01662-22.
6. He Z., Wei B., Zhang Y., Liu J., Xi J., Ciren D., Qi T., Liang J., Duan R., Qin S., Lv D., Chen Y., Xiao M., Fan R., Song Z., Jing H., Wang X. Distribution and characteristics of human plague cases and *Yersinia pestis* isolates from 4 marmota plague foci, China, 1950–2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(10):2544–53. DOI: 10.3201/eid2710.202239.
7. Балахонов С.В., Щучинов Л.В., Мищенко А.И., Матросов А.Н., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Корзун В.М., Косилко С.А., Тагызова С.Л., Топорков В.П., Попов Н.В., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Организация профилактических, противоэпидемических мероприятий в целях снижения риска осложнения эпидемиологической ситуации по чуме на территории Республики Алтай. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2018; 95(6):85–94. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-85-94.
8. Попова А.Ю., Балахонов С.В., Щучинов Л.В., Матросов А.Н., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Шефер В.В., Шестаков В.А., Рождественский Е.Н., Чипанин Е.В., Корзун В.М., Косилко С.А., Иннокентьева Т.И., Ярыгина М.Б., Сбитнева С.В., Тагызова С.Л., Архипов Г.С., Щербакова С.А., Топорков В.П., Куклев Е.В., Раздорский А.С., Кузнецов А.А., Слудский А.А., Попов Н.В., Ермаков Н.М., Кутырев В.В. Организация противоэпидемических и профилактических мероприятий по чуме на территории Кош-Агачского района Республики Алтай и оценка их эффективности. *Инфекционные болезни.* 2018; 16(4):5–15. DOI: 10.20953/1729-9225-2018-4-5-15.
9. Балахонов С.В., Корзун В.М., редакторы. Трансграничный Сайлогемский природный очаг чумы. Новосибирск: Наука; 2022. 248 с.
10. Попов Н.В., Ерошенко Г.А., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Иванова А.В., Поршаков А.М., Ляпин М.Н., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Аязбаев Т.З., Лопатин А.А., Ашибоков У.М., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпидемиологическая и эпизоотическая обстановка по чуме в Российской Федерации и прогноз ее развития на 2020–2025 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 1:43–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-43-50.
11. Попов Н.В., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Сафронов В.А., Поршаков А.М., Иванова А.В., Марцоха К.С., Корзун В.М., Вержуцкий Д.Б., Чипанин Е.В., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Ашибоков У.М., Газиева А.Ю., Зенкевич Е.С., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Совершенствование эпидемиологического надзора в природных очагах чумы Российской Федерации и прогноз их эпизоотической активности на 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 1:35–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-35-42.

References

1. Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Atlas of Natural Plague Foci of Russia and Foreign Countries]. Kaliningrad; 2022. 348 p.
2. Yang R. Plague: recognition, treatment, and prevention. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 56(1):e01519-17. DOI: 10.1128/JCM.01519-17.
3. Barbieri R., Signoli M., Chev   D., Costedoat C., Tzortzis S., Aboudharam G., Raoult D., Drancourt M. *Yersinia pestis*: the natural history of plague. *Clin. Microbiol. Rev.* 2020; 34(1):e00044-19. DOI: 10.1128/CMR.00044-19.
4. Andrianavaorimanana V., Piola P., Wagner D.M., Rakotomanana F., Maheriniaina V., Andrianalimanana S., Chanteau S., Rahalison L., Ratsitorahina M., Rajerison M. Trends of human plague, Madagascar, 1998–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(2):220–8. DOI: 10.3201/eid2502.171974.
5. Han H., Liang Y., Song Z., He Z., Duan R., Chen Y., Gao Z., Qin S., Liang J., Tang D., Lv D., Zhang P., Zhang D., Jing H., Wang X. Epidemiological characteristics of human and animal plague in Yunnan Province, China, 1950 to 2020. *Microbiol. Spectr.* 2022; 10(6):e0166222. DOI: 10.1128/spectrum.01662-22.
6. He Z., Wei B., Zhang Y., Liu J., Xi J., Ciren D., Qi T., Liang J., Duan R., Qin S., Lv D., Chen Y., Xiao M., Fan R., Song Z., Jing H., Wang X. Distribution and characteristics of human plague cases and *Yersinia pestis* isolates from 4 marmota plague foci,

China, 1950–2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(10):2544–53. DOI: 10.3201/eid2710.202239.

7. Balakhonov S.V., Schuchinov L.V., Mischenko A.I., Matrosov A.N., Denisov A.V., Rozhdestvenskiy E.N., Korzun V.M., Kosilko S.A., Tagyzova S.L., Toporkov V.P., Popov N.V., Scherbakova S.A., Kuttyrev V.V. [Organization of preventive, anti-epidemic actions to decrease risks of epidemic situation complications for plague in Republic Altai]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*. [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2018; 95(6):85–94. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-85-94.

8. Popova A.Yu., Balakhonov S.V., Shchuchinov L.V., Matrosov A.N., Mikhaylov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Shefer V.V., Shestakov V.A., Rozhdestvenskiy E.N., Chipanin E.V., Korzun V.M., Kosilko S.A., Innokent'yeva T.I., Yarygina M.B., Sbitneva S.V., Tagyzova S.L., Arkhipov G.S., Shcherbakova S.A., Toporkov V.P., Kuklev E.V., Razdorskiy A.S., Kuznetsov A.A., Sludskiy A.A., Popov N.V., Ermakov N.M., Kuttyrev V.V. [Organization of plague control and prevention measures on the territory of Kosh-Agach district of the Altai Republic and estimation of their effectiveness]. *Infektsionnye Bolezni* [Infectious Diseases]. 2018; 16(4):5–15. DOI: 10.20953/1729-9225-2018-4-5-15.

9. Balakhonov S.V., Korzun V.M., editors. [Transboundary Sailugem Natural Plague Focus]. Novosibirsk: Nauka; 2022. 248 p.

10. Popov N.V., Eroshenko G.A., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Ivanova A.V., Porshakov A.M., Lyapin M.N., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Ayazbaev T.Z., Lopatin A.A., Ashibokov U.M., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kuttyrev V.V. [Epidemiological and epizootic situation on plague in the Russian Federation and forecast for its development for 2020–2025]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; (1):43–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-43-50.

11. Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Safronov V.A., Porshakov A.M., Ivanova A.V., Martsokha K.S., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Lopatin A.A., Dubyansky V.M., Ashibokov U.M., Gazieva A.Yu., Zenkevich E.S.,

Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kuttyrev V.V. [Enhancement of epidemiological surveillance in natural plague foci of the Russian Federation and forecast of epizootic activity for 2022]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; (1):35–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-35-42.

Authors:

Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Ivanova A.V., Martsokha K.S., Kuttyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

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

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

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

Об авторах:

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

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

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

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-75-84

УДК 616.98:578.833.28(470)

Е.В. Путинцева, С.К. Удовиченко, Д.Н. Никитин, Н.В. Бородай, А.А. Батурин, А.Ю. Мачнева,
А.С. Антонов, Н.А. Зарубин, А.В. Топорков

Лихорадка Западного Нила в Российской Федерации в 2022 г., прогноз заболеваемости на 2023 г.

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

В обзоре представлен анализ эпидемиологической ситуации по лихорадке Западного Нила (ЛЗН) в Российской Федерации в 2022 г. и обобщены результаты мониторинга за возбудителем. Определены следующие особенности эпидемического процесса ЛЗН в России: снижение (в 4 раза) заболеваемости относительно среднесезонных значений при чрезвычайно экстенсивном характере проявлений (16 субъектов в 6 федеральных округах), в том числе с выявлением местных случаев на 5 новых территориях (Тверская, Тамбовская, Владимирская области, Ханты-Мансийский автономный округ и Карачаево-Черкесская Республика), преимущественная регистрация заболеваемости в Центральном федеральном округе (51 %), раннее начало и окончание эпидемического сезона. В структуре заболеваемости отмечено снижение доли нейроинвазивных форм, преобладание удельного веса лиц женского пола и возрастной группы «60 лет и старше», а также рекордные значения показателя заразившихся по месту проживания в городах, что связано с особенностями выявления случаев, а именно проведением скрининговых обследований Референс-центром в группе лихорадящих пациентов стационаров, по результатам которых диагностировано 60 % от всех зарегистрированных больных ЛЗН в России. Мониторинговыми исследованиями Референс-центра на территории субъектов Центрального, Южного и Северо-Кавказского федеральных округов подтверждена интенсивная циркуляция возбудителя. Низкий уровень официально зарегистрированной заболеваемости обусловлен недостаточно эффективным выявлением больных. Молекулярно-генетические исследования показали, что на территории европейской части России как в эпизоотическом, так и в эпидемическом циклах циркулировал вирус Западного Нила 2-го генотипа. Посредством филогенетического анализа установлена принадлежность 4 изолятов вируса Западного Нила, выделенных в Астраханской, Волгоградской областях, Республике Калмыкия и Ставропольском крае в 2022 г., к новому геноварианту 2-го генотипа, впервые выявленному в России в 2021 г. Прогнозируется возможное осложнение эпидемиологической обстановки во всех федеральных округах центра и юга европейской части России.

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

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

Для цитирования: Путинцева Е.В., Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Батурин А.А., Мачнева А.Ю., Антонов А.С., Зарубин Н.А., Топорков А.В. Лихорадка Западного Нила в Российской Федерации в 2022 г., прогноз заболеваемости на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:75–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-75-84

Поступила 08.02.2023. Принята к публ. 03.03.2023.

**E.V. Putintseva, S.K. Udovichenko, D.N. Nikitin, N.V. Boroday, A.A. Baturin, A.Yu. Machneva,
A.S. Antonov, N.A. Zarubin, A.V. Toporkov**

West Nile Fever in the Russian Federation in 2022, the Incidence Forecast for 2023

Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation

Abstract. The review presents an analysis of West Nile fever (WNF) epidemiological situation in the Russian Federation in 2022 and the summarized results of monitoring over the pathogen. The following features of the WNF epidemic process in Russia are outlined: the decrease (by 4 times) in the incidence rates compared to the long-term average values against an extremely extensive nature of manifestations (16 constituent entities in 6 federal districts), including the detection of local cases in 5 new territories (Tver, Tambov, Vladimir Regions, Khanty-Mansi Autonomous District, and Karachay-Cherkess Republic), predominant registration of incidence in the Central Federal District (51 %), early start and termination of the epidemic season. There is a decrease in the proportion of neuroinvasive forms in the structure of incidence, prevalence of females and the age group of “60 years and over”, as well as record rate values of people infected at the place of residence in cities, which is associated with the peculiarities of case detection, namely, screening examinations of febrile patients in hospitals by efforts of the Reference Center, according to the results of which 60 % of all registered patients with WNF in Russia were diagnosed. Monitoring studies of the Reference Center in the territory of the Central, Southern and North-Caucasian Federal Districts confirmed the intensive circulation of the pathogen. The low level of officially registered incidence is caused by insufficiently effective identification of patients. Molecular genetic studies have shown that West Nile virus lineage 2 circulated in the European part of Russia, both in epizootic and epidemic cycles. Phylogenetic analysis has revealed that 4 West Nile virus isolates found in Astrakhan, Volgograd Regions, the Republic of Kalmykia and Stavropol Territory in 2022 belong to a new genovariant of the genotype 2, first identified in Russia in 2021. Possible complication of the epidemiological situation in all federal districts of the center and south of the European part of Russia is predicted.

Key words: West Nile fever, West Nile virus, epidemiological situation, monitoring over the causative agent, prognosis.

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

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

Citation: Putintseva E.V., Udovichenko S.K., Nikitin D.N., Boroday N.V., Baturin A.A., Machneva A.Yu., Antonov A.S., Zarubin N.A., Toporkov A.V. West Nile Fever in the Russian Federation in 2022, the Incidence Forecast for 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:75–84. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-75-84

Received 08.02.2023. *Accepted* 03.03.2023.

Putintseva E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9368-6165>
Udovichenko S.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8682-1536>
Nikitin D.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6940-0350>
Boroday N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2076-5276>
Baturin A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9510-7246>

Machneva A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1910-3731>
Antonov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9342-7211>
Zarubin N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7689-3421>
Toporkov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3449-4657>

Ситуация по лихорадке Западного Нила (ЛЗН) в мире. В 2022 г. эпизоотические и/или эпидемические проявления ЛЗН отмечены во всех регионах мира. В структуру глобальной заболеваемости ЛЗН наибольший вклад внесли страны Европы, на которые пришлось 53,1 % от всех случаев.

В Европейском регионе в 2022 г. наблюдалась активизация эпидемического процесса ЛЗН с регистрацией 1201 случая (на 23 ноября) на территории 12 стран. Абсолютное количество заболевших в 2022 г. в 7,1 раза превысило аналогичный показатель 2021 г. (170 случаев), однако не достигло такового в период эпидемического подъема заболеваемости в 2018 г. (2083 случая). Крупные вспышки ЛЗН зафиксированы в Италии (586 случаев), где установлен рост заболеваемости относительно вспышки 2018 г. (576 случаев), а также Греции (284 случая, пик в 2018 г. – 311 случаев) и Сербии (226 случаев, максимум в 2013 г. – 302 случая). Летальность в среднем по региону составила 7,2 % (в 2021 г. – 6,5 %), превышение средних значений отмечено в Израиле (10 %), Греции и Румынии (по 10,9 %). Эпизоотии ЛЗН среди птиц подтверждены в Италии, Германии, Испании, Хорватии, Австрии и Венгрии, среди лошадей – в Италии, Германии, Хорватии, Испании, Греции, Франции, Венгрии, Австрии и Португалии [1].

В США, согласно официальным данным центров по контролю и профилактике заболеваний, в 2022 г. зарегистрировано 1035 случаев ЛЗН, что в 2,6 раза ниже показателя 2021 г. (2695 случаев) и 2,3 раза – среднееголетнего значения (2401 случай). Случаи заболевания диагностированы на территории 41 штата страны, наиболее интенсивные проявления эпидемического процесса отмечены в штатах Колорадо (19,7 %) и Калифорния (16,2 %). У 737 больных (71 %) ЛЗН протекала с клиническими симптомами поражения центральной нервной системы (ЦНС). Общее количество летальных исходов, связанных с ЛЗН, составило 79 случаев (летальность – 7,6 %), что выше как показателя 2021 г. (7,1 %), так и среднееголетнего значения (4,8 %) [2].

В Канаде на 08.10.2022 выявлено 22 случая в провинциях Манитоба (4 случая) и Онтарио (18). Эпидемический процесс ЛЗН в последние годы характеризуется низкой интенсивностью, крупные вспышки не регистрируют после 2007 г., когда был выявлен 2401 случай. В сравнении с 2021 г. установлено снижение заболеваемости в 1,6 раза, среднееголетними значениями (2002–2021 гг.) – в 15,1 раза.

По результатам эпизоотологического обследования, помимо вышеуказанных провинций с зарегистрированной заболеваемостью, циркуляция вируса подтверждена в Квебеке и Саскачеване [3].

На Африканском континенте ЛЗН распространена повсеместно, однако в связи с отсутствием эффективно организованного эпидемиологического надзора за этой инфекцией заболеваемость регистрируется на спорадическом уровне. В 2022 г. о случаях заболевания сообщили Тунис (1 больной в провинции Сус и 1 случай у лошади), Алжир (1 больной в г. Туггурт и 7 эпизоотий среди лошадей) [4] и Ливия (2 случая среди лошадей).

Из стран Азии случаи ЛЗН в 2022 г. подтверждены только в Индии (2 пациента с нейроинвазивной формой заболевания в штате Керала). Свидетельства циркуляции вируса Западного Нила (ВЗН) в Индии впервые получены в 1950-е гг. прошлого столетия, в последующем вспышки и отдельные случаи заболевания отмечены в штатах Карнатака, Ассам, Махараштра, Гоа, Раджастан, Западная Бенгалия и Мадхья-Прадеш [5].

В Австралии в 2022 г. выявлены эпизоотии среди лошадей, затронувшие северную и южную части Нового Южного Уэльса. Проявления ЛЗН на территории этой страны обусловлены вирусом Кунджин (генотип 1b ВЗН), последний случай инфицирования человека которым выявлен в 2020 г. [6].

Особенности эпидемического процесса ЛЗН в России в 2022 г. По данным, предоставленным управлениями Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации в Референс-центр по мониторингу за возбудителем ЛЗН на базе ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт (далее – Референс-центр), в эпидемический сезон 2022 г. зарегистрировано 33 случая заболевания населения ЛЗН. Показатель заболеваемости ЛЗН в целом по России (0,02/100 тыс.) ниже в 2,5 раза значений прошлого эпидемического сезона (0,05/100 тыс.) и значительно (в 4 раза) ниже среднееголетнего (2010–2021 гг.) значения (0,08/100 тыс.) (рис. 1).

Случаи заболевания зарегистрированы в 16 субъектах в 6 федеральных округах: в Центральном федеральном округе (ЦФО) – 17 случаев (Владимирская область – 2, Тверская – 7, Тамбовская – 5, Курская – 3, г. Москва – 1); Южном (ЮФО) – 6 (Астраханская область – 1, Волгоградская – 1, Ростовская – 2, Краснодарский край – 1, Республика Крым – 1);

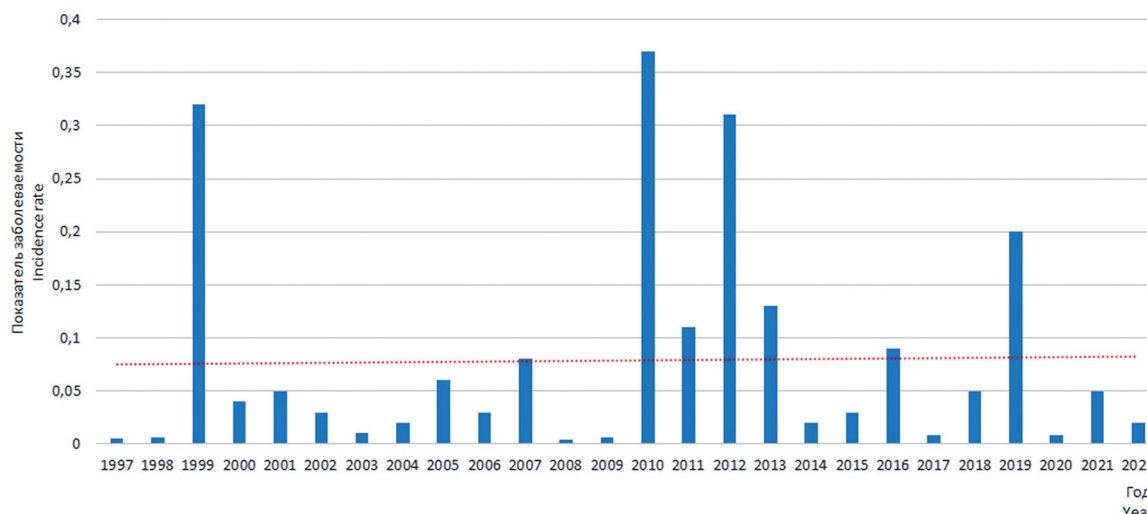


Рис. 1. Динамика заболеваемости ЛЗН в России в 1997–2022 гг.

Fig. 1. Dynamics of WNF incidence in Russia in 1997–2022

Северо-Кавказском (СКФО) – 5 (Республика Дагестан – 1, Карачаево-Черкесская Республика – 1, Ставропольский край – 3); Приволжском (ПФО) – 2 (Ульяновская область); Уральском (УФО) – 2 (Ханты-Мансийский автономный округ – Югра, ХМАО); Сибирском (СФО) – 1 (Омская область). Таким образом, максимальное количество больных зарегистрировано, как и в 2021 г., в субъектах ЦФО, что свидетельствует о сохранении тенденции к расширению территорий центральной части России с активным эпидемическим процессом ЛЗН (рис. 2).

Случаи заболевания с местным заражением в 2022 г. зарегистрированы впервые в 5 субъектах (31 %), относящихся к ЦФО (в Тамбовской, где в 2011 г. выявлен завозной случай, Владимирской, Тверской областях), СКФО (Карачаево-Черкесская Республика) и УФО (ХМАО, в 2017 г. – завозной случай). Таким образом, местные случаи заболевания ЛЗН за период 1997–2022 гг. подтверждены в 31 субъекте страны.

Случаи заболевания ЛЗН выявлены специалистами медицинских организаций в 8 (50 %) субъектах:

Астраханской, Волгоградской, Ростовской, Омской, Тамбовской (1 из 5 случаев) областях, Республике Крым, Краснодарском крае и ХМАО (1 – медицинской организацией и 1 – при обследовании температурающих больных, организованном Управлением Роспотребнадзора). На остальных территориях случаи ЛЗН подтверждены Референс-центром при скрининге лихорадящих больных, что составило 60 % от всех больных сезона 2022 г.

Таким образом, особенностью сезона 2022 г. является наибольшее за весь период наблюдения количество субъектов, в которых установлены проявления эпидемического процесса ЛЗН. Подавляющая часть больных, выявленная при активном скрининге лихорадящих больных (в т.ч. и в ХМАО), свидетельствует, что на всех территориях, где подтверждена циркуляция ВЗН в эпизоотическом цикле, заболеваемость населения при благоприятных климатических условиях может регистрироваться от спорадического до эпидемического уровней.

В 2022 г. эпидемический сезон начался рано (первые заболевшие выявлены в апреле в Тамбовской области, в мае – в Омской области) с регистрацией случаев заражения от перезимовавшей генерации переносчиков. Раннее начало сезона передачи ВЗН с заражением от перезимовавших комаров наблюдалось в Российской Федерации в 2012, 2013, 2017 и 2019 гг. О возможности такой передачи убедительно свидетельствуют данные о персистенции ВЗН у комаров в течение всего зимнего периода, в том числе у *Culex pipiens* – основного переносчика возбудителя ЛЗН, полученные в России (Волгоградская область) [7], странах Европы (регион Южная Моравия, Чехия, и федеральная земля Саксония-Анхальт, Германия) и США (штаты Нью-Йорк, Пенсильвания, Нью-Джерси) [8, 9].

Регистрация случаев заболевания ЛЗН (по дате постановки окончательного диагноза) отмечена: в апреле – 0,3 %, мае – 0,3 %, июле – 3 %, августе –

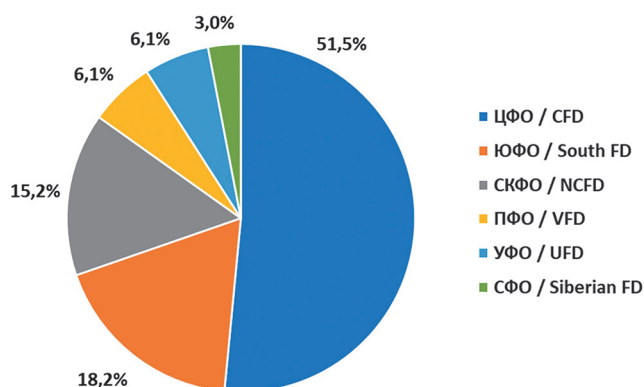


Рис. 2. Распределение случаев заболевания ЛЗН по федеральным округам в 2022 г.

Fig. 2. Distribution of WNF cases by federal districts in 2022

64 %, сентябре – 18 %, октябре – 0,3 % от общего числа случаев. Следовательно, максимальная регистрация случаев наблюдалась в конце лета – начале осени (с пиком в августе), что соответствует среднемноголетнему тренду динамики, сложившемуся в России. Последний случай ЛЗН в 2022 г. отмечен на 40-й неделе (больной выявлен в Краснодарском крае), среднемноголетний показатель – на 42-й неделе, максимально – на 48-й (2018 г.), что свидетельствует о раннем окончании сезона. В целом по России его продолжительность составила 26 недель (в 2021 г. – 16, в 2020 г. – 21, среднемноголетний показатель – 21 неделя).

Полученные в сезон 2022 г. данные о распределении и характере случаев ЛЗН не отражают истинной структуры заболеваемости, поскольку 60 % зарегистрированных больных выявлено Референс-центром путем проведения скринингового обследования определенной группы населения – лихорадящих пациентов, находящихся на амбулаторном лечении или госпитализированных в стационарные медицинские учреждения инфекционного и соматического профиля (в основном с диагнозами ОРВИ, COVID-19, лихорадка неясного генеза и соматическими патологиями). Выявленные в ходе скрининга больные имели преимущественно легкое и реже – среднетяжелое течение без поражения ЦНС и сочетанные с ЛЗН заболевания. В большинстве случаев ЛЗН утяжеляла течение (искажала типичные проявления) сопутствующих соматических заболеваний. В итоге, как и в предыдущие сезоны, в 2022 г. преобладали клинические формы ЛЗН без поражения ЦНС. В среднем по России они составили 85 % от общего числа зарегистрированных случаев (в 2021 г. – 45 %, среднемноголетний показатель – 76 %).

На клинические формы с поражением ЦНС в общей структуре выявленных случаев пришлось 15 % (по одному случаю в Москве, Курской, Астраханской, Омской областях и Республике Дагестан). Все эти случаи выявлены активно специалистами медицинских организаций при обследовании больных с тяжелой нейтроинвазивной симптоматикой неясной этиологии. О случаях смерти, связанных с ЛЗН, не сообщалось. В это же время (сезон 2022 г.) в США удельный вес нейтроинвазивных форм ЛЗН составил 71 %, а смертность от инфекции – 7,6 %, в Греции – 64,3 и 10,9 % соответственно, Италии – 53,1 % (предварительные данные) и 6,3 % соответственно [1, 2, 10].

Таким образом, можно говорить, что в Российской Федерации система эпидемиологического надзора за ЛЗН не обеспечивает мониторинг заболеваемости, включающий полное и своевременное выявление больных с тяжелыми и нейтроинвазивными формами течения ЛЗН, этиологическую верификацию случаев легкого и среднетяжелого течения заболевания и сочетанных форм (в т.ч. с соматическими заболеваниями, сопровождающимися лихорадкой).

В 2022 г. доля городских жителей в структуре заболеваемости ЛЗН составила 73 % (в 2021 г. –

85,5 %, среднемноголетний показатель – 73 %). В субъектах ЦФО среди заболевших ЛЗН на жителей городов пришлось 82,4 %, ЮФО – 66,7 %, СКФО – 40 %, ПФО – 50 %, УФО – 100 % и СФО – 100 %. Наименьший удельный вес городского населения среди заболевших установлен в Курской области и Ставропольском крае (по 33 %). Таким образом, доля городских жителей в совокупной заболеваемости ЛЗН по-прежнему остается высокой. Это свидетельствует о том, что в медицинских организациях сельских районов больных ЛЗН практически не выявляют. По данным эпидемиологических исследований установлено, что сельские жители могут быть обследованы на наличие маркеров возбудителя ЛЗН только при госпитализации в областные (краевые) медицинские организации в случае тяжелого течения заболевания и/или наличия осложнений.

На детей до 14 лет в целом по России пришлось 3 % случаев ЛЗН (1 больной в Краснодарском крае). Референс-центр отмечает, что ранее увеличение числа выявленных детей с ЛЗН от 10 до 20 % в общей структуре заболевших наблюдалось в годы эпидемических подъемов заболеваемости. Тяжесть течения ЛЗН у детей определяется наличием сопутствующих заболеваний, но, как правило, в т.ч. в сезон 2022 г., протекает в легкой форме.

Среди особенностей возрастной структуры заболеваемости в 2022 г. следует отметить существенное увеличение удельного вклада лиц старшей возрастной группы. Показатели этой возрастной категории были одними из самых высоких за весь период наблюдения и составили для группы «60 лет и старше» – 58 % (в 2021 г. – 29 %, среднемноголетний показатель – 28 %), в т.ч. старше 70 лет – 21 % (рис. 3). Свою роль в формировании этого показателя, наиболее вероятно, сыграл выбор Референс-центром контингента обследуемых лихорадящих больных – пациентов стационаров, которыми в большинстве случаев являлись лица старших возрастных групп. В то же время среди больных, выявленных активно в медицинских организациях, 45 % также составили больные категории «60 лет и старше», у которых заболевание протекало в тяжелой форме. По данным эпидемиологических исследований установлены такие сочетанные с ЛЗН заболевания, как COVID-19, ВИЧ-инфекция, гепатит С, злокачественные новообразования, которые определяли тяжесть течения ЛЗН.

В социальной структуре заболевших в 2022 г. выявлено абсолютное преобладание группы «пенсионеры», показатель которой составил самое большое значение за период наблюдения – 52 % (в 2021 г. – 22 %, среднемноголетний показатель – 26 %). Группа неработающих трудоспособного возраста составила 21 % (в 2021 г. – 21 %, среднемноголетний показатель – 20 %). Все остальные социальные группы не имели значимых различий и составляли 27 % от общего количества зарегистрированных больных.

В отличие от всех предшествующих сезонов, в структуре заболеваемости в 2022 г. значительно пре-

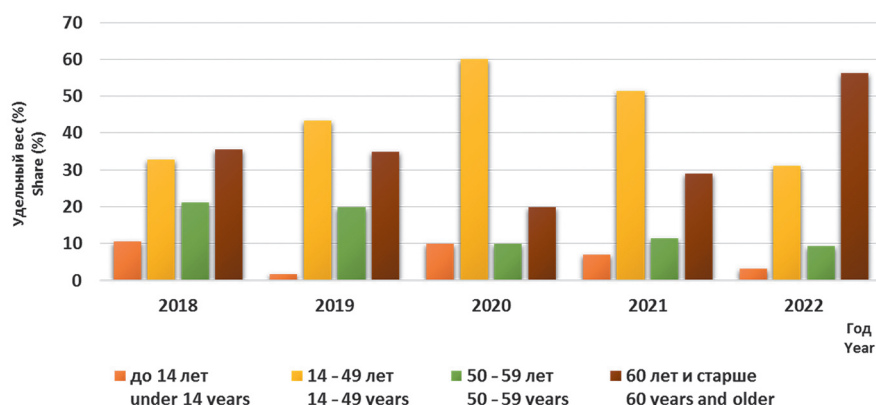


Рис. 3. Возрастная структура заболеваемости ЛЗН в России в 2018–2022 гг.

Fig. 3. Age structure of WNF incidence in the Russia in 2018–2022

обладали женщины (61 %), тогда как удельный вес мужчин составил 39 % (в 2021 г. – 62 %, среднемноголетний показатель – 58 %).

Основная часть больных (76 %) заразилась по месту постоянного проживания (в 2021 г. – 67 %, среднемноголетний показатель – 53,7 %), в т.ч. в городах – 49 % (среднемноголетний показатель – 28,6 %), сельской местности – 27 % (среднемноголетний показатель – 25 %). Это один из самых высоких показателей заражения по месту жительства за годы наблюдения. Инфицирование ВЗН 15 % выявленных больных было связано с пребыванием на дачных (садово-огородных) участках (среднемноголетний показатель – 25 %, самый высокий показатель, 35 %, отмеченный в 2021 г., связан с ограничениями передвижения в связи с пандемией COVID-19, когда основная масса населения летом проживала на дачах). С 2017 г. наметилась тенденция сокращения доли выявленных больных, заразившихся в природных местах массового отдыха (в т.ч. зарубежных): с 50 % в 2017 г. до 20 % в 2018 г., 15 % в 2021 г. и 9 % в 2022 г. (среднемноголетний показатель – 21 %). Это, наиболее вероятно, связано с увеличением доли заболевших старших возрастных групп и снижением миграционной активности населения. Завозные случаи ЛЗН с заражением в зарубежных странах не зарегистрированы. По представленным данным эпидемиологических расследований случаев заболевания, в сезон 2022 г. происходил завоз ЛЗН в субъекты Российской Федерации с заражением в других регионах страны: в Ростовскую область (1 – из Республики Крым), в Москву (1 – наиболее вероятно из Московской области), в ХМАО (1 – наиболее вероятно с заражением в Краснодарском крае).

У 100 % больных ЛЗН в 2022 г. клинический диагноз подтвержден обнаружением специфических антител класса IgM методом ИФА и у 12 % – выявлением РНК ВЗН методом ОТ-ПЦР. РНК ВЗН обнаружена в пробах клинического материала от больных в 4 субъектах: г. Москва (ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии»), Курская область (у 1 больного, ОБУЗ «Областная клиническая инфекционная больница им. Н.А. Семашко»), Краснодарский край (ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в

Краснодарском крае»), Республика Дагестан (ФКУЗ «Дагестанская ПЧС»).

По результатам эпидемиологического расследования случаев заболевания ЛЗН в сезон 2022 г. установлено, что в среднем окончательный диагноз выставлен на 13-й день от момента обращения больного за медицинской помощью (в 2021 г. – на 6-й день, среднемноголетний показатель за 2017–2021 гг. – на 8-й день).

Максимально длительный период постановки окончательного диагноза установлен в ХМАО – на 44-й день от момента обращения за медицинской помощью (стационарные больные обследованы в рамках планового скрининга лихорадящих, проведенного по заданию Управления Роспотребнадзора), в Ростовской области – на 38-й день (с учетом периода обращения больного в медицинские организации по месту заражения – Республике Крым) и 33-й день (случай местного заражения). Самый короткий период этиологической верификации заболевания составил 5 дней (по 1 случаю в Тамбовской и Тверской областях, Краснодарском крае). Эти показатели свидетельствуют о недостаточной подготовленности медицинских организаций к диагностике ЛЗН, в т.ч. на территориях высокого риска и с ежегодной регистрацией заболеваемости.

Результаты мониторинга за возбудителем ЛЗН в Российской Федерации в 2022 г. Активное выявление больных ЛЗН среди лихорадящих и больных, имеющих симптомы, сходные с ЛЗН, проводилось в 2022 г. в 40 субъектах Российской Федерации (в 2021 г. – 29), что составило 54 % от общего количества территорий с подтвержденной циркуляцией ВЗН. Лабораторное обследование стационарных и амбулаторных лихорадящих больных осуществлялось в 12 субъектах ЦФО (обследовано 446 человек), 3 субъектах СЗФО (48), 7 субъектах ПФО (118), 2 субъектах УФО (46), 2 субъектах ДФО (2), 6 субъектах СФО (126), 2 субъектах СКФО (184) и 6 субъектах ЮФО (358 человек).

В целом в 2022 г. сохранилась тенденция снижения объемов обследования больных с симптоматикой, не исключающей ЛЗН. Общее количество обследованных (1328 человек) по сравнению со среднемноголетним уровнем (3166 человек в год) снизилось

в 2,4 раза. В 16 (40 %) субъектах число обследованных не превысило 10 человек за эпидемический сезон, в т.ч. на территориях, где достоверно установлена циркуляция ВЗН. Из числа субъектов с ранее зарегистрированной заболеваемостью ЛЗН населения работа по активному выявлению больных в 2022 г. не проводилась в Республике Калмыкия, Чеченской Республике, Саратовской, Ульяновской (скрининг выполнен Референс-центром) и Калужской областях.

В субъектах ЮФО, характеризующихся наиболее интенсивным течением эпизоотического и эпидемического процессов, объем исследований на наличие маркеров ВЗН находился на крайне низком уровне. В Астраханской области количество обследованных на ЛЗН больных, обратившихся за медицинской помощью, составило 40 человек, Волгоградской – 106, Ростовской – 67, Республике Крым и г. Севастополе – 56, Республике Адыгея – 14, Краснодарском крае – 75. Среди других территорий юга европейской части России обследования на ЛЗН лихорадящих больных проводились только в 2 из 7 субъектов СКФО (Республика Дагестан и Ставропольский край).

Одним из факторов, определивших низкие объемы обследований лихорадящих больных и включение большого числа субъектов из этой работы, является отсутствие или низкая укомплектованность средствами лабораторной диагностики ЛЗН. Следует отметить, что недостаточно качественно была проведена работа по обеспечению подготовки специалистов медицинских организаций. Об организации областных конференций по особо опасным инфекциям с возможным включением вопросов ЛЗН с целью подготовки кадров к началу эпидемического сезона сообщили управления Роспотребнадзора в 33 субъектах России: ЦФО – 11, СЗФО – 3, СФО – 3, ДВФО – 2, ЮФО – 5, ПФО – 5, УФО – 1, СКФО – 3.

Мониторинг циркуляции возбудителя ЛЗН в носителях и переносчиках проводился в 73 субъектах (в 2021 г. – 63). Из территорий с потенциально высоким эпидемиологическим риском эпизоотологический мониторинг ЛЗН практическими учреждениями Роспотребнадзора не осуществлялся в Чеченской Республике, Карачаево-Черкесской Республике, республиках Ингушетия и Дагестан.

Исследования основных носителей (птиц) на инфицированность ВЗН в 2022 г. выполнены в 25 субъектах (в 2021 г. – 19), на юге европейской части России – только в 4 субъектах (Волгоградская, Ростовская области, Республика Крым и Ставропольский край). Мониторинг инфицированности основных переносчиков (комаров) осуществлялся в 65 субъектах (в 2021 г. – 58), в т.ч. в 50 (77 %) субъектах объемы исследований составили менее 100 проб, клещей – в 44 субъектах (в 2021 г. – 41), мелких млекопитающих – в 30 субъектах (в 2021 г. – 26), крупных млекопитающих как индикаторов возможного осложнения эпидемиологической ситуации – всего в 3 субъектах (2021 г. – 4).

Общая выявляемость маркеров ВЗН оставалась крайне низкой и в целом по России составила 0,2 %. Маркеры ВЗН в носителях и переносчиках выявлены на территории 7 субъектов (в 2021 г. – 7). РНК ВЗН обнаружена в комарах *Anopheles maculipennis*, *Culex pipiens* в Астраханской области (ФКУЗ «Астраханская ПЧС»), клещах *Hyalomma scupense*, комарах *Cx. modestus* в Волгоградской области (ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Волгоградской области»), в птицах – большой баклан *Phalacrocorax carbo* в Саратовской области (ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора), комарах *Cx. pipiens* в Республике Крым (ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Крым и городе федерального значения Севастополе»); антигены ВЗН – в комарах *An. maculipennis* в Краснодарском крае (ФКУЗ «Причерноморская ПЧС»), антигены и/или РНК ВЗН – в комарах *Aedes cataphylla*, *Cx. pipiens*, *An. maculipennis*, клещах *H. marginatum*, *Dermacentor reticulatus*, мыши домовая, белозубке малой, малой лесной мыши, обыкновенной полевке, полевке рыжей в Ростовской области (ФКУЗ «Ростовский НИПЧИ» и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области»), антитела к ВЗН – у 5,4 % обследованных лошадей в Курской области (ОБУ «Курская областная ветеринарная лаборатория»).

Серологическое обследование выборочных групп здорового населения проведено в 51 субъекте Российской Федерации (в 2021 г. – 44), что составило 69 % территорий с установленной циркуляцией ВЗН. Серологические исследования по выявлению антител к ВЗН класса IgG не выполнялись на отдельных территориях с ранее зарегистрированной заболеваемостью ЛЗН: в республиках Адыгея и Татарстан, Чеченской Республике, Калужской, Тамбовской и Саратовской областях. Наименее охваченными серологическим мониторингом являются СФО и ДФО, где ежегодно исследования проводят только 4–5 субъектов, что не позволяет оценить на большинстве входящих в него территорий интенсивность циркуляции возбудителя ЛЗН.

Антитела класса IgG к ВЗН обнаружены у населения 29 субъектов России (в 2021 г. – 18). Положительные серологические находки среди здорового населения (доноры, животноводы) выявлены у 1,1–19,0 % обследованных на территориях ЦФО (Ивановская*, Курская, Липецкая, Рязанская, Смоленская области; 15,6–18,0 % – ЮФО (Ростовская, Волгоградская и Астраханская области); 1,5–41,0 % – ПФО (Ульяновская область*, Пермский край*); 45 % – УФО (Свердловская область*); 8,3 % – СКФО (Кабардино-Балкарская Республика) (символом * здесь и далее обозначены эндемичные по клещевому вирусному энцефалиту территории).

Уровень иммунной прослойки к ВЗН среди здоровых жителей отдельных населенных пунктов составил 1,0–15,8 % обследованных в субъектах ЦФО (Курская, Белгородская, Воронежская,

Орловская и Тульская области, г. Москва); 2,7–11,1 % – СЗФО (Мурманская*, Архангельская*, Новгородская*области); 6,6–12,0 % – СФО (Алтайский край*, Кемеровская область – Кузбасс*); 1,0–15,6 % – ЮФО (Краснодарский край, Республика Крым*, Волгоградская область, Республика Калмыкия); 2,9–4,4 % – ПФО (Пензенская, Ульяновская* области); 4,0 % – УФО (Курганская область*); 0,7–21,4 % – СКФО (Ставропольский край и Республика Дагестан).

Результаты серологических исследований свидетельствуют о продолжающейся циркуляции ВЗН в различных регионах России и интенсивном контакте населения с возбудителем. Однако в ряде южных территорий с высоким эпидемиологическим риском установлен низкий процент положительных находок (Краснодарский и Ставропольский край – 1,0 и 0,7 % соответственно), что не соответствует интенсивности течения эпидемического процесса и требует детального анализа всех этапов организации и проведения серологического скрининга.

По-прежнему сохраняется проблема получения объективных данных об уровне иммунной прослойки к ВЗН на территориях, эндемичных по клещевому вирусному энцефалиту [11]. Исследования по дифференциации иммунного ответа к вирусам клещевого энцефалита и Западного Нила достоверно проведены в Курганской, Архангельской, Ульяновской областях; частично, без получения достоверного результата – в Новгородской, Кемеровской области – Кузбассе, Пермском крае; не проведены – в Мурманской, Ивановской, Свердловской областях, Республике Крым, Алтайском крае.

У населения 22 субъектов по результатам изучения иммунной прослойки антитела класса IgG к ВЗН не выявлены, что может быть связано с небольшой выборкой обследуемых. На 95 % этих территорий количество обследуемых не соответствовало показателю, регламентированному в действующих нормативно-методических документах МУ 3.1.3.2600-10 «Мероприятия по борьбе с лихорадкой Западного Нила на территории Российской Федерации» (не менее 100 человек из каждой выборочной группы).

С целью повышения качества серологического мониторинга необходимо увеличение объемов обследования, количества охваченных регионов, а также проведение дифференциально-диагностических лабораторных исследований прежде всего на территориях, эндемичных по клещевому вирусному энцефалиту.

Результаты исследований Референс-центра.

В 2022 г. осуществлены выезды специалистов Референс-центра в 12 субъектов Российской Федерации (Астраханская, Самарская, Тульская, Ульяновская, Волгоградская, Курская, Липецкая, Ростовская области, Ставропольский край, республики Калмыкия, Адыгея и Карачаево-Черкесская Республика) с целью получения объективной инфор-

мации об интенсивности течения эпизоотического процесса ВЗН. На указанных территориях проведен отбор проб переносчиков и носителей возбудителя ЛЗН, в т.ч. с участием специалистов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» и противочумных учреждений, определение их видового состава и исследование на базе Референс-центра. Также организован сбор зооэнтомологического материала силами специалистов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в 4 субъектах (Белгородская, Владимирская, Тверская и Тамбовская области), ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» (в рамках совместной научно-исследовательской работы) в 5 субъектах (ХМАО, Тюменская, Кемеровская, Новосибирская, Омская области) с последующей доставкой и исследованием его в лаборатории Референс-центра. На территории Республики Крым и Запорожской области мониторинг осуществляли специалисты Референс-центра в составе специализированной противоэпидемической бригады (СПЭБ) Роспотребнадзора.

В общей сложности методом ОТ-ПЦР на стационарной лабораторной базе исследовано 4077 проб зооэнтомологического материала (2272 пробы комаров, 1194 пробы клещей, 325 проб грызунов, 283 пробы птиц, 3 пробы мошек) из 19 субъектов, на базе мобильного комплекса СПЭБ Роспотребнадзора – 936 проб членистоногих из Республики Крым и Запорожской области. РНК ВЗН выявлена в 87 пробах (1,7 %), полученных из клещей *H. marginatum*, комаров *Cx. pipiens*, *An. hyrcanus*, *Cx. modestus*, *Ae. vexans*, *Ae. caspius* из Волгоградской области, клещей *Ixodes ricinus*, комаров *Ae. caspius* из Ростовской области, клещей *H. marginatum*, комаров *Cx. pipiens* из Астраханской области, комаров *Cx. pipiens* из Республики Калмыкия, комаров *Cx. pipiens*, *Cx. modestus* из Карачаево-Черкесской Республики, комаров *Coquillettidia richiardii* из Тульской области, комаров *Cx. pipiens* из Ставропольского края, комаров *Ae. caspius*, *Cx. modestus*, *Cx. pipiens* из Республики Крым, *Cx. pipiens* – из Запорожской области.

По результатам типирования установлена принадлежность выделенных фрагментов РНК ВЗН ко 2-му генотипу в пробах от комаров *Cx. pipiens*, отловленных на территории Республики Калмыкия, Астраханской области и Ставропольского края, комаров *Cx. pipiens*, *An. hyrcanus*, *Cx. modestus*, *Ae. vexans*, *Ae. caspius* – Волгоградской области, комаров *Ae. caspius* и клещей *I. ricinus* – Ростовской области.

С целью оценки интенсивности течения эпидемического процесса, выявления скрытой заболеваемости и наличия иммунной прослойки у населения к ВЗН в 11 субъектах выполнены скрининговые обследования лихорадящих больных, находящихся на стационарном и/или амбулаторном лечении. Всего исследована 1331 проба клинического материала. Специфические к ВЗН иммуноглобулины класса IgM обнаружены у 20 (1,5 %) человек в 7 субъектах

(Карачаево-Черкесская Республика – 1, Ульяновская область – 2, Тверская – 7, Тамбовская – 4, Курская – 2, Владимирская – 1, Ставропольский край – 3), которым был выставлен диагноз «ЛЗН». Наличие иммунной прослойки к ВЗН установлено у населения Карачаево-Черкесской Республики (5,7 %), Тульской (15,4 %), Ульяновской (3,4 %), Тверской (3 %), Самарской (6 %), Тамбовской (0,9 %), Курской (11,1 %), Липецкой (4,9 %), Белгородской (8,4 %) областей, Ставропольского края (5 %). Из общего числа проб, положительных на наличие антител класса IgG, в 70 образцах определена авидность антител. Низкоавидные антитела, свидетельствующие о недавнем (не более 3 месяцев) инфицировании ВЗН, обнаружены в 21 пробе (30 %) у населения 6 субъектов. Также получены данные, подтверждающие высокий уровень иммунной прослойки к ВЗН у здорового населения Запорожской области (24,5 % положительных находок).

В 2022 г. в рамках нормативно закреплённых функций Референс-центром проведено исследование проб клинического материала с целью подтверждения диагноза «ЛЗН» от пациентов из Тамбовской, Владимирской, Омской областей и проведение углубленных молекулярно-генетических исследований клинического и биологического материала из Курской, Астраханской, Волгоградской областей, Республики Дагестан и Краснодарского края. Выделенные фрагменты РНК из клинического материала от двух больных из Курской области и Краснодарского края типированы как 2-й генотип ВЗН.

Таким образом, впервые подтверждены случаи ЛЗН во Владимирской и Тверской областях, Карачаево-Черкесской Республике. По результатам серологических исследований и определения авидности антител класса IgG получены данные, свидетельствующие о продолжающемся интенсивном контакте с ВЗН населения европейской части России. Установлено, что на этой территории в 2022 г. циркулировал ВЗН 2-го генотипа.

Характеристика вирусных изолятов 2021–2022 гг. По результатам вирусологического исследования в 2022 г. выявлено 7 изолятов ВЗН в 6 субъектах Российской Федерации (Волгоградская, Астраханская, Курская области, Республика Калмыкия, Ставропольский и Краснодарский края). Референс-центром охарактеризованы геномы 4 изолятов из Волгоградской и Астраханской областей, Ставропольского края и Республики Калмыкия. Филогенетический анализ на основании выравненных последовательностей геномов ВЗН из базы данных NCBI и последовательностей, полученных специалистами Референс-центра, показал, что все изоляты относятся к новому геноварианту 2-го генотипа ВЗН, впервые выявленному в 2021 г. в России и, по всей видимости, закрепившемуся на территории юга европейской части (рис. 4).

Этот геновариант не представлен в GenBank NCBI. Топология филогенетического дерева по-

зволяет предположить, что на территорию России он попал вследствие заноса перелетными птицами через побережье Каспийского моря и далее распространялся на северо-запад. Отдельного внимания заслуживает относительно большая генетическая дистанция между изолятом Ставрополь 1451/22 и всеми прочими представителями данного геноварианта, обнаруженными в 2021–2022 гг., что можно объяснить независимыми друг от друга интродукциями данного патогена на территорию юга России.

Изучение патогенных свойств штаммов ВЗН из Волгоградской области, принадлежащих к различным геновариантам 2-го генотипа, показало увеличение продолжительности инкубационного периода болезни у лабораторных животных при их заражении штаммами нового геноварианта, выделенными в 2021 г., по сравнению со штаммами 2018 г. (6–7 суток и 3–4 дня соответственно). Также отмечено снижение летальности у лабораторных животных при их заражении штаммами нового геноварианта (40 % по сравнению с 60 %).

Прогноз развития эпидемиологической ситуации по ЛЗН в Российской Федерации на 2023 г. Прогнозирование климатических факторов, являющихся ведущими в обеспечении благоприятных условий для циркуляции возбудителя ЛЗН в природных и антропоургических очагах, в настоящее время носит вероятностный характер.

Из-за отсутствия достоверного климатического прогноза на весенне-летний период 2023 г. можно говорить только об общих тенденциях, наблюдаемых в последние годы. По предварительным данным Гидрометеоцентра, в условиях продолжающихся климатических изменений (потепления) среднемесячная температура воздуха летом 2023 г., вероятно, превысит значения климатической нормы (на 2–3 °C). Подчеркивается, что данные изменения скорректированы Росгидрометом в 2022 г. температурными нормами последних лет и показателями температурных аномалий в сторону увеличения. В целом температурный оптимум для передачи ВЗН на территории европейской части России (за исключением южных областей) установится приблизительно в середине июня, а в августе, когда температура воздуха будет максимальной, прогнозируется наибольший риск инфицирования. Интенсификация проявлений эпидемического процесса ожидается со второй половины июля до конца сентября. На южных территориях страны, где оптимальные климатические условия присутствуют в течение всего летнего периода, наступление эпидемического сезона возможно в конце июня – начале июля, а его потенциальная продолжительность определяется динамикой температуры воздуха в осенний период: при теплой осени риск инфицирования ВЗН может сохраняться до середины ноября.

Возникновение случаев заболевания ЛЗН прогнозируется в регионах, характеризующихся длительной регистрацией проявлений эпидемического

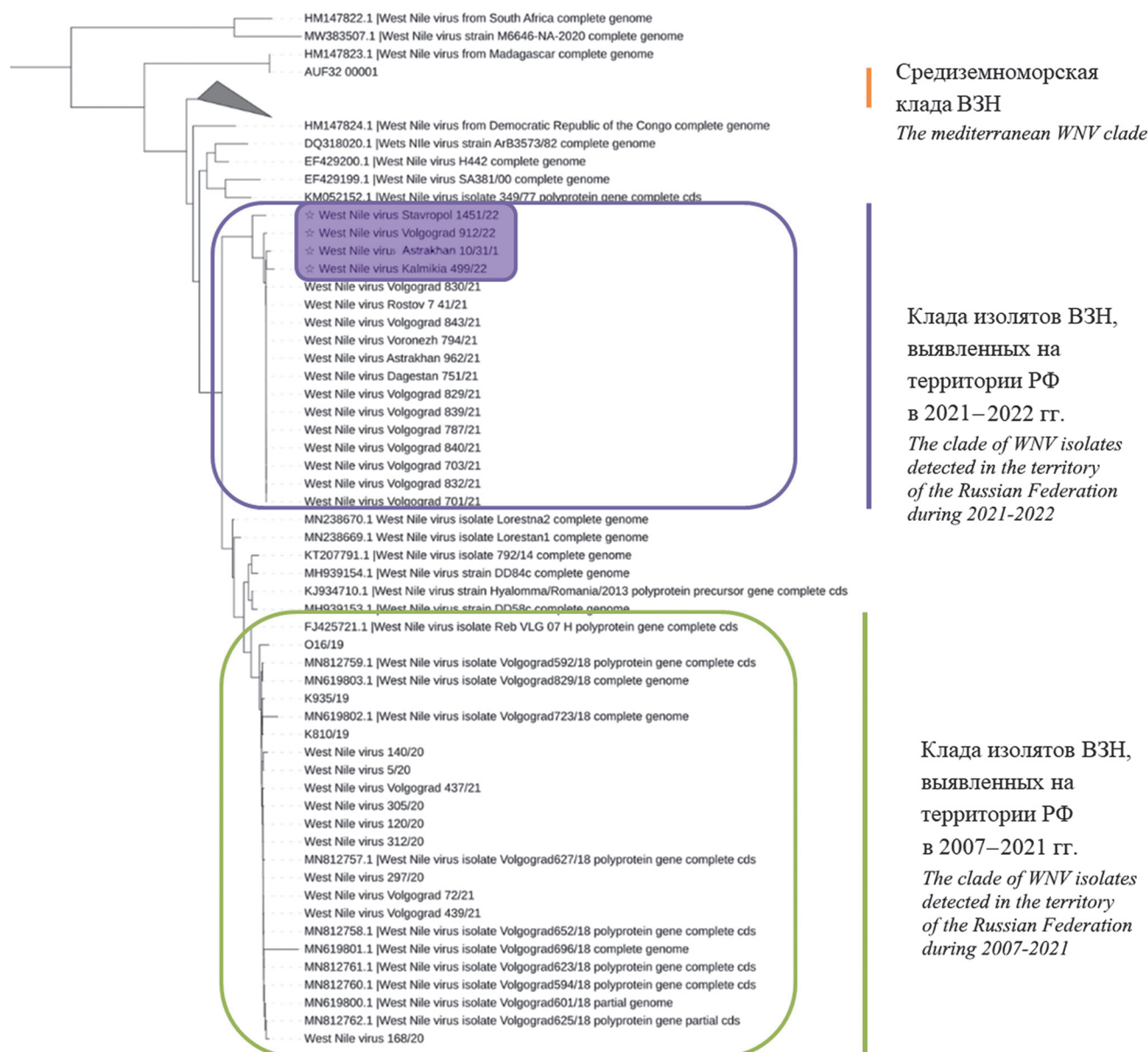


Рис. 4. Дендрограмма, построенная на основе выравненных последовательностей геномов изолятов ВЗН 2-го генотипа, методом присоединения соседей [12]. Изоляты 2022 г. отмечены символом ☆

Fig. 4. Dendrogram constructed based on the aligned genome sequences of WNV isolates of the lineage 2 by the neighbor-joining method [12]. Isolates of 2022 are marked with the star symbol ☆

процесса и доказанной циркуляцией возбудителя: субъекты ЮФО, ПФО, СКФО и ЦФО. При создании оптимальных климатических условий (возможно, на отдельных территориях субъекта) заболевания возможны и на остальной территории европейской части России, а также в южных областях Урала и Западной Сибири. Число зарегистрированных больных ЛЗН на всех территориях будет полностью зависеть от качества проведения эпидемиологического надзора, в первую очередь – от организации мероприятий по выявлению и обследованию больных с симптоматикой, не исключающей ЛЗН.

Следует подчеркнуть, что специалистами Референс-центра продолжается разработка методики количественного прогнозирования развития эпидемической ситуации по ЛЗН, базирующейся на

принципах машинного обучения и нейросетевого моделирования. С ее использованием подготовлен прогноз на 2023 г. в отношении трех субъектов ЮФО, вносящих наибольший вклад в общую заболеваемость ЛЗН в Российской Федерации: Волгоградской, Астраханской и Ростовской областей. Прогноз основан на показателях температуры воздуха в сезон передачи ВЗН (среднемесячные значения за период апрель – октябрь), рассчитанных согласно многолетнему тренду. На территории данных субъектов в 2023 г. прогнозируется заболеваемость выше средне-многолетнего уровня. Так, в Волгоградской области при соответствии расчетной (20 °C) температуры воздуха в сезон передачи ВЗН фактический показатель заболеваемости может превысить среднемного-летнее значение в 3,1 раза. В Астраханской области,

где предполагаются более высокие значения расчетной температуры воздуха (21,7 °C), ожидается заболеваемость в 2,1 раза выше среднемноголетней, а в Ростовской области – выше в 2,9 раза (при температуре воздуха 20,6 °C). При планировании профилактических и противоэпидемических мероприятий в сезон 2023 г. необходимо учитывать, что прогнозируемые показатели могут совпадать с фактическими при условии отсутствия существенных изменений в других природно-климатических и социальных факторах, влияющих на циркуляцию ВЗН в эпизоотическом и эпидемическом циклах, а также при обеспечении качественного мониторинга заболеваемости ЛЗН.

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

Выражаем благодарность руководителям и сотрудникам управлений Роспотребнадзора, центров гигиены и эпидемиологии субъектов Российской Федерации, а также противочумных институтов и противочумных станций Роспотребнадзора, предоставивших данные для проведения эпидемиологического анализа.

Список литературы

1. Weekly updates: 2022 West Nile virus transmission season. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc> (дата обращения 28.11.2022).
2. Preliminary Maps & Data for 2022. West Nile Virus Disease Cases by State 2022. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/preliminarymapsdata2022/disease-cases-state-2022.html> (дата обращения 18.12.2022).
3. West Nile virus and other mosquito-borne diseases in Canada: Surveillance and monitoring. Government of Canada. (Cited 17 Nov 2022). [Internet]. Available from: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/west-nile-virus/surveillance-west-nile-virus-west-nile-virus-weekly-surveillance-monitoring.html> (дата обращения 17.11.2022).
4. WHO Africa. Weekly bulletin on outbreaks and other emergencies. Week 37: 5-11 September 2022. [Электронный ресурс]. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/362665/OEW37-0511092022.pdf> (дата обращения 25.12.2022).
5. Chowdhury P., Khan S.A. Global emergence of West Nile virus: Threat & preparedness in special perspective to India. *Indian. J. Med. Res.* 2021; 154(1):36–50. DOI: 10.4103/ijmr.IJMR_642_19.
6. Notifiable conditions annual reporting. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.health.qld.gov.au/clinical-practice/guidelines-procedures/diseases-infection/surveillance/reports/notifiable/annual> (дата обращения 27.12.2022).
7. Бородай Н.В., Несговорова А.В., Фомина В.К., Мендыгалиева А.К., Батурич А.А., Антонов А.С., Авдюшева Е.Ф., Молчанова Е.В., Никитин Д.Н., Путинцева Е.В. Обнаружение вируса Западного Нила в зимующих комарах на территории Волгоградской области. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНСО*. 2022; 30(4):70–6. DOI: 10.35627/2219-5238/2022-30-4-70-76.
8. Kampen H., Holicki C.M., Ziegler U., Groschup M.H., Tews B.A., Werner D. West Nile virus mosquito vectors (Diptera: Culicidae) in Germany. *Viruses*. 2020; 12(5):493. DOI: 10.3390/v12050493.
9. Rudolf I., Betášová L., Blažejová H., Vencliková K., Straková P., Šebesta O., Mendel J., Bakonyi T., Schaffner F., Nowotny N., Hubálek Z. West Nile virus in overwintering mosquitoes, central Europe. *Parasit. Vectors*. 2017; 10(1):452. DOI: 10.1186/s13071-017-2399-7.
10. Εβδομαδιαία έκθεση επιδημιολογικής επιτήρησης της λοίμωξης από ιό του Δυτικού Νείλου σε ανθρώπους, Ελλάδα, 6 Δεκεμβρίου 2022. (Cited 29 Dec 2022). [Internet]. Available from: https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2022/07/report_wnv_20221206_gr.pdf.
11. Regarding the list of endemic territories as regards tick-borne viral encephalitis in 2021 (Cited 05 Nov 2022). [Internet]. Available from: <https://www.rosotrebнадзор.ru/upload/iblock/65f/g8k6yvvcz02btzheswdbeaiy7c4d4qe/O-perechne-endemichnykh-terr-po-KVE-v-2021-g.pdf>.
12. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 1987; 4(4):406–25. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.

References

1. Weekly updates: 2022 West Nile virus transmission season. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). (Cited 28 Nov 2022). [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/west-nile-fever/surveillance-and-disease-data/disease-data-ecdc> (дата обращения 28.11.2022).
2. Preliminary Maps & Data for 2022. West Nile Virus Disease Cases by State 2022. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), USA. (Cited 18 Dec 2022). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/preliminarymapsdata2022/disease-cases-state-2022.html>.
3. West Nile virus and other mosquito-borne diseases in Canada: Surveillance and monitoring. Government of Canada. (Cited 17 Nov 2022). [Internet]. Available from: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/west-nile-virus/surveillance-west-nile-virus-west-nile-virus-weekly-surveillance-monitoring.html>.
4. WHO Africa. Weekly bulletin on outbreaks and other emergencies. Week 37: 5-11 September 2022. (Cited 25 Dec 2022). [Internet]. Available from: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/362665/OEW37-0511092022.pdf>.
5. Chowdhury P., Khan S.A. Global emergence of West Nile virus: Threat & preparedness in special perspective to India. *Indian. J. Med. Res.* 2021; 154(1):36–50. DOI: 10.4103/ijmr.IJMR_642_19.
6. Notifiable conditions annual reporting. (Cited 27 Dec 2022). [Internet]. Available from: <https://www.health.qld.gov.au/clinical-practice/guidelines-procedures/diseases-infection/surveillance/reports/notifiable/annual>.
7. Borodai N.V., Nesgovorova A.V., Fomina V.K., Mendygaliyeva A.K., Baturin A.A., Antonov A.S., Avdiusheva E.F., Molchanova E.V., Nikitin D.N., Putintseva E.V. [Detection of West Nile Virus in Overwintering Mosquitoes in the Volgograd Region]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya – ZNISO [Public Health and Life Environment – PH&LE]*. 2022; 30(4):70–6. DOI: 10.35627/2219-5238/2022-30-4-70-76.
8. Kampen H., Holicki C.M., Ziegler U., Groschup M.H., Tews B.A., Werner D. West Nile virus mosquito vectors (Diptera: Culicidae) in Germany. *Viruses*. 2020; 12(5):493. DOI: 10.3390/v12050493.
9. Rudolf I., Betášová L., Blažejová H., Vencliková K., Straková P., Šebesta O., Mendel J., Bakonyi T., Schaffner F., Nowotny N., Hubálek Z. West Nile virus in overwintering mosquitoes, central Europe. *Parasit. Vectors*. 2017; 10(1):452. DOI: 10.1186/s13071-017-2399-7.
10. Εβδομαδιαία έκθεση επιδημιολογικής επιτήρησης της λοίμωξης από ιό του Δυτικού Νείλου σε ανθρώπους, Ελλάδα, 6 Δεκεμβρίου 2022. (Cited 29 Dec 2022). [Internet]. Available from: https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2022/07/report_wnv_20221206_gr.pdf.
11. Regarding the list of endemic territories as regards tick-borne viral encephalitis in 2021 (Cited 05 Nov 2022). [Internet]. Available from: <https://www.rosotrebнадзор.ru/upload/iblock/65f/g8k6yvvcz02btzheswdbeaiy7c4d4qe/O-perechne-endemichnykh-terr-po-KVE-v-2021-g.pdf>.
12. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 1987; 4(4):406–25. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454.

Authors:

Putintseva E.V., Udovichenko S.K., Nikitin D.N., Boroday N.V., Baturin A.A., Machneva A.Yu., Antonov A.S., Zarubin N.A., Toporkov A.V. Volgograd Research Anti-Plague Institute, 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Об авторах:

Путинцева Е.В., Удовиченко С.К., Никитин Д.Н., Бородай Н.В., Батурич А.А., Мачнева А.Ю., Антонов А.С., Зарубин Н.А., Топорков А.В. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-85-95

УДК 616.98:578.8(470)

Т.А. Савицкая¹, А.В. Иванова², Г.Ш. Исаева^{1,3}, И.Д. Решетникова^{1,4}, В.А. Трифонов¹, В.Б. Зиятдинов¹,
Ш.В. Магеррамов², Р.М. Хусаинова¹, Д.В. Транквилевский⁵

Анализ эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г.

¹ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», Казань, Российская Федерация;

²ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;

³ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация; ⁴Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Российская Федерация; ⁵ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация

В работе проведен анализ эпидемиологического процесса геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) в Российской Федерации в разрезе федеральных округов в 2022 г. и подготовлен прогноз заболеваемости ГЛПС на 2023 г. В 2022 г. в России отмечен рост заболеваемости ГЛПС в три раза по сравнению с показателями 2021 г. Результаты эпизоотологических обследований и лабораторных исследований в отдельных федеральных округах свидетельствуют о сохраняющейся напряженной эпидемиологической ситуации по ГЛПС. В ряде регионов страны прогнозируется высокий риск заражения ГЛПС в связи с благоприятными природно-климатическими условиями зимнего периода 2022/23 г. для резервуарных хозяев патогенных для человека хантавирусов. Выявление инфицированных грызунов свидетельствует о высокой вероятности осложнения эпидемиологической обстановки на территориях повышенной эпидемической опасности по ГЛПС.

Ключевые слова: хантавирусные инфекции, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, хантавирусный пульмональный синдром, прогноз эпидемиологической ситуации, мелкие млекопитающие.

Корреспондирующий автор: Савицкая Татьяна Александровна, e-mail: kniem@mail.ru.

Для цитирования: Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифонов В.А., Зиятдинов В.Б., Магеррамов Ш.В., Хусаинова Р.М., Транквилевский Д.В. Анализ эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:85–95. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-85-95
Поступила 24.03.2023. Принята к публ. 28.03.2023.

T.A. Savitskaya¹, A.V. Ivanova², G.Sh. Isaeva^{1,3}, I.D. Reshetnikova^{1,4}, V.A. Trifonov¹, V.B. Ziatdinov¹,
Sh.V. Magerramov², R.M. Khusainova¹, D.V. Trankvilevsky⁵

Analysis of the Epidemiological Situation of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Russian Federation in 2022 and Forecast of its Development for 2023

¹Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russian Federation;

²Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation;

³Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation;

⁴Kazan(Privolzhsky) Federal University, Kazan, Russian Federation;

⁵Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The paper provides the analysis of epidemiological process of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in the Russian Federation in the context of federal districts in 2022 and a forecast of the HFRS incidence for 2023. According to the results of the analysis, there was a three-fold increase in the morbidity rates of HFRS in Russia in 2022 as compared to the indicators of 2021. The evidence of epizootiological survey and laboratory studies in certain federal districts of the Russian Federation indicate the continuing tense epidemiological situation on HFRS. In a number of regions of the country, high risk of infection with HFRS is predicted due to the favorable natural and climatic conditions of the winter period 2022/2023 for reservoir hosts of pathogenic for humans Hantaviruses. The findings of infected rodents attest to a high probability of complication of the epidemiological situation in the territories of increased epidemic hazard as regards HFRS.

Key words: hantavirus infections, hemorrhagic fever with renal syndrome, hantavirus pulmonary syndrome, forecast of epidemiological situation, small mammals.

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

Corresponding author: Tatyana A. Savitskaya, e-mail: kniem@mail.ru.

Citation: Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Magerramov Sh.V., Khusainova R.M., Trankvilevsky D.V. Analysis of the Epidemiological Situation of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Russian Federation in 2022 and Forecast of its Development for 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:85–95. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-85-95

Received 24.03.2023. Accepted 28.03.2023.

Savitskaya T.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6229-0387>

Ivanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4849-3866>

Isaeva G.Sh., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1462-8734>

Reshetnikova I.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3584-6861>

Trifonov V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1810-1825>

Ziatdinov V.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8349-3757>

Magerramov Sh.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4733-3959>

Trankvilevsky D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4896-9369>

За последние несколько десятилетий хантавирусная инфекция значительно расширила свои границы. Заболеваемость стали регистрировать чаще, а масштабы отмечаемых вспышек заметно увеличились. Это во многом обусловлено повышением уровня клинической осведомленности, разработкой чувствительных диагностических тестов, интенсивными исследованиями в области эпидемиологии болезни. С развитием нарастающего интереса среди исследователей к хантавирусным болезням очаги этого заболевания все чаще открывают на новых, ранее малоизученных территориях. В настоящее время известно, что хантавирусная инфекция присутствует на всех континентах, кроме Антарктиды, а спектр заболеваний, вызываемых хантавирусами, варьируется в зависимости от конкретного вируса. В современном мире установлена патогенность для человека более 20 хантавирусов, способных вызывать заболевания в виде специфической почечной недостаточности (геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, ГЛПС) с летальностью от 0,1 до 12 % [1] и более тяжело протекающего варианта с поражением легочной ткани и развитием тяжелого геморрагического синдрома (хантавирусный пульмональный синдром, ХПС).

По оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно хантавирусными болезнями заболевает от 100 до 200 тыс. человек во всем мире. На Азиатский регион приходится наибольшее число ежегодно выявляемых случаев, вместе с тем заболеваемость хантавирусными болезнями в Северной и Южной Америке и Европе с каждым годом неуклонно растет. Во многих странах (Африканского региона, Юго-Восточной Азии) эпидемиологический надзор за хантавирусной инфекцией не установлен, в связи с чем реальные масштабы распространения болезни могут быть намного значительнее, чем известно на сегодняшний день.

В Азии наибольшее количество случаев заболевания ГЛПС регистрируется в Китае, где эндемичной считается вся территория страны. Ежегодно на долю Китая приходится от 40 до 50 % от общемировой заболеваемости ГЛПС, с уверенным трендом к снижению в последние годы [2–4]. С 2000 г. благодаря масштабной программе вакцинации населения ежегодное число случаев заболевания ГЛПС сократилось более чем в 3 раза – с 37814 в 2000 г. до 9000 в 2018 г. В 2021 г., по данным Центра по контролю и профилактике заболеваний Китая, число случаев ГЛПС в стране составило 9187 (рост на 13 % по сравнению с 2020 г.), из которых закончились летально 64 случая (коэффициент летальности – 0,7 %). К эндемичным по ГЛПС странам региона относятся Республика Корея (до 500 случаев ежегодно), Япония, Малайзия, Вьетнам, Сингапур, Таиланд и Австралия (спорадическая заболеваемость) [5, 6]. Серологические подтверждения наличия хантавирусной инфекции обнаружены в Лаосе и в островных государствах [7].

В Европейском регионе циркулирующие хантавирусы: *Puumala*, *Dobrava-Belgrade*, *Kurkino*,

Saaremaa и *Seul* – обуславливают заболеваемость ГЛПС в большинстве европейских стран. Ежегодное количество заболевших заметно варьируется в разных странах, однако преобладающее большинство регистрируется в Финляндии (до 60 % от общеевропейской заболеваемости) и Германии (10–12 %). По данным Европейского бюро ВОЗ, за период с 2011 по 2021 г. в регионе зарегистрировано 69759 случаев заболевания ГЛПС в 29 странах. В 2021 г. в 20 странах Евросоюза отмечено 4822 случая заболевания ГЛПС [8]. На территории Центральной и Западной Европы большинство случаев ГЛПС регистрируется в Дании, Словении и Эстонии. На Балканах широко распространен хантавирус *Dobrava-Belgrade*, вызывающий, как правило, тяжелые формы болезни с летальностью до 12 % [9]. Циркуляция вирусов *Puumala* и *Dobrava-Belgrade* подтверждена в Турции, Польше, Чехии, Литве и Латвии [10, 11].

В Американском регионе основной клинической формой хантавирусной инфекции является ХПС, который регистрируют с 1993 г.; эпидемиологический надзор за ГЛПС установлен в 2015 г. (циркуляция хантавируса *Seul*). В целом с момента начала регистрации (по состоянию на 2021 г.) в США зарегистрировано 833 случая, из них 807 – ХПС, 26 – ГЛПС [12, 13]. Единичные случаи заболевания ХПС регистрируют в Канаде. Спорадические случаи отмечают на территории Боливии, Панамы, Чили и Аргентины, преобладающими хантавирусами на данных территориях считаются *Laguna Negra* и *Rio Mamore*. В 2022 г. в Боливии отмечено 3 случая заболевания (департамент Санта-Крус) [14], Панаме – 39 случаев (в городах Тоноси, Лос-Сантос, Макаракас и Гуараре) [15], Чили – 32 случая [16]. На территории Аргентины ежегодно регистрируются случаи заболевания ХПС. При этом все чаще фиксируются тяжелые случаи со смертельным исходом. В стране подтверждена циркуляция не менее 10 различных хантавирусов, наиболее распространенными из которых являются *Andes* и *Laguna Negra*. В 2022 г. в стране отмечено 32 случая заболевания ХПС (1 летальный) [17].

Современные знания о распространенности хантавирусной инфекции на Африканском континенте очень скудны в связи с низким уровнем диагностики в регионе. Исследования, проведенные в последние годы, показали наличие циркуляции хантавируса *Sangassou* в популяциях африканской лесной мыши в Гвинейской Республике (2006 г.), у некоторых видов землероек и летучих мышей [18]. Кроме того, о присутствии хантавирусной инфекции в регионе свидетельствуют факты обнаружения антител к хантавирусам *Hantaan* и *Seul* в ходе отдельных сероэпидемиологических обследований в Южной Африке, Демократической Республике Конго и Кот-д'Ивуаре [18, 19]. До настоящего момента на территории Африки единственный официально подтвержденный случай заболевания ГЛПС (хантавирус *Sangassou*) был зарегистрирован в Гвинейской Республике в 2010 г.

В Российской Федерации геморрагическая лихорадка с почечным синдромом представляет собой крайне актуальную внутреннюю угрозу санитарно-эпидемиологическому благополучию населения, являясь самой распространенной природно-очаговой болезнью вирусной этиологии в стране [20]. С момента начала официальной регистрации заболевания в России (1978 г.) по 2022 г. включительно зарегистрировано 292079 случаев заболевания ГЛПС. Свыше 98 % случаев регистрируется на европейской части страны, тогда как на Сибирский и Дальневосточный регионы приходится порядка 2 % случаев. На европейской территории России заболеваемость в основном ассоциирована с вирусами *Puumala* и *Dobrava-Belgrade*; на Дальнем Востоке – с *Hantaan*, *Amur* и *Seul* [21].

Пространственное распределение очагов инфекции и экология каждого хантавируса обусловлены биотопической приуроченностью их резервуарного хозяина, что является результатом совместной эволюции вируса и хозяина [22]. Различные виды вирусов имеют тесные связи с определенными природными носителями, в популяциях которых хантавирусы циркулируют постоянно и вызывают эпизоотии. Так, для вируса *Puumala*, распространенного на территории Российской Федерации, основным носителем является рыжая полевка (*Myodes glareolus*), для *Dobrava-Belgrade* – западный подвид полевой мыши (*Apodemus agrarius agrarius*) и кавказская лесная мышь (*Apodemus ponticus*) [23].

В Западной Сибири заболевания ГЛПС вызывают сибирские варианты вирусов *Puumala* и *Dobrava-Belgrade*. Природными резервуарами для сибирского варианта вируса *Puumala* являются рыжая (*M. glareolus*) и красно-серая (*Clethrionomys rufocanus*) полевки, для *Dobrava-Belgrade* сибирского варианта вируса – западный подвид полевой мыши (*A. agrarius agrarius*) [24]. В дальневосточных регионах РФ природными резервуарами для вируса *Hantaan* являются восточный подвид полевой мыши (*A. agrarius mantchuricus*) и восточноазиатская мышь (*A. peninsulae*), для *Seoul* – серая крыса (*Rattus norvegicus*) [25].

В связи с вышесказанным ГЛПС представляет собой одну из наиболее серьезных проблем общественного здравоохранения Российской Федерации. Сохранение постоянно напряженной эпидемиологической ситуации по ГЛПС в целом по России и периодические крупные вспышки на отдельных территориях страны однозначно свидетельствуют о необходимости значительного повышения эффективности эпидемиологического надзора в природных очагах ГЛПС с целью снижения заболеваемости ГЛПС. В связи с этим целью данной работы является анализ заболеваемости ГЛПС в Российской Федерации в 2022 г. и разработка прогноза ее развития на 2023 г. для совершенствования тактики профилактической и противоэпидемической работы.

Высокая социальная и медицинская значимость проблемы ГЛПС в РФ обусловлена широким распро-

странением этой инфекции (болезнь регистрируется во всех федеральных округах России; в 56 субъектах), высокими показателями заболеваемости (за период с 2013 по 2022 г. – 4,8 на 100 тыс. населения) с преимущественным поражением людей в возрасте от 30 до 59 лет (64 % от общего числа заболевших), длительным периодом утраты трудоспособности, значительной частотой тяжелых форм течения болезни и отсутствием специфических средств лечения и профилактики [26]. Экономический ущерб от высокой заболеваемости ГЛПС для бюджета страны исчисляется миллионами рублей ежегодно.

За последнее десятилетие (2013–2022 гг.) в Российской Федерации зарегистрировано 72176 случаев, интенсивный показатель заболеваемости колебался в пределах 1,56–9,53 на 100 тыс. населения (среднегодовой показатель составил 4,94). Динамика заболеваемости ГЛПС характеризовалась циклическими подъемами каждые 4–5 лет (рис. 1). Случаи ГЛПС отмечены в 65 субъектах РФ, во всех федеральных округах. При этом приведенные цифры заболеваемости по России в целом не отражают в полной мере эпидемиологическую ситуацию по ГЛПС в отдельных ее регионах. В действительности более 80 % всех регистрируемых случаев приходится на один Приволжский федеральный округ, заболеваемость в котором в 3,9 раза выше, чем в среднем по России [27].

В 2022 г. на территории Российской Федерации отмечен рост заболеваемости ГЛПС в 3 раза по сравнению с 2021 г. Всего зарегистрировано 6952 случая заболевания ГЛПС (4,77 на 100 тыс. населения), в основном среди городского населения (65,7 %). В возрастной структуре заболевших ГЛПС преобладали лица в возрасте 30–59 лет (65,0 %). Среди детей (до 17 лет включительно) отмечено 437 случаев заболевания (1,44 на 100 тыс. населения). Доля мужского населения в общей структуре заболеваемости составила 71,0 %.

Доминирующим типом заражения являлся бытовой – 49,6 %. Заражения, связанные с пребыванием в лесу, составили 27,7 %, на садово-дачных участках – 16,8 %. Заражения, связанные с трудовой деятельностью в сельском хозяйстве, составили 2,0 %, с производственной деятельностью – 2,2 %. В социальной структуре заболевших в 2022 г. установлено преобладание группы «неработающие граждане», которая составила 24,5 %. Большая часть выявленных больных заразилась в очагах по месту постоянного проживания, лишь 305 (4,4 %) человек заразились на других территориях.

Доля тяжелых клинических форм ГЛПС в Центральном федеральном округе (ЦФО) составила 9,8 %, в Северо-Западном (СЗФО) – 11,1 % и Приволжском (ПФО) – 2,4 %. В Уральском федеральном округе (УФО) она составила 14,8 %, в Дальневосточном (ДФО) – 26,9 %, в Южном (ЮФО) – 30,5 %. Клинические формы со средней степенью тяжести заболевания по федеральным

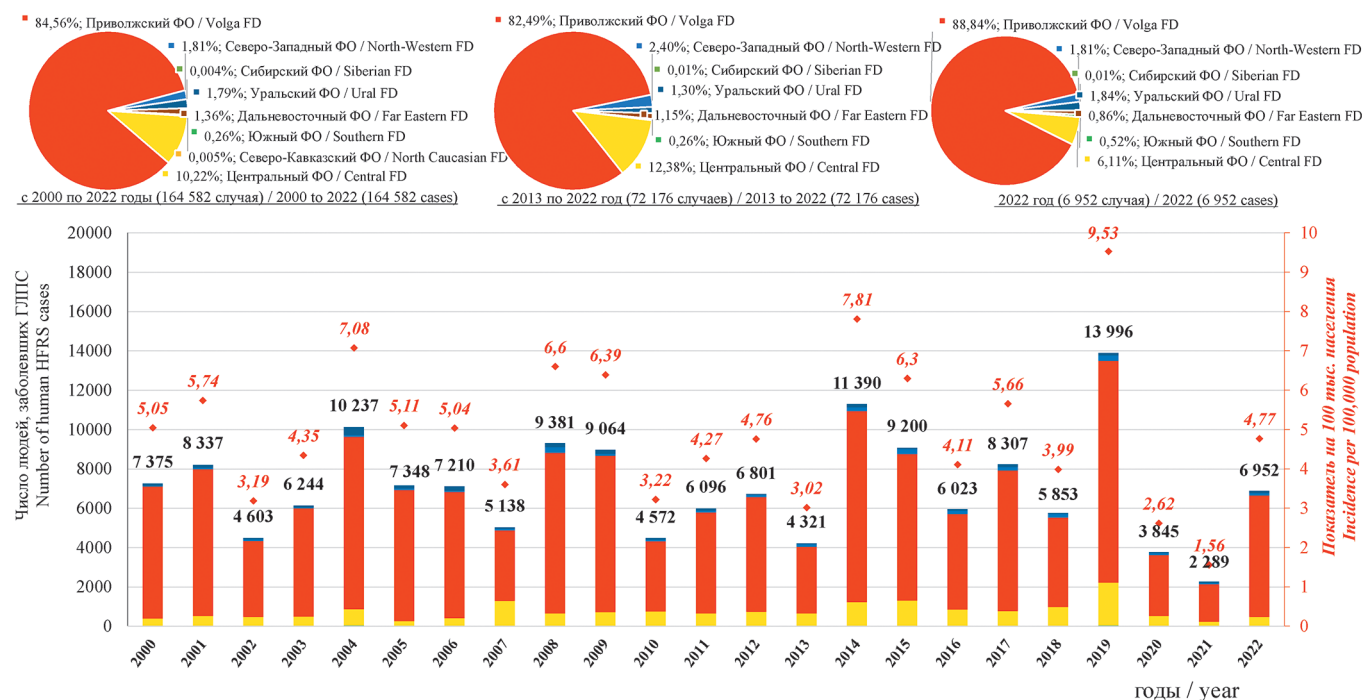


Рис. 1. Число случаев ГЛПС с 2000 по 2022 г. в территориях Российской Федерации (данные формы государственной статистической отчетности № 2 «Сведения об инфекционной и паразитарной заболеваемости», в том числе по Республике Крым – с 2014 г.). По основной оси ординат приведено число случаев заболеваний, по вспомогательной оси ординат – относительные значения заболеваемости (курсив)

Fig. 1. The number of hemorrhagic fever with renal syndrome cases in the Russian Federation between 2000 and 2022 (according to the state statistical reporting form No 2 "Information on infectious and parasitic diseases incidence", including in the Republic of Crimea – since 2014). The main ordinate axis shows the number of cases of the disease, the auxiliary ordinate axis shows the relative incidence rates (in italics)

округам находились в пределах от 63,8 до 94,3 %, а легкие формы – от 3,2 до 6,2 %.

Характер распределения заболеваемости ГЛПС по территории Российской Федерации был неоднороден. Статистическая обработка данных методом квантильного ранжирования интенсивных показате-

лей заболеваемости ГЛПС в каждом субъекте РФ с определением доверительных интервалов уровня заболеваемости в 2022 г. позволила выделить 4 группы территорий, отличающихся по уровню заболеваемости ГЛПС: заболеваемость отсутствует (1), низкая заболеваемость (2), средняя (3), высокая (4) (рис. 2).

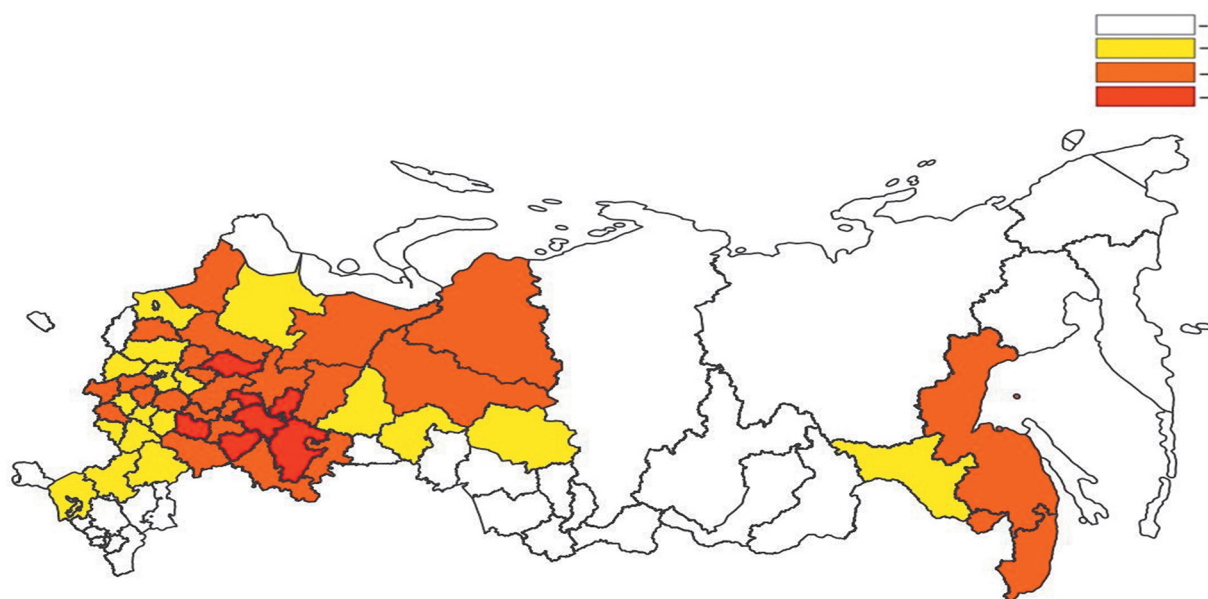


Рис. 2. Ранжирование территории Российской Федерации по уровню заболеваемости ГЛПС в 2022 г.:

1 – заболеваемость отсутствует; 2 – низкая заболеваемость; 3 – средняя; 4 – высокая

Fig. 2. Ranking of the territory of the Russian Federation by the incidence of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in 2022:

1 – no incidence; 2 – low incidence; 3 – medium incidence; 4 – high incidence

К первой группе территорий, на которых заболеваемость отсутствует, отнесены следующие субъекты: Ненецкий автономный округ, Калининградская, Мурманская, Псковская области, республики Калмыкия, Крым, г. Севастополь, Астраханская область, республики Дагестан, Ингушетия, Северная Осетия – Алания, Кабардино-Балкарская, Карачаево-Черкесская, Чеченская республики, Ставропольский край, Курганская область, республики Алтай, Тыва, Хакасия, Алтайский, Красноярский края, Иркутская, Кемеровская, Новосибирская, Омская области, республики Бурятия, Саха (Якутия), Забайкальский, Камчатский края, Магаданская, Сахалинская области, Чукотский автономный округ.

Ко второй группе, с низким уровнем заболеваемости, отнесены субъекты с диапазоном интенсивного показателя заболеваемости от 0,05 до 0,91 на 100 тыс. населения: Ростовская, Московская, Томская, Волгоградская области, Республика Адыгея, г. Санкт-Петербург, Воронежская, Ленинградская, Липецкая, Свердловская, Архангельская, Тюменская области, Краснодарский край, Смоленская, Тверская, Владимирская, Орловская, Белгородская, Амурская области, г. Москва, Тамбовская область.

К третьей группе, со средним уровнем заболеваемости, отнесены субъекты РФ, в которых показатель заболеваемости на 100 тыс. населения варьировал в диапазоне от 1,15 до 9,58: Хабаровский край, Курская, Тульская области, Республика Карелия, Приморский край, Калужская, Челябинская об-

ласти, Ханты-Мансийский автономный округ – Югра (ХМАО), Ямало-Ненецкий автономный округ (ЯНАО), Республика Коми, Новгородская, Саратовская, Брянская, Рязанская, Ивановская, Ярославская области, Республика Мордовия, Пермский край, Еврейская автономная область, Вологодская, Оренбургская области, Чувашская Республика, Ульяновская, Нижегородская, Кировская области.

К четвертой группе территорий, с высоким уровнем заболеваемости, отнесены 7 субъектов со значением интенсивного показателя заболеваемости выше 10 на 100 тыс. населения: Костромская, Самарская области, Республика Марий Эл, Пензенская область, Республика Татарстан, Удмуртская Республика, Республика Башкортостан.

Лабораторные исследования материала от мелких млекопитающих на инфицированность хантавирусами проводились в 74 субъектах Российской Федерации на базе лабораторий центров гигиены и эпидемиологии, противочумных станций, научно-исследовательских учреждений Роспотребнадзора и других организаций (в 72 – в 2021 г., 71 – в 2020 г.). Всего исследовано 38243 пробы органов от мелких млекопитающих (32917 – в 2021 г., 28764 – в 2020 г.). Наибольшее количество проб исследовано в ПФО (31,8 %), ЦФО (19,7 %) и ДФО (13,1 %) (рис. 3). Материал исследовали от 60 представителей млекопитающих (от 60 – в 2021 г., 56 – в 2020 г.). Основную долю (27,4 %) составляла рыжая полевка (21,4 % –

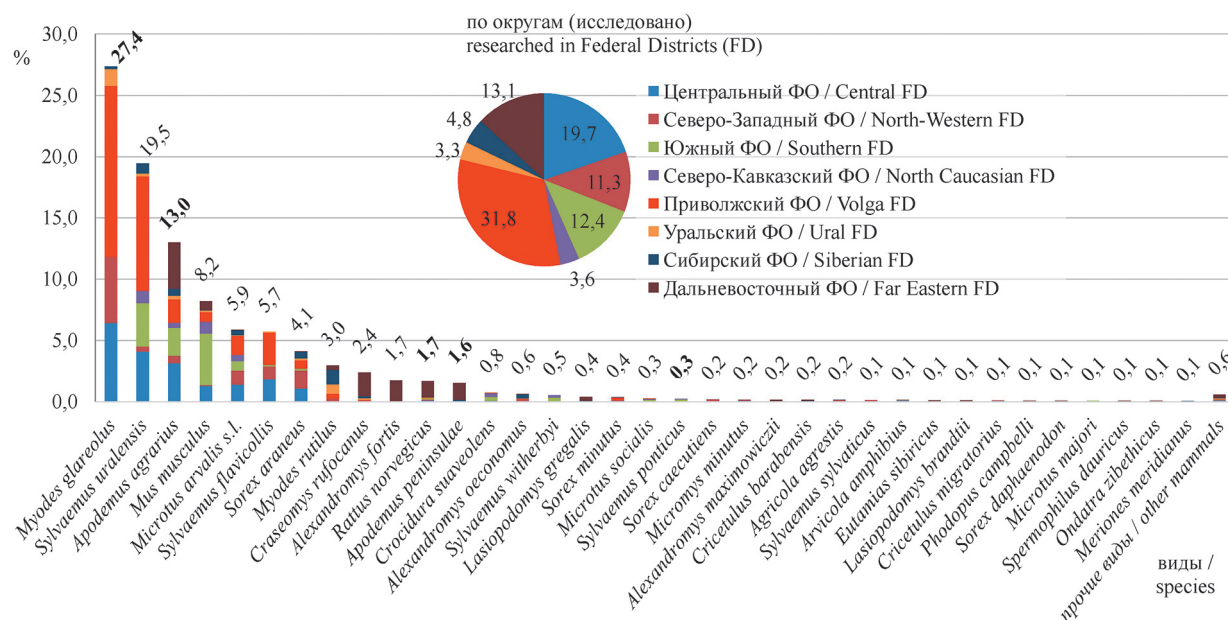


Рис. 3. Структура исследованных млекопитающих в Российской Федерации в 2022 г. Выделены виды – резервуарные хозяева патогенных для человека хантавирусов. Прочие виды: когтистая песчанка, курганчиковая мышь, обыкновенная кутора, крошечная бурозубка (Черского), крысвидный хомячок, лесная соня, европейский крот, обыкновенный хомяк, алтайская мышовка, длиннохвостый суслик, тушканчик-прыгун, белозубка сибирская, соня полчок, ласка, норвежский лемминг, заяц-толай, лесная мышовка, тундрная бурозубка, равнозубая бурозубка, уссурийская белозубка, степная мышовка, хомячок Эверсмана, садовая соня, обыкновенный (среднерусский) еж

Fig. 3. Structure of studied mammals in the Russian Federation in 2022. Reservoir host species of pathogenic for humans hantaviruses are indicated. Other species: *Meriones unguiculatus*, *Mus spicilegus*, *Neomys fodiens*, *Sorex minutissimus*, *Tscherskia triton*, *Dryomys nitedula*, *Talpa europaea*, *Cricetus cricetus*, *Sicista napaea*, *Urocyon sibiricus*, *Allactaga sibirica*, *Crociodura sibirica*, *Glis glis*, *Mustela nivalis*, *Lemmus lemmus*, *Lepus tolai*, *Sicista betulina*, *Sorex tundrensis*, *Sorex isodon*, *Crociodura lasiura*, *Sicista subtilis*, *Allocricetulus evermanni*, *Eliomys quercinus*, *Erinaceus roumanicus*

в 2021 г., 26,6 % – в 2020 г.). Также исследовали материал от полевой мыши – 13,0 % (14,8 % – в 2021 г., 10,7 % – в 2020 г.), кавказской мыши – 0,3 % (0,4 % – в 2021 г., 2,6 % – в 2020 г.), восточноазиатской мыши – 1,6 % (2,6 % – в 2021 г., 1,0 % – в 2020 г.) и серой крысы – 1,7 % (1,0 % – в 2021 г., 0,5 % – в 2020 г.).

Инфицированные хантавирусами особи выявлены среди 28 представителей млекопитающих (24 – в 2021 г., 23 – в 2020 г.). В структуре инфицированных млекопитающих на долю рыжей полевки приходилось более половины от всех выявленных проб в 5 федеральных округах, из которых основную долю составляют ПФО (31,9 %), СЗФО (12,2 %) и ЦФО (10,4 %) – территории с наиболее активными природными очагами ГЛПС (рис. 4). На долю инфицированных проб от полевой мыши приходилось 9,4 % от всех выявленных в Российской Федерации, из них 2,4 % – в ЦФО и 5,6 % – в ДФО. Единичные особи-хантавирусоносители выявлены при исследовании материала от кавказской и восточноазиатской мышей, серой крысы.

Кроме перечисленных выше резервуарных хозяев хантавирусов, инфицированные пробы выявлены среди других млекопитающих, на долю которых приходится 29,3 % (36,0 % – в 2021 г., 35,2 % – в 2020 г.). Среди них выявлено 5,4 % инфицированных проб от обыкновенной и восточноевропейской полевки – резервуарных хозяев хантавируса *Тула*, патогенность которого для человека в настоящее время не доказана (5,7 % – в 2021 г., 4,3 % – в 2020 г.).

В целом по стране выявлено 3,9 % инфицированных млекопитающих от исследованных (3,6 % – в 2021 г., 3,9 % – в 2020 г.). Показатели по отдельным видам животных отличались и зависели от территорий, на которых они распространены, а также от эпизоотологической ситуации и объемов проведенных лабораторных исследований. Среди выявленных хантавирусоносителей у рыжей полевки доля инфицированных проб составила 8,2 % (7,1 % – в 2021 г., 8,1 % – в 2020 г.), полевой мыши – 2,8 % (2,9 % – в 2021 г., 3,1 % – в 2020 г.), восточноазиатской мыши – 5,6 % (12,3 % – в 2021 г., 0,5 % – в 2020 г.).

В 2022 г. Референс-центром по мониторингу за ГЛПС ФБУН «Казанский НИИЭМ» проведен выборочный мониторинг инфицированности мелких млекопитающих, отловленных на территории 5 субъектов Российской Федерации: Тюменской области, Чувашской Республики, Республики Татарстан, Республики Башкортостан и Забайкальского края. Методом ОТ-ПЦР хантавирусная РНК выявлена в 152 из 460 образцов биологического материала. Доля РНК-положительных образцов составила по Тюменской области 58 %, Забайкальскому краю – 68 %, Чувашской Республике – 27 %, Республике Татарстан – 15,2 %, Республике Башкортостан – 60 %.

С целью оценки интенсивности эпидемического процесса на эндемичных по ГЛПС территориях выполнены скрининговые обследования населения из числа лиц, ранее не болевших ГЛПС, также в 5 субъектах: Тюменской области, Чувашской Республике,

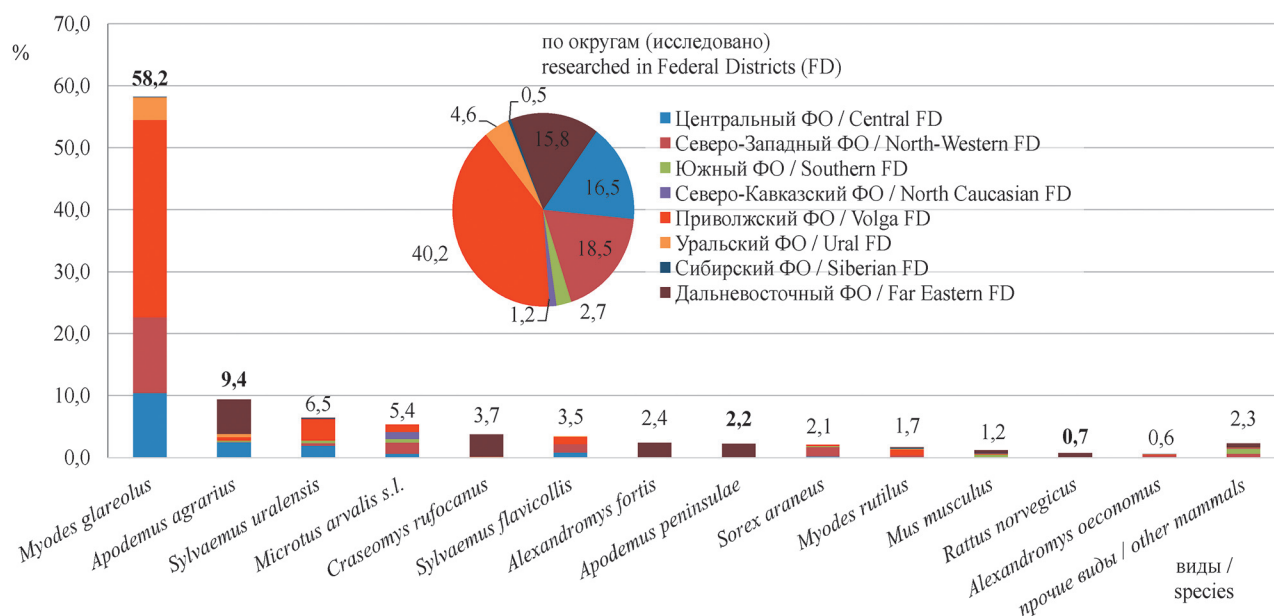


Рис. 4. Структура инфицированных хантавирусами млекопитающих в Российской Федерации в 2022 г. Выделены виды – основные резервуарные хозяева патогенных для человека хантавирусов (европейская рыжая полевка, полевая и восточноазиатская мыши, серая крыса). Прочие 14 видов (15 видов – в 2021 г., 14 видов – в 2020 г.): полевка Максимовича, степная (желтобрюхая) мышь, общественная полевка, мышь-малютка, малая бурозубка, водяная полевка, кустарниковая полевка, малая белозубка, европейская лесная мышь, азиатский бурундук, узкочерепная полевка, кавказская мышь, крупнозубая (темнозубая) бурозубка, серый хомячок

Fig. 4. Structure of samples from mammals, infected by hantaviruses, from the Russian Federation in 2022. The reservoir host species of pathogenic for humans hantaviruses are indicated. (*Myodes glareolus*, *Apodemus agrarius* and *A. peninsulae*, *Rattus norvegicus*). Other 14 species (15 – in 2021, 14 – in 2020): *Alexandromys maximowiczii*, *Sylvaeomys witherbyi*, *Microtus socialis*, *Micromys minutus*, *Sorex minutus*, *Arvicola amphibius*, *Microtus majori*, *Cricetulus suaveolens*, *Sylvaeomys sylvaticus*, *Eutamias sibiricus*, *Lasiopodomys gregalis*, *Sylvaeomys ponticus*, *Sorex daphaenodon*, *Cricetulus migratorius*

Республике Татарстан, Республике Башкортостан и Забайкальском крае. Исследовано 1005 проб сыровороток крови. Специфические иммуноглобулины класса G к возбудителям ГЛПС обнаружены в 9 % проб от населения Чувашской Республики, 8,8 % проб Тюменской области, 12 % проб Республики Башкортостан, 2 % проб Забайкальского края и 10,9 % проб Республики Татарстан.

Эпидемиологическая ситуация в Центральном федеральном округе в 2022 г. В 2022 г. заболеваемость ГЛПС по округу составила 6,1 % от общероссийской, при этом отмечен рост числа регистрируемых случаев практически во всех субъектах ЦФО, кроме Орловской и Тверской областей. В целом по округу зарегистрировано 425 случаев заболевания ГЛПС (1,08 на 100 тыс. населения), что в 2 раза выше уровня 2021 г. (205 случаев; 0,52 на 100 тыс. населения). Наибольший уровень заболеваемости отмечен в Костромской области (10,25 на 100 тыс. населения), высокие показатели в Ивановской (3,26), Брянской (2,55), Ярославской (4,21) и Рязанской (3,11) областях.

Среди заболевших ГЛПС в округе основное количество составили неработающие граждане (0,27). Наибольшее число случаев заболевания зарегистрировано в возрастной группе 30–59 лет (0,6). По степени тяжести преобладали заболевания средней степени тяжести – 86,1 %, легкие формы составили 4,0 %, доля тяжелых форм – 9,8 %. По типу заражения на большинстве территорий округа преобладал садово-дачный тип заражения – 43,5 %; бытовой тип составил 41,2 %, лесной – 10,8 %, производственный – 2,6 % и сельскохозяйственный – 1,4 %.

Эпидемиологическая ситуация в Северо-Западном федеральном округе в 2022 г. Заболеваемость ГЛПС по округу составила 1,8 % от общероссийской, при этом отмечен ее рост по сравнению с 2021 г. в 1,6 раза (в 2021 г. – 76 случаев, или 0,54 на 100 тыс. населения; в 2022 г. – 126 случаев, или 0,91 на 100 тыс. населения). Наибольшее количество заболевших ГЛПС зарегистрировано в Вологодской области – 60 случаев (5,24 на 100 тыс. населения), в Новгородской области – 14 (2,38), Республике Коми – 19 (2,35) и г. Санкт-Петербурге – 14 (0,26). Не регистрировались заболевания в четырех субъектах: Мурманской, Калининградской, Псковской областях и Ненецком автономном округе. В Архангельской и Ленинградской областях отмечены единичные случаи – 4 и 5 соответственно.

Среди заболевших ГЛПС в СЗФО основное количество составили неработающие граждане (0,16 на 100 тыс. населения) и служащие (0,14). Наибольшее количество случаев заболевания зарегистрировано в возрастной группе 30–59 лет (0,5) и среди лиц в возрасте старше 60 лет – 0,2. По степени тяжести преобладали заболевания средней степени тяжести, составившие 84,1 %, тяжелые формы – 11,1 %, легкие – 4,7 %. Основной тип заражения – бытовой – 53,2 %. Садово-дачный тип заражения составил

18,2 %, лесной – 13,5 %, производственный – 10,3 % и сельскохозяйственный – 1,6 %.

Эпидемиологическая ситуация в Приволжском федеральном округе в 2022 г. Заболеваемость ГЛПС в ПФО составила 89 % от всех зарегистрированных случаев заболевания ГЛПС по стране. При этом в целом по округу отмечен рост заболеваемости ГЛПС в 3 раза по сравнению с предыдущим годом – зарегистрировано 6176 случаев ГЛПС; 21,33 на 100 тыс. населения (в 2021 г. – 1912 случаев; 6,55 на 100 тыс. населения). Рост заболеваемости ГЛПС отмечен на территории всех субъектов ПФО. Наиболее высокие уровни заболеваемости ГЛПС отмечены в Республике Башкортостан (74,68 на 100 тыс. населения), Удмуртской Республике (53,53) и Республике Татарстан (21,70). Среди детей до 17 лет зарегистрировано 398 случаев (6,63), что в 4 раза превышает показатели прошлого года.

Среди заболевших ГЛПС в округе основное количество составили неработающие граждане (5,2 на 100 тыс. населения), пенсионеры (2,9) и служащие (1,9). Большинство случаев заболевания зарегистрировано в возрастной группе 30–59 лет (13,8). По степени тяжести преобладали случаи заболевания средней степени тяжести, составившие 94,3 %; тяжелые формы – 2,5 %, легкие – 3,2 %.

Доминирующий тип заражения в округе – бытовой (51,3 %). В Республике Башкортостан он составил 58,4 %, Ульяновской области – 65,25 %, Саратовской области – 60,3 %, Пензенской области – 58,2 %. Доля лесного типа заражения по округу составила 29,7 %, в Республике Татарстан – 42,3 %, Республике Башкортостан – 33,6 %, Саратовской области – 25,9 %, Пензенской области – 21,5 %. Садово-дачный тип отмечен в 14,8 % случаев: в Самарской области – 38,7 %, Пермском крае – 39,8 %, Республике Мордовия – 37,8 %, Удмуртской Республике – 26,7 %. На сельскохозяйственный и производственный тип в среднем по округу пришлось по 1,9 %.

Эпидемиологическая ситуация в Южном федеральном округе в 2022 г. Заболеваемость ГЛПС по округу составила 0,5 % от общероссийской, при этом отмечен ее рост в 7 раз относительно показателей предыдущего года. Всего зарегистрировано 36 случаев заболевания ГЛПС, интенсивный показатель – 0,22 на 100 тыс. населения (5 случаев заболевания в 2021 г., или 0,03 на 100 тыс. населения). Заболевания регистрировались только в четырех субъектах округа: в Краснодарском крае – 28 случаев, Волгоградской области – 5, Ростовской области – 2 и Республике Адыгея – 1 случай. Среди заболевших ГЛПС основное количество составили неработающие граждане (0,09). Большинство случаев заболевания зарегистрировано в возрастной группе 30–59 лет (0,15). Преобладали заболевания средней степени тяжести – 63,8 %, тяжелые формы ГЛПС составили 30,5 %, легкие – 5,5 %. Основной тип заражения в округе – бытовой, на долю которого

пришлось 44,4 % случаев, на долю лесного типа – 33,3 %, садово-дачного – 8,4 % и производственного – 13,9 % случаев.

Эпидемиологическая ситуация в Северо-Кавказском федеральном округе (СКФО) в 2022 г. В 2022 г. в СКФО не зарегистрировано случаев заболевания ГЛПС, как и в 2021 г.

Эпидемиологическая ситуация в Уральском федеральном округе в 2022 г. Заболеваемость ГЛПС по округу составила 1,8 % от общероссийской, при этом отмечен рост в 2 раза относительно показателей предыдущего года. Зарегистрировано 128 случаев ГЛПС (1,04 на 100 тыс. населения), в 2021 г. – 65 случаев ГЛПС, или 0,53 на 100 тыс. населения. Наибольшее число заболевших зарегистрировано в Челябинской области – 65 случаев (1,89), ХМАО – 33 (1,95), Свердловской области – 12 (0,28), ЯНАО – 12 (2,18), Тюменской области – 6 (0,39). Заболеваний ГЛПС на территории Курганской области не зарегистрировано.

Среди заболевших ГЛПС в округе основное количество составили изыскатели, геологи, нефтяники (0,22 на 100 тыс. населения), неработающие (0,19) и прочие контингенты (0,34). Большинство случаев заболевания зарегистрировано в возрастной группе 30–59 лет (0,6). По степени тяжести преобладали заболевания средней степени тяжести – 78,9 %; тяжелые формы составили 14,8 %, легкие – 6,2 %. В целом по округу преобладавал садово-дачный тип заражения (39,8 %). На бытовой тип заражения пришлось 27,3 % случаев, лесной – 25,0 %, сельскохозяйственный – 5,6 %, производственный – 2,3 %.

Эпидемиологическая ситуация в Сибирском федеральном округе в 2022 г. На территории СФО зарегистрирован 1 случай ГЛПС в Томской области, заболевание проходило в тяжелой клинической форме.

Эпидемиологическая ситуация в Дальневосточном федеральном округе в 2022 г. В 2022 г. в ДФО зарегистрировано 60 заболевших ГЛПС, что составило 0,9 % от всех случаев по стране, при этом отмечен рост заболеваемости по округу в 2,3 раза по сравнению с показателями прошлого года. Интенсивный показатель заболеваемости составил 0,74 на 100 тыс. населения (в 2021 г. – 26 случаев ГЛПС, или 0,32 на 100 тыс. населения). Наибольшее количество заболевших зарегистрировано в Приморском крае – 31, Хабаровском крае – 15, Еврейской автономной области – 8, Амурской области – 6. В остальных субъектах округа заболевания ГЛПС не регистрировались.

Среди заболевших ГЛПС в ДФО основное количество составили неработающие граждане (0,16 на 100 тыс. населения) и прочие контингенты (0,14). Основной тип заражения – бытовой (51,7 %). Садово-дачный тип составил 25,0 %, лесной – 13,3 %, сельскохозяйственный – 5,0 % и производственный – 3,3 %. Среди заболевших преобладали лица в возрасте 30–59 лет (0,46) и 18–29 лет (0,15). По степени

тяжести преобладали заболевания средней степени тяжести – 76,6 %, тяжелые формы составили 23,4 %.

Прогноз развития эпидемиологической ситуации по ГЛПС в Российской Федерации на 2023 г.

Отмеченная высокая численность мелких млекопитающих в ПФО с преимущественным преобладанием в отловах рыжей полевки и установленная циркуляция хантавирусов во всех субъектах округа дает основание предполагать сохранение напряженной эпидемиологической ситуации по ГЛПС в округе в прогнозе на 2023 г. Учитывая благоприятные климатические условия (рано выпавший и значительный снежный покров, комфортная для жизнедеятельности мелких млекопитающих температура воздуха, отсутствие оттепелей в сочетании с морозами, формирующими на поверхности снежного покрова плотную ледяную корку, хорошая кормовая база), отмеченные в 2023 г. в республиках Башкортостан, Татарстан, Самарской, Нижегородской областях и Пермском крае, способствующие подснежному размножению мелких млекопитающих, прогнозируется высокий риск роста заболеваемости на всей территории ПФО, в частности в указанных субъектах.

На основании анализа эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по ГЛПС в ЦФО в 2023 г. возможно обострение эпидемиологической обстановки по ГЛПС во всех субъектах округа. В СЗФО и УФО сохранятся условия для возникновения sporadических случаев ГЛПС. В ДФО sporadические случаи заболевания возможны на территориях Приморского и Хабаровского краев, Еврейской автономной области; в ЮФО – на территориях Краснодарского края, Республики Адыгея, Волгоградской и Ростовской областей. В 2023 г. обострения эпидемической обстановки по ГЛПС на территории СКФО и СФО не ожидается.

Прогностические риски заражения возбудителями ГЛПС на территории Российской Федерации в 2023 г., рассчитанные на основе интегральных показателей, с учетом эпидемической ситуации и результатов зоолого-эпизоотологического мониторинга представлены на рис. 5.

В 2023 г. к группе территорий с **высоким прогностическим риском** заражения ГЛПС отнесены все 14 субъектов ПФО.

К группе территорий с **средним прогностическим риском** заражения отнесены 25 субъектов, в том числе: Костромская, Воронежская, Смоленская, Тверская, Орловская, Тамбовская области, Хабаровский край, Республика Карелия, Приморский край, ХМАО, ЯНАО, Республика Коми, Владимирская, Белгородская, Курская, Тульская, Калужская, Челябинская, Новгородская, Брянская, Рязанская, Ивановская, Ярославская области, Еврейская автономная область, Вологодская область.

К группе территорий с **низким прогностическим риском** заражения отнесены 16 субъектов, в том числе: Московская, Ленинградская области, г. Москва, г. Санкт-Петербург, Ростовская,

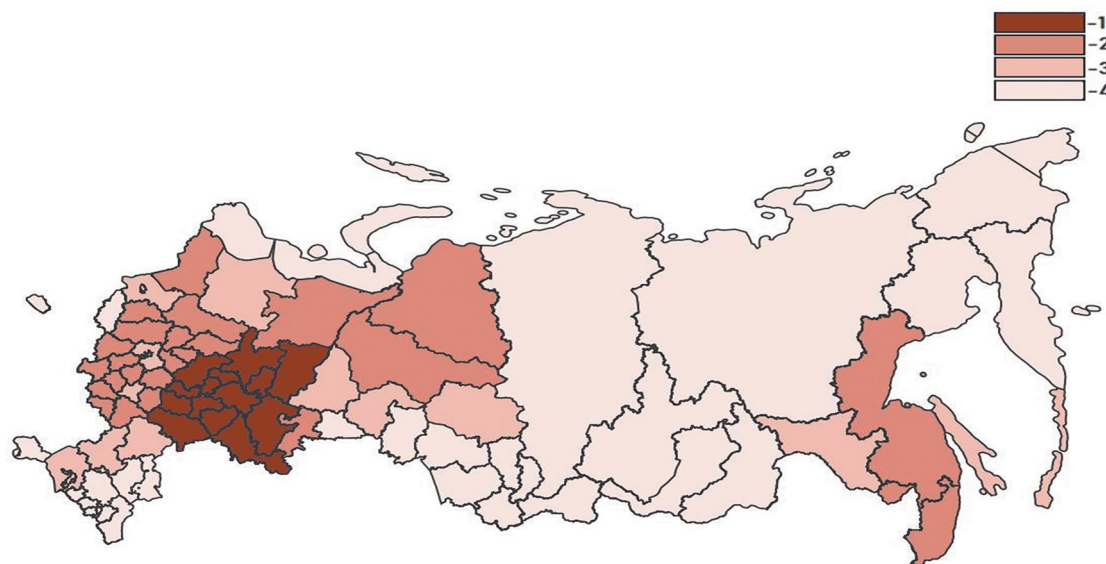


Рис. 5. Прогностические риски заражения ГЛПС на территории Российской Федерации в 2023 г.:

1 – высокий; 2 – средний; 3 – низкий; 4 – очень низкий

Fig. 5. Prognostic risks of HFRS infection in the Russian Federation in 2023:

1 – high; 2 – medium; 3 – low; 4 – very low

Томская, Волгоградская области, Республика Адыгея, Ленинградская, Липецкая, Свердловская, Архангельская, Тюменская области, Краснодарский край, Амурская и Сахалинская области.

К группе территорий, на которых **риск заражения ГЛПС крайне низкий** отнесены территории 31 субъекта, в том числе: Ненецкий автономный округ, Калининградская, Мурманская, Псковская области, республики Калмыкия, Крым, г. Севастополь, Астраханская область, республики Дагестан, Ингушетия, Северная Осетия – Алания, Кабардино-Балкарская, Карачаево-Черкесская, Чеченская республики, Ставропольский край, Курганская область, республики Алтай, Тыва, Хакасия, Алтайский, Красноярский края, Иркутская, Кемеровская, Новосибирская, Омская области, республики Бурятия, Саха (Якутия), Забайкальский, Камчатский края, Магаданская область, Чукотский автономный округ.

Таким образом, результаты эпидемиологического анализа данных эпизоотологического мониторинга, лабораторных исследований свидетельствуют о сохраняющейся напряженной эпидемиологической ситуации по ГЛПС на отдельных территориях Российской Федерации. В ряде субъектов РФ прогнозируется обострение эпидемиологической обстановки в 2023 г. в связи с относительно благоприятными природно-климатическими условиями, сложившимися в осенне-зимний период 2022 г. и в начале 2023 г. для выживания и размножения мелких млекопитающих – основных резервуарных хозяев патогенных для человека хантавирусов – возбудителей ГЛПС.

Неспецифическая профилактика в Российской Федерации является основным направлением в

обеспечении эпидемиологического благополучия населения в природных очагах ГЛПС. Вместе с тем современные представления об эпидемиологии ГЛПС трактуют необходимость избирательного, дифференцированного подхода к стратегии и тактике обработки эндемичных территорий в зависимости от активности очага, преобладающего носителя инфекции и т.д. В связи с этим основная стратегия, направленная на снижение уровня заболеваемости ГЛПС, должна основываться на дифференцированном подходе к организации и проведению дератизационных мероприятий. Последнее позволяет сконцентрировать проведение работ на конкретных, ограниченных территориях высокого риска заболевания людей. На основании вышесказанного в каждом субъекте Российской Федерации необходимо осуществлять анализ эпидемиологической ситуации по ГЛПС, складывающейся на подконтрольной территории, с учетом районирования. При этом при определении территорий, в первую очередь нуждающихся в дополнительных дератизационных обработках, необходимо проводить районирование с учетом мест предполагаемого заражения каждого заболевшего ГЛПС (а не по месту выявления заболевшего). С целью наиболее точного определения мест заражения людей рекомендуется повышать качество проводимых эпидемиологических исследований при регистрации случаев ГЛПС, со сбором наиболее полных сведений эпидемиологического анамнеза. Особое внимание необходимо уделить эпидемиологическому расследованию случаев заболевания детей и подростков с целью выявления мест заражения (детское дошкольное учреждение, учебное заведение, летний оздоровительный лагерь, домашний очаг и т.д.).

Крайне важным аспектом проведения эффективной профилактической работы в очагах ГЛПС является определение объемов проводимых мероприятий, достаточных для обеспечения эпидемиологического благополучия. При корректировке объемов проводимых работ необходимо руководствоваться актуальными оперативными эпидемиологическими и эпизоотологическими данными. Низкое качество дератизационных обработок, методические ошибки при проведении дератизации в работе коммерческих структур дезинфекционного профиля также существенно снижают эффективность проводимых мероприятий. В связи с этим необходимо усилить контроль за выполнением работ и эффективностью проводимых дератизационных обработок.

В каждом субъекте Российской Федерации в целях обеспечения эпидемиологического благополучия населения необходимо актуализировать комплексные планы по санитарной охране территории, в которых предусмотрены разделы по организации профилактических мероприятий по природно-очаговым инфекциям, включая ГЛПС. В комплексных планах необходимо отобразить плановую работу по профилактике ГЛПС, рассчитанную на 5-летний период (организационные мероприятия, санитарно-разъяснительная работа с населением), а также разработать детальный оперативный план (или раздел комплексного плана) на случай обострения эпидемиологической обстановки по ГЛПС. При этом при составлении или корректировке плана необходимо учитывать актуальные данные эпидемиологического и эпизоотологического мониторинга.

В целях стабилизации ситуации по заболеваемости населения ГЛПС необходима разработка региональных программ по ее профилактике, рассчитанных на долгосрочный период и обеспеченных достаточным финансированием из бюджетов различного уровня (субъекта, органов местного самоуправления), что позволит объединить усилия федеральных органов государственной власти, органов исполнительной власти региона, органов местного самоуправления, заинтересованных ведомств и организаций. Ряд профилактических мероприятий: благоустройство территорий, проведение дератизационных и дезинсекционных обработок – имеют общее значение для снижения заболеваемости населения и профилактики не только ГЛПС, но и других природно-очаговых инфекций, что в значительной степени будет способствовать санитарно-эпидемиологическому благополучию населения.

Важным направлением в работе по профилактике ГЛПС является информирование населения об эпидемиологических рисках и мерах профилактики, контроль за наличием в реализации средств уничтожения грызунов, особенно в отдаленных населенных пунктах.

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

Список литературы

- Heyman P., Vaheri A., Lundkvist A., Avsic-Zupanc T. Hantavirus infections in Europe: from virus carriers to a major public-health problem. *Expert Rev. Anti-infect. Ther.* 2009; 7(2):205–17. DOI: 10.1586/14787210.7.2.205.
- Lu C.X., An S.Y., Qiao B.J., Wu W. Time series analysis of hemorrhagic fever with renal syndrome in mainland China by using an XGBoost forecasting model. *BMC Infect. Dis.* 2021; 21(1):839. DOI: 10.1186/s12879-021-06503-y.
- Jiang H., Zheng X., Wang L., Du H., Wang P., Bai X. Hantavirus infection: a global zoonotic challenge. *Virol. Sin.* 2017; 32(1):32–43. DOI: 10.1007/s12250-016-3899-x.
- Xiao Y., Li Ya., Li Yu., Yu C., Bai Y., Wang L., Wang Y. Estimating the long-term epidemiological trends and seasonality of hemorrhagic fever with renal syndrome in China. *Infect. Drug Resist.* 2021; 14:3849–62. DOI: 10.2147/IDR.S325787.
- Hamidon B.B., Saadiah S. Seoul hantavirus infection mimicking dengue fever. *Med. J. Malaysia.* 2003; 58(5):786–7.
- Gamage C.D., Yasuda S.P., Nishio S., Kularatne S.A., Weerakoon K., Rajapakse J., Nwafor-Okoli C., Lee R.B., Obayashi Y., Yoshimatsu K., Arikawa J., Tamashiro H. Serological evidence of Thailand virus-related hantavirus infection among suspected leptospirosis patients in Kandy, Sri Lanka. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2011; 64(1):72–5.
- Lam S.K., Chua K.B., Myhrall T., Devi S., Zainal D., Afifi S.A., Nerome K., Chu Y.K., Lee H.W. Serological evidence of hantavirus infections in Malaysia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 2001; 32(4): 809–13.
- Surveillance Atlas of Infectious Diseases. [Электронный ресурс]. URL: <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx> (дата обращения 20.03.2023).
- Papa A. Dobrava-Belgrade virus: phylogeny, epidemiology, disease. *Antiviral Res.* 2012; 95(2):104–17. DOI: 10.1016/j.antiviral.2012.05.011.
- Avsic Zupanc T., Korva M., Markotić A. HFRS and hantaviruses in the Balkans/South-East Europe. *Virus Res.* 2014; 187:27–33. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.042.
- Macé G., Feyeux C., Mollard N., Chantegret C., Audia S., Rebibou J.M., Spagnolo G., Bour J.B., Denoyel G.A., Sagot P., Reynes J.M. Severe Seoul hantavirus infection in a pregnant woman, France, October 2012. *Euro Surveill.* 2013; 18(17):20464.
- Pan American Health Organization. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.paho.org/en> (дата обращения 16.03.2023).
- Reported Cases of Hantavirus Disease. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/hantavirus/surveillance/index.html> (дата обращения 16.03.2023).
- Ministry of Health of Bolivia [Электронный ресурс]. URL: <https://www.minsalud.gob.bo/6944-ministerio-de-salud-asiste-tecnica-y-normativamente-a-7-sedes-del-pais-para-una-lucha-efectiva-contra-el-dengue> (дата обращения 20.03.2023).
- Ministry of Health of the Republic of Panama. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.minsa.gob.pa> (дата обращения 20.03.2023).
- Epidemiological situation. Hantavirus infection, Chile, 2022. [Электронный ресурс]. URL: <http://epi.minsal.cl/wp-content/uploads/2023/03/Actualizacion-situacion-Epidemiologica-Hantavirus-ano-2022.pdf> (дата обращения 20.03.2023).
- Ministry of Health of Argentina. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.argentina.gob.ar/noticias/el-ministerio-de-salud-confirma-el-fallecimiento-de-una-paciente-por-hantavirus-en-chubut> (дата обращения 20.03.2023).
- Witkowski P.T., Klempa B., Ithete N.L., Auste B., Mfune J.K., Hoveka J., Matthee S., Preiser W., Kruger D.H. Hantaviruses in Africa. *Virus Res.* 2014; 187:34–42. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.039.
- Witkowski P.T., Leendertz S.A., Auste B., Akoua-Koffi C., Schubert G., Klempa B., Muyembe-Tamfum J.J., Karhemere S., Leendertz F.H., Kruger D.H. Human seroprevalence indicating hantavirus infections in tropical rainforests of Côte d'Ivoire and Democratic Republic of Congo. *Front. Microbiol.* 2015; 6:518. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00518.
- Ткаченко Е.А., Дзагурова Т.К., Бернштейн А.Д., Коротина Н.А., Окулова Н.М., Мутных Е.С., Иванов А.П., Ишмухаметов А.А., Юничева Ю.В., Пиликова О.М., Морозов В.Т., Транквиловский Д.В., Городин В.Н., Бахтина В.А., Соцкова С.Е. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (история, проблемы и перспективы изучения). *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2016; 15(3):23–34. DOI: 10.13631/2073-3046-2016-15-3-23-34.
- Kabwe E., Davidyuk Y., Shamsutdinov A., Garanina E., Martynova E., Kitaeva K., Malisheni M., Isaeva G., Savitskaya T., Urbanowicz R.A., Morzunov S., Katongo C., Rizvanov A., Khaiboullina S. Orthohantaviruses, emerging zoonotic pathogens. *Pathogens.* 2020; 9(9):775. DOI: 10.3390/pathogens9090775.
- Plyusnin A., Morzunov S.P. Virus evolution and genetic diversity of hantaviruses and their rodent hosts. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2001; 256:47–75. DOI: 10.1007/978-3-642-56753-7_4.
- Davidyuk Y., Shamsutdinov A., Kabwe E., Ismagilova R., Martynova E., Belyaev A., Shuralev E., Trifonov V., Savitskaya T.,

Isaeva G., Khaiboullina S., Rizvanov A., Morzunov S. Prevalence of the *Puumala orthohantavirus* strains in the Pre-Kama Area of the Republic of Tatarstan, Russia. *Pathogens*. 2020; 9(7):540. DOI: 10.3390/pathogens9070540.

24. Lundkvist A., Apekina N., Myasnikov Y., Vapalanti O., Vaheri A., Plusnin A. Dobrava hantavirus outbreak in Russia. *Lancet*. 1997; 350(9080):781–2. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)62565-2.

25. Бородин Ж.И., Царенко О.Е., Монахов К.М., Багаудина Л.И. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом – проблема современности. *Архив внутренней медицины*. 2019; 9(6):419–27. DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-6-419-427.

26. Савицкая Т.А., Иванова А.В., Чумачкова Е.А., Поспелов М.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Кабве Э., Давидюк Ю.Н., Трифонов В.А., Зиятдинов В.Б., Серова И.В. Обзор хантавирусовых инфекций в мире, эпидемиологической ситуации по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в Российской Федерации в 2021 г. и прогноз на 2022 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 2:54–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-54-63.

27. Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В., Куклев Е.В. Эпидемиологическое районирование территории Приволжского федерального округа по уровню потенциальной эпидемической опасности природных очагов геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 1:91–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-91-96.

References

1. Heyman P., Vaheri A., Lundkvist A., Avsic-Zupanc T. Hantavirus infections in Europe: from virus carriers to a major public-health problem. *Expert Rev. Anti-infect. Ther.* 2009; 7(2):205–17. DOI: 10.1586/14787210.7.2.205.

2. Lv C.X., An S.Y., Qiao B.J., Wu W. Time series analysis of hemorrhagic fever with renal syndrome in mainland China by using an XGBoost forecasting model. *BMC Infect. Dis.* 2021; 21(1):839. DOI: 10.1186/s12879-021-06503-y.

3. Jiang H., Zheng X., Wang L., Du H., Wang P., Bai X. Hantavirus infection: a global zoonotic challenge. *Virol. Sin.* 2017; 32(1):32–43. DOI: 10.1007/s12250-016-3899-x.

4. Xiao Y., Li Ya., Li Yu., Yu C., Bai Y., Wang L., Wang Y. Estimating the long-term epidemiological trends and seasonality of hemorrhagic fever with renal syndrome in China. *Infect. Drug Resist.* 2021; 14:3849–62. DOI: 10.2147/IDR.S325787.

5. Hamidon B.B., Saadiya S. Seoul hantavirus infection mimicking dengue fever. *Med. J. Malaysia*. 2003; 58(5):786–7.

6. Gamage C.D., Yasuda S.P., Nishio S., Kularatne S.A., Weerakoon K., Rajapakse J., Nwafor-Okoli C., Lee R.B., Obayashi Y., Yoshimatsu K., Arikawa J., Tamashiro H. Serological evidence of Thailand virus-related hantavirus infection among suspected leptospirosis patients in Kandy, Sri Lanka. *Jpn. J. Infect. Dis.* 2011; 64(1):72–5.

7. Lam S.K., Chua K.B., Myhrall T., Devi S., Zainal D., Afifi S.A., Nerome K., Chu Y.K., Lee H.W. Serological evidence of hantavirus infections in Malaysia. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*. 2001; 32(4): 809–13.

8. Surveillance Atlas of Infectious Diseases. (Cited 20 Mar 2023). [Internet]. Available from: <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>.

9. Papa A. Dobrava-Belgrade virus: phylogeny, epidemiology, disease. *Antiviral Res.* 2012; 95(2):104–17. DOI: 10.1016/j.antiviral.2012.05.011.

10. Ayšič Zupanc T., Korva M., Markotić A. HFRS and hantaviruses in the Balkans/South-East Europe. *Virus Res.* 2014; 187:27–33. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.042.

11. Macé G., Feyeux C., Mollard N., Chantegret C., Audia S., Rebibou J.M., Spagnolo G., Bour J.B., Denoyel G.A., Sagot P., Reynes J.M. Severe Seoul hantavirus infection in a pregnant woman, France, October 2012. *Euro Surveill.* 2013; 18(17):20464.

12. Pan American Health Organization. (Cited 16 Mar 2023). [Internet]. Available from: <https://www.paho.org/en>.

13. Reported cases of Hantavirus disease. (Cited 20 Mar 2023). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/hantavirus/surveillance/index.html>.

14. Ministry of Health of Bolivia (Cited 20 Mar 2023). [Internet]. Available from: <https://www.minsalud.gob.bo/6944-ministerio-de-salud-asiste-tecnica-y-normativamente-a-7-sedes-del-pais-para-una-lucha-efectiva-contr-la-dengue>.

15. Ministry of Health of the Republic of Panama. (Cited 20 Mar 2023). [Internet]. Available from: <https://www.minsa.gob.pa>.

16. Epidemiological situation. Hantavirus infection, Chile, 2022. (Cited 20 Mar 2023). [Internet]. Available from: <http://epi.minsal.cl/wp-content/uploads/2023/03/Actualizacion-situacion-Epidemiologica-Hantavirus-ano-2022.pdf>.

17. Ministry of Health of Argentina. (Cited 20 Mar 2023). [Internet]. Available from: <https://www.argentina.gob.ar/noticias/el-ministerio-de-salud-confirma-el-fallecimiento-de-una-paciente-por-hantavirus-en-chubut>.

18. Witkowski P.T., Klempa B., Ithete N.L., Auste B., Mfune J.K., Hoveka J., Matthee S., Preiser W., Kruger D.H. Hantaviruses in Africa. *Virus Res.* 2014; 187:34–42. DOI: 10.1016/j.virusres.2013.12.039.

19. Witkowski P.T., Leendertz S.A., Auste B., Akoua-Koffi C., Schubert G., Klempa B., Muyembe-Tamfum J.J., Karhemere S., Leendertz F.H., Krüger D.H. Human seroprevalence indicating hantavirus infections in tropical rainforests of Côte d'Ivoire and Democratic Republic of Congo. *Front. Microbiol.* 2015; 6:518. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00518.

20. Tkachenko E.A., Dzagurova T.K., Bernshtein A.D., Korotina N.A., Okulova N.M., Mutnykh E.S., Ivanov A.P., Ishmukhametov A.A., Yunicheva Yu.V., Pilikova O.M., Morozov V.G., Trankvilevsky D.V., Gorodin V.N., Bakhtina V.A., Sotskova S.E. [Hemorrhagic fever with renal syndrome (history, problems and prospects of research)]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2016; 15(3):23–34. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-23-34.

21. Kabwe E., Davidyuk Y., Shamsutdinov A., Garanina E., Martynova E., Kitaeva K., Malisheni M., Isaeva G., Savitskaya T., Urbanowicz R.A., Morzunov S., Katongo C., Rizvanov A., Khaiboullina S. Orthohantaviruses, emerging zoonotic pathogens. *Pathogens*. 2020; 9(9):775. DOI: 10.3390/pathogens9090775.

22. Plyusnin A., Morzunov S.P. Virus evolution and genetic diversity of hantaviruses and their rodent hosts. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2001; 256:47–75. DOI: 10.1007/978-3-642-56753-7_4.

23. Davidyuk Y., Shamsutdinov A., Kabwe E., Ismagilova R., Martynova E., Belyaev A., Shuralev E., Trifonov V., Savitskaya T., Isaeva G., Khaiboullina S., Rizvanov A., Morzunov S. Prevalence of the *Puumala orthohantavirus* strains in the Pre-Kama Area of the Republic of Tatarstan, Russia. *Pathogens*. 2020; 9(7):540. DOI: 10.3390/pathogens9070540.

24. Lundkvist A., Apekina N., Myasnikov Y., Vapalanti O., Vaheri A., Plusnin A. Dobrava hantavirus outbreak in Russia. *Lancet*. 1997; 350(9080):781–2. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)62565-2.

25. Borodina Zh.I., Tsarenko O.E., Monakhov K.M., Bagaudina L.I. [Hemorrhagic fever with renal syndrome: the challenge of our time]. *Arkhiv Vnutrennei Meditsiny [The Russian Archives of Internal Medicine]*. 2019; 9(6):419–27. DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-6-419-427.

26. Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Kabve E., Davidyuk Yu.N., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Serova I.V. [Overview of hantavirus infections in the world, the epidemiological situation on hemorrhagic fever with renal syndrome in the Russian Federation in 2021, and forecast for 2022]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (2):54–63. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-54-63.

27. Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V., Kulev E.V. [Epidemiological zoning of the Volga Federal District territory by the level of potential epidemic hazard of hemorrhagic fever with renal syndrome natural foci]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (1):91–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-91-96.

Authors:

Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Khusainova R.M. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation. E-mail: kniem@mail.ru.

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

Isaeva G.Sh. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan State Medical University; Russian Federation, Kazan.

Reshetnikova I.D. Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 67, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420015, Russian Federation; e-mail: kniem@mail.ru. Kazan (Privolzhsky) Federal University; Russian Federation, Kazan.

Trankvilevsky D.V. Federal Center of Hygiene and Epidemiology, 19a, Varshavskoe highway, Moscow, 117105, Russian Federation.

Об авторах:

Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Зиятдинов В.Б., Хусаинова Р.М. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии. Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67. E-mail: kniem@mail.ru.

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

Исаева Г.Ш. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67; e-mail: kniem@mail.ru. Казанский государственный медицинский университет; Российская Федерация, Казань.

Решетникова И.Д. Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии; Российская Федерация, 420015, Казань, ул. Большая Красная, 67; e-mail: kniem@mail.ru. Казанский (Приволжский) федеральный университет; Российская Федерация, Казань.

Транквилевский Д.В. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии. Российская Федерация, 117105, Москва, Варшавское шоссе, 19а.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-96-104

УДК 616.98:578.8

А.В. Иванова¹, В.А. Сафронов¹, А.А. Зубова¹, Н.В. Попов¹, О.И. Кожанова², Н.И. Матвеева²,
И.Н. Вяткин², С.А. Щербаклова¹, В.В. Кутырев¹

Методические подходы к оценке экономического ущерба, связанного с заболеваемостью геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Российской Федерации

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

²Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Саратовской области, Саратов, Российская Федерация

Цель – разработка методических подходов к оценке экономического ущерба, связанного с заболеваемостью геморрагической лихорадкой с почечным синдромом (ГЛПС), расчет экономического ущерба на примере вспышки ГЛПС в Саратовской области в 2019 г. **Материалы и методы.** Проанализированы экономические показатели Федеральной службы государственной статистики; данные по заболеваемости населения ГЛПС в РФ в 2019–2022 гг. Для расчета стоимости амбулаторной и стационарной медицинской помощи, а также расходов, связанных с диспансеризацией переболевших, использованы показатели Программы государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2022 год и на плановый период 2023 и 2024 годов. Расчет экономических потерь, связанных с выплатами пособий по временной нетрудоспособности, производили согласно формуле, представленной в Федеральном законе от 29.12.2006 № 255-ФЗ (ред. от 07.10.2022). Экономические потери, связанные с преждевременной смертью в экономически активном возрасте, рассчитывались исходя из значения непроизведенного валового внутреннего продукта (ВВП) вследствие потерянных лет жизни в соответствующей возрастной группе. **Результаты и обсуждение.** Затраты на лечение, реабилитацию и выплату пособий по временной нетрудоспособности одного больного ГЛПС в возрасте от 0 до 56,5 лет для женского населения и от 0 до 61,5 лет для мужского населения составляют 140495 рублей; в возрасте старше 56,5 и 61,5 лет, соответственно – 95412 рублей. Каждый летальный случай ГЛПС в возрасте от 0 до 16 лет среди мужского населения обходится государству в 38976231 рубль; среди женского населения – 34708331 рубль; в трудоспособном возрасте значение экономического ущерба разнится в зависимости от возраста человека, умершего в результате заболевания ГЛПС. Экономический ущерб от вспышки ГЛПС в Саратовской области (2019 г.), с учетом прямых затрат системы здравоохранения и не прямых потерь в экономике страны, составил 441453432 рубля. Подчеркнуто, что в структуре основного ущерба преобладают не прямые потери в экономике, обусловленные преждевременной смертью лиц экономически активного возраста.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, экономический ущерб, социально-экономические потери.

Корреспондирующий автор: Иванова Александра Васильевна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Иванова А.В., Сафронов В.А., Зубова А.А., Попов Н.В., Кожанова О.И., Матвеева Н.И., Вяткин И.Н., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Методические подходы к оценке экономического ущерба, связанного с заболеваемостью геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:96–104. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-96-104

Поступила 27.01.2023. Принята к публ. 03.02.2023.

A.V. Ivanova¹, V.A. Safronov¹, A.A. Zubova¹, N.V. Popov¹, O.I. Kozhanova², N.I. Matveeva²,
I.N. Vyatkin², S.A. Shcherbakova¹, V.V. Kutyrev¹

Methodological Approaches to Assessing the Economic Damage Associated with the Incidence of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Russian Federation

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

²Rospotrebnadzor Administration in the Saratov Region, Saratov, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to develop methodological approaches to assessing the economic damage associated with the incidence of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) and to calculate the economic damage by the example of an outbreak of HFRS in the Saratov region in 2019. **Materials and methods.** The paper analyzes the economic indicators of the Federal State Statistics Service; data on the incidence of HFRS in the Russian Federation for the period of 2019–2022. To calculate the cost of outpatient and inpatient medical care, as well as the costs associated with the medical follow-up of convalescents, the indicators of the Program of state guarantees of free provision of medical care to citizens for 2022 and for the scheduled period of 2023 and 2024 were used. The calculation of economic losses associated with the payment of temporary disability benefits was carried out according to the equation provided in the Federal Law No. 255-FZ dated December 29, 2006 (as amended on October 07, 2022). Economic losses associated with premature death at an economically active age were calculated based on the value of unproduced GDP due to lost years of life in the corresponding age group. **Results and discussion.** The costs of treatment, rehabilitation and payment of temporary disability benefits for 1 case of HFRS at the age of 0 to 56.5 years for the female population and from 0

to 61.5 years for the male population amount to 140 495 rubles; over the age of 56.5 years for the female population and 61.5 years for the male population – 95 412 rubles, respectively. Each fatal case of HFRS aged 0 to 16 years among the male population costs the state 38 976 231 rubles; among the female population – 34 708 331 rubles; in active working age – the value of economic damage varies depending on the age of the person who died of HFRS. The economic damage of the outbreak of HFRS in the Saratov Region (2019), taking into account the direct expenditures of the healthcare system and indirect losses of the country's economy amounted to 441 453 432 rubles. It is of note that the structure of the main damage is dominated by indirect losses in the economy caused by the premature death of people in economically active age.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome, economic damage, socio-economic losses.

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

Corresponding author: Aleksandra V. Ivanova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Ivanova A.V., Safronov V.A., Zubova A.A., Popov N.V., Kozhanova O.I., Matveeva N.I., Vyatkin I.N., Shcherbakova S.A., Kutuyrev V.V. Methodological Approaches to Assessing the Economic Damage Associated with the Incidence of Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Russian Federation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:96–104. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-96-104

Received 27.01.2023. Accepted 03.02.2023.

Ivanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4849-3866>

Safronov V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9563-2833>

Zubova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8741-5756>

Popov N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4099-9261>

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

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

В настоящее время более 3 млрд человек – 37,5 % населения мира – подвергаются риску заболевания вирусными геморрагическими лихорадками (ВГЛ). По последним оценкам ВОЗ, ежегодно в мире происходит от 50 до 100 млн случаев инфицирования ВГЛ. Каждый год 500 тыс. человек с тяжелыми формами течения болезни требуется госпитализация, причем значительную долю из этого числа составляют дети. Примерно 2,5 % людей, пораженных болезнью, умирает [1].

Группа ВГЛ включает более 15 самостоятельных нозологических форм инфекций, объединенных рядом общих признаков (наличие природного резервуара, природная очаговость, наличие геморрагического синдрома в клинической картине) [2]. Практически все возбудители ВГЛ относятся к 1-й (Эбола, Марбург, Ласса, Хунин, Мачупо, Себиа, Гуанарито) и 2-й (Киассанурская лесная, Омская, желтая лихорадка, денге, Крымская-Конго геморрагическая лихорадка и хантавирусная инфекция: ГЛПС – геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, ХПС – хантавирусный пульмональный синдром) группам патогенности и вызывают самые опасные заболевания на планете. И если одни возбудители ВГЛ циркулируют в географически ограниченных районах ввиду локального ареала обитания их основных природных резервуаров (например, болезни, вызванные вирусом Эбола [БВВЭ] и Марбург [БВВМ], и др.), то другие распространены почти по всему миру ввиду широкого спектра природных резервуаров или их повсеместного распространения (например, ГЛПС). В последние десятилетия проблема ВГЛ стала особенно актуальной в связи с учащением частоты вспышек на эндемичных территориях в силу различных природно-климатических и социальных факторов. Масштабы распространения некоторых ВГЛ колоссальны, а общий тренд климатических изменений в сторону потепления определяет высокую вероятность дальнейшего распространения ВГЛ с охватом новых территорий.

Суммарный экономический ущерб от заболеваний, относящихся к группе ВГЛ, трудно оценить в мировом масштабе. Ввиду отсутствия полноценных сведений можно привести данные Всемирного банка, посвященные анализу экономических последствий эпидемии лихорадки Эбола в странах Западной Африки в 2014–2016 гг. В 2014 г. вспышка обошлась Гвинее в 130 млн долл. (2,1 % валового внутреннего продукта – ВВП), Либерии – в 66 млн долл. (3,4 % ВВП), Сьерра-Леоне – в 163 млн долл. (3,3 % ВВП). В общей сложности эти государства понесли убытки, связанные с расходами на локализацию и ликвидацию очага, в 359 млн долл. За весь период эпидемии, с 2014 по 2016 год, прямой экономический ущерб для трех указанных стран составил 2,2 млрд долл. По мнению ряда авторов, суммарные экономические потери эпидемии составили от 32,6 до 53,19 млрд долл. [3, 4]. По оценкам, эпидемия лихорадки Зика обошлась Латинской Америке и странам Карибского бассейна в 7–18 млрд долл. только с 2015 по 2017 год [5]. При этом экономический ущерб составляют не только прямые экономические затраты, но и опосредованно связанные с ними экономические потери. Так, во время вспышки лихорадки Рифт-Валли в Сомали в 1998–2002 гг. более 400 млн долл. составляли экономические потери, связанные с нарушением экспорта скота [6], а экономический ущерб вспышки БВВЭ в Западной Африке (2014–2016 гг.) в 18,8 млрд долл. был обусловлен смертностью от причин, не связанных с лихорадкой Эбола [7, 8]. Глобальные экономические потери, связанные с более широко распространенными и часто регистрируемыми заболеваниями, такими как ГЛПС или лихорадка денге, достоверно оценить практически невозможно.

Для Российской Федерации серьезную проблему общественному здравоохранению среди всех ВГЛ представляет заболеваемость ГЛПС. Несмотря на то, что ГЛПС – это строгий зооноз и заболевший человек не представляет эпидемиологической опасности для окружающих, известен природный резервуар и разработано множество методик по профи-

лактике болезни в природных очагах, до сих пор не удается решить эту проблему и кардинально снизить заболеваемость ГЛПС. Экономический ущерб от высокой заболеваемости ГЛПС для бюджета страны исчисляется миллиардами рублей ежегодно. Согласно официальной статистике, опубликованной в государственных докладах «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации» за последние пять лет, в России экономический ущерб от заболеваний ВГЛ составил более 40 млрд рублей.

Высокая социальная и медицинская значимость проблемы ГЛПС в Российской Федерации обусловлена широким распространением этой инфекции (болезнь регистрируется во всех федеральных округах страны, в 56 субъектах), высокими показателями заболеваемости (за период с 2012 по 2021 год зарегистрировано 72009 случаев болезни; 4,8 на 100 тыс. населения) с преимущественным поражением людей в возрасте от 30 до 59 лет (64 % от общего числа заболевших), сопровождающимися длительным периодом утраты трудоспособности (период реконвалесценции продолжается до 2 месяцев; в тяжелых случаях – до 2–3 лет), значительной частотой тяжелых форм течения болезни (до 13 %) и отсутствием специфических средств лечения и профилактики. Среди прочего, социально-экономические потери усугубляются снижением качества жизни пациентов, перенесших ГЛПС, и ростом затрат на пожизненное применение лекарственных препаратов, дорогостоящую высокотехнологичную медицинскую помощь, длительными периодами нетрудоспособности и выплатами по инвалидности.

В настоящее время экономический анализ инфекционных болезней является обязательным условием эффективного функционирования санитарно-эпидемиологической службы. Его применение направлено на уточнение стратегии и совершенствование тактики лечебно-профилактической и противоэпидемической работы.

При использовании экономического анализа нередко возникают затруднения, связанные в основном с недостаточным пониманием отдельных компонентов его методологии. Методики расчета экономического ущерба, применяемые в настоящее время, позволяют весьма приблизительно оценить потери, обусловленные вспышками инфекционных болезней. Меняющийся уровень инфляции, изменения в законодательстве в отношении размера и порядка выплат пособий по временной нетрудоспособности, отличия в величине заработной платы и величине пособий в разных хозяйствующих субъектах Российской Федерации делают расчеты еще менее точными. Результаты оценки потерь, выполненные разными экспертами, учитывающие разные наборы показателей, зачастую оказываются несопоставимыми. В настоящее время все известные методы являются приблизительно либо ориентированными на расчет по очень подробным статистическим данным, кото-

рых нет в наличии [3, 9]. Стоимостные характеристики экономического ущерба, рассчитанные в соответствии с ГОСТ Р 57525-2017, не учитывают не прямых экономических потерь, а методика расчета «стандартных» величин экономического ущерба [10, 11] не отражает специфику половозрастного состава заболевших.

В связи с этим актуальной задачей для эпиднадзора за ГЛПС является оценка экономического ущерба, включающая все социальные и экономические аспекты, учитывающие не только прямые расходы, связанные с госпитализацией и лечением заболевшего ГЛПС, но и не прямые потери в экономике.

Целью данного исследования явилась разработка методических подходов к оценке экономического ущерба, связанного с заболеваемостью ГЛПС, с учетом критериев прямых затрат системы здравоохранения и не прямых потерь в экономике страны в связи с преждевременной смертью и временной нетрудоспособностью, а также расчет экономического ущерба на примере вспышки ГЛПС в Саратовской области в 2019 г.

Материалы и методы

В рамках настоящего исследования проведена оценка экономического ущерба от одного случая заболевания ГЛПС, включая расчеты прямых медицинских затрат (лечение и реабилитация заболевших), прямых немедицинских затрат (социальные выплаты пособия по временной нетрудоспособности, обусловленные заболеванием) и не прямых экономических потерь (стоимость непроизведенной продукции в размере недополученного вклада в ВВП по причине преждевременной смерти в трудоспособном возрасте).

В работе проанализированы следующие источники данных:

- экономические показатели Федеральной службы государственной статистики (www.rosstat.gov.ru), включая ВВП, ВВП на одного занятого в экономике РФ, количество экономически активного населения страны, среднюю заработанную плату и др.;

- результаты Всероссийской переписи населения (2020–2021 гг.): к экономически активному населению Российской Федерации относится мужское население в возрасте от 16 до 61,5 лет; женское население – в возрасте от 16 до 56,5 лет;

- данные по заболеваемости населения ГЛПС в РФ за период с 2019 по 2022 год, полученные из статистических форм отчетности № 1 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях»;

- персонифицированная информация о 2702 случаях заболевания ГЛПС, зарегистрированных на территории Саратовской области в 2019 г., полученная из экстренных извещений об инфекционном заболевании по форме 058/у, предоставленная Управлением Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Саратовской области.

Для расчета стоимости амбулаторной и стационарной медицинской помощи, а также расходов, связанных с диспансеризацией переболевших, использованы показатели Программы государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2022 год и на плановый период 2023 и 2024 годов.

Расчет экономических потерь, связанных с выплатами пособий по временной нетрудоспособности, производили согласно формуле, представленной в Федеральном законе от 29.12.2006 № 255-ФЗ (ред. от 07.10.2022) «Об обязательном социальном страховании на случай временной нетрудоспособности и в связи с материнством». При этом учитывали средний дневной заработок граждан РФ в экономически активном возрасте, рассчитанный на основании среднего оклада в РФ до удержания налоговых вычетов, по данным www.rosstat.gov.ru. Вместе с тем, учитывая тот факт, что, по данным Федеральной службы государственной статистики, только 90 % экономически активного населения страны заняты в экономической деятельности, а 10 % являются безработными, при расчете экономических потерь, связанных с выплатами пособий по временной нетрудоспособности, учитывали понижающий коэффициент в размере 0,9.

Экономические потери, связанные с преждевременной смертью в экономически активном возрасте, рассчитывались исходя из значения непроизведенного ВВП вследствие потерянных лет жизни в соответствующей возрастной группе отдельно для мужского и женского населения страны. Потерянные годы потенциальной экономически активной жизни рассчитывались путем вычисления разности среднего возраста выхода на пенсию и возраста умерших. Упущенная выгода ВВП характеризовалась производением показателя потерянных лет потенциальной экономически активной жизни и ВВП на одного занятого в экономике РФ в 2022 г. с учетом понижающего коэффициента (0,9) – доли занятого населения в экономике страны.

Результаты и обсуждение

Экономическая значимость инфекционной болезни определяется путем измерения и оценки экономического ущерба в денежном выражении. Под экономическим ущербом в данной работе понимается совокупность расходов государства, связанных с лечением и реабилитацией заболевших, государственными выплатами в связи с временной потерей трудоспособности и снижением производства внутреннего валового продукта и общих доходов государства в результате летального случая ГЛПС в экономически активном возрасте.

Основным показателем прямого экономического ущерба, связанного с заболеванием ГЛПС, являются затраты на оказание медицинской помощи. Согласно расчету тарифа на оплату медицинской помощи по поводу лечения случая заболевания

ГЛПС в стационарных условиях по формуле, представленной в постановлении Правительства РФ от 28.12.2021 № 2505 «О Программе государственных гарантий бесплатного оказания гражданам медицинской помощи на 2022 год и на плановый период 2023 и 2024 годов», стоимость одного случая госпитализации, связанной с предоставляемой медицинской помощью в условиях стационара больному ГЛПС, составляет 88290,1 рубля.

Необходимо отметить, что перенесшим ГЛПС в течение длительного времени после выздоровления требуется медицинское наблюдение для своевременного выявления и лечения последствий болезни. Согласно клиническим рекомендациям «Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом у взрослых» (разработаны Минздравом России, пересмотрены в 2022 г.) – диспансеризация реконвалесцентов ГЛПС осуществляется в поликлинике по месту жительства при отсутствии жалоб пациента после выписки через 1, 3, 6, 9, 12, 18 и 24 месяца. В рамках диспансерного наблюдения проводится исследование общего анализа крови, общего анализа мочи и мочи по Нечипоренко, биохимического анализа крови с определением уровня мочевины, креатинина, белковых фракций, трансаминаз печени, электрокардиография, ультразвуковое исследование почек. Для диагностики последствий ГЛПС в ряде случаев требуется применение целенаправленных диагностических лабораторных и инструментальных методов, консультации специалистов. Снимаются с медицинского учета лица, перенесшие ГЛПС, только при отсутствии жалоб и изменений со стороны внутренних органов по истечении двухлетнего срока диспансерного наблюдения, которое в свою очередь также представляет собой один из компонентов прямых медицинских затрат и накладывает колоссальные издержки на бюджет страны. Согласно программе госгарантий на 2022 г. и на плановый период 2023 и 2024 гг., средний финансовый норматив одного случая углубленной диспансеризации установлен на уровне 1017,5 рубля. Таким образом, семикратное прохождение диспансеризации одного переболевшего ГЛПС бюджету страны обходится в 7122,5 рубля.

Непрямые экономические потери для государства связаны с временной утратой трудоспособности на период лечения и реабилитации после перенесенного заболевания ГЛПС. Согласно Методическим рекомендациям «Ориентировочные сроки временной утраты трудоспособности при наиболее распространенных заболеваниях и травмах» (утв. 21.08.2000 Минздравом России № 2510/9362-34 и Фондом социального страхования РФ № 02-08/10-1977П) – временная утрата трудоспособности при заболевании ГЛПС составляет от 30 до 50 дней. Необходимо отметить, что после перенесенного заболевания ГЛПС требуется длительная реабилитация (при легком течении болезни – 3 месяца, при заболевании средней тяжести – 6, при тяжелой форме – 12 месяцев и более). Период поздней реконвалесценции в случа-

ях тяжелого течения болезни может растягиваться до 2–3 лет. По правилам медицинского страхования в РФ пациенты, перенесшие ГЛПС, выписываются из стационара (где в среднем проводят при легком течении болезни 10–15 дней, при заболевании средней тяжести – 15–20, при тяжелой форме – 30 дней и более) с открытым больничным листом. На основании приказа Минздрава России от 01.09.2020 № 925н «Об утверждении порядка выдачи и оформления листков нетрудоспособности, включая порядок формирования листков нетрудоспособности в форме электронного документа» больничный лист может быть продлен до полного периода нетрудоспособности, но не более 10 месяцев. При этом при расчете непрямых экономических потерь, связанных с временной утратой трудоспособности работающего населения, учитывался средний период нетрудоспособности в 30 календарных дней. С учетом среднемесячного оклада работающего населения страны в 2022 г. в размере 50747 рублей – пособие по временной нетрудоспособности в связи с заболеванием ГЛПС составило 50051,8 рубля за 30 дней нетрудоспособности. Принимая во внимание тот факт, что дети до 16 лет не относятся к числу экономически активного населения РФ, пособие по временной нетрудоспособности по уходу за заболевшим ребенком получает один из родителей или опекунов ребенка. Лица старше 61,5 лет среди мужского населения и старше 56,5 лет среди женского населения, относящиеся к категории «неработающий пенсионер», пособие по временной утрате трудоспособности не получают.

Таким образом, при расчете экономического ущерба для бюджета страны от одного случая заболевания ГЛПС, закончившегося выздоровлением, установлено, что затраты на лечение, реабилитацию и выплату пособий по временной нетрудоспособности одного случая заболевания ГЛПС в возрасте от 0 до 56,5 лет для женского населения и от 0 до 61,5 лет для мужского населения составляют 140495 рублей; в возрасте старше 56,5 лет для женского населения и 61,5 лет для мужского населения – 95412 рублей.

Проведенные до настоящего времени исследования свидетельствуют о наличии у перенесших ГЛПС остаточных (резидуальных) явлений со стороны органов и систем, которые сохраняются длительно и значительно снижают качество жизни пациентов. Остаточные явления у перенесших ГЛПС включают в себя постинфекционную астению (20–22 %), почечные проявления (25–26 %), поражения нейроэндокринной системы (22–23 %), постинфекционную миокардиодистрофию (6–7 %). Среди наиболее грозных осложнений перенесенного ГЛПС наблюдаются хронический пиелонефрит, артериальная гипертензия, хроническая сердечная недостаточность, хроническая почечная недостаточность [12]. Согласно литературным данным, геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, протекающая в тяжелой степени у четверти заболевших, приводит к инвалидизации. Однако само заболевание ГЛПС не является

непосредственной причиной инвалидизации, в связи с чем оценить экономический ущерб, связанный с объемами выплат пособий по инвалидности у переболевших ГЛПС, не представляется возможным.

ГЛПС – это заболевание, способное не только вызывать тяжелые или стойкие индивидуальные нарушения здоровья, сопровождающиеся длительной потерей трудоспособности и инвалидизацией переболевших, но и приводить к летальному исходу. Средний показатель летальности от заболевания ГЛПС за период с 2019 по 2022 год в РФ составил 0,33 %. Несмотря на относительно низкую летальность, каждый случай смерти в трудоспособном возрасте сопровождается тяжелыми экономическими потерями для государства. При этом наибольшую экономическую значимость имеет летальность среди детского населения. Каждый летальный случай ГЛПС в возрасте от 0 до 16 лет среди мужского населения, с учетом потерянных лет экономической активности и упущенной выгоды ВВП, обходится государству в 38976231 рубль; среди женского населения – 34708331 рубль. С учетом меняющегося количества потерянных лет в зависимости от возраста умершего по причине заболевания ГЛПС будет меняться и упущенная выгода ВВП, в связи с чем экономический ущерб от летального случая ГЛПС для разных возрастных групп среди мужского и женского населения будет различным. Пример расчета экономического ущерба от одного летального случая ГЛПС в разных возрастных группах с учетом пола экономически активного населения представлен в таблице. Каждый летальный случай ГЛПС в возрасте старше 61,5 лет для мужчин и 56,5 лет для женщин обходится государству в 88290 рублей.

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом является наиболее актуальной внутренней угрозой санитарно-эпидемиологическому благополучию населения Российской Федерации, занимая лидирующие позиции в общей структуре природно-очаговой заболеваемости в стране. Границы природных очагов ГЛПС расширяются, постепенно вовлекая в этот процесс территории, ранее считавшиеся свободными от ГЛПС. В настоящее время болезнь регистрируется во всех федеральных округах России, в 56 субъектах. При этом более 80 % случаев (82,2 % за последние пять лет) приходится на Приволжский федеральный округ, заболеваемость в котором в 3,9 раза выше, чем в среднем по России. Причем, наряду со стабильно напряженной эпидемиологической обстановкой по ГЛПС, в отдельные годы происходят резкие подъемы заболеваемости (в частности, в 1997 г. в Республике Башкортостан зарегистрировано 9403 случая ГЛПС, в 2009 г. – 3257; 2022 г. – 2993; в Республике Удмуртия в 2015 г. – 1748; в Саратовской области в 2019 г. – 2702 случая), в связи с чем многократно увеличиваются и экономические потери для государства.

На основании выполненной работы ниже произведены расчеты экономического ущерба, вызванного

**Пример оценки экономического ущерба от одного летального случая ГЛПС в разных возрастных группах
экономически активного населения в 2022 г.***

Example of evaluation of economic damage of single lethal case of HFRS in different age groups of economically active population in 2022*

Возраст, лет Age, years	Пол Gender	Потерянные годы экономической активности Lost years of economic activity	Упущенная выгода ВВП, руб. Lost GDP profit, rubles	Экономический ущерб от 1 летального случая ГЛПС, руб. Economic damage caused by 1 lethal case of HFRS, rubles
1	2	3	4	5
16	муж./male	45,5	34 954 101	35 092 442,90
16	жен./female	40,5	31 112 991	31 251 332,90
17	муж./male	44,5	34 185 879	34 324 220,90
17	жен./female	39,5	30 344 769	30 483 110,90
18	муж./male	43,5	33 417 657	33 555 998,90
18	жен./female	38,5	29 576 547	29 714 888,90
19	муж./male	42,5	32 649 435	32 787 776,90
19	жен./female	37,5	28 808 325	28 946 666,90
20	муж./male	41,5	31 881 213	32 019 554,90
20	жен./female	36,5	28 040 103	28 178 444,90
21	муж./male	40,5	31 112 991	31 251 332,90
21	жен./female	35,5	27 271 881	27 410 222,90
22	муж./male	39,5	30 344 769	30 483 110,90
22	жен./female	34,5	26 503 659	26 642 000,90
23	муж./male	38,5	29 576 547	29 714 888,90
23	жен./female	33,5	25 735 437	25 873 778,90
24	муж./male	37,5	28 808 325	28 946 666,90
24	жен./female	32,5	24 967 215	25 105 556,90
25	муж./male	36,5	28 040 103	28 178 444,90
25	жен./female	31,5	24 198 993	24 337 334,90
26	муж./male	35,5	27 271 881	27 410 222,90
26	жен./female	30,5	23 430 771	23 569 112,90
27	муж./male	34,5	26 503 659	26 642 000,90
27	жен./female	29,5	22 662 549	22 800 890,90
28	муж./male	33,5	25 735 437	25 873 778,90
28	жен./female	28,5	21 894 327	22 032 668,90
29	муж./male	32,5	24 967 215	25 105 556,90
29	жен./female	27,5	21 126 105	21 264 446,90
30	муж./male	31,5	24 198 993	24 337 334,90
30	жен./female	26,5	20 357 883	20 496 224,90
31	муж./male	30,5	23 430 771	23 569 112,90
31	жен./female	25,5	19 589 661	19 728 002,90
32	муж./male	29,5	22 662 549	22 800 890,90
32	жен./female	24,5	18 821 439	18 959 780,90
33	муж./male	28,5	21 894 327	22 032 668,90
33	жен./female	23,5	18 053 217	18 191 558,90
34	муж./male	27,5	21 126 105	21 264 446,90
34	жен./female	22,5	17 284 995	17 423 336,90
35	муж./male	26,5	20 357 883	20 496 224,90
35	жен./female	21,5	16 516 773	16 655 114,90
36	муж./male	25,5	19 589 661	19 728 002,90
36	жен./female	20,5	15 748 551	15 886 892,90
37	муж./male	24,5	18 821 439	18 959 780,90
37	жен./female	19,5	14 980 329	15 118 670,90
38	муж./male	23,5	18 053 217	18 191 558,90
38	жен./female	18,5	14 212 107	14 350 448,90
39	муж./male	22,5	17 284 995	17 423 336,90
39	жен./female	17,5	13 443 885	13 582 226,90
40	муж./male	21,5	16 516 773	16 655 114,90
40	жен./female	16,5	12 675 663	12 814 004,90

Окончание таблицы / Ending of table

1	2	3	4	5
41	муж./male	20,5	15 748 551	15 886 892,90
41	жен./female	15,5	11 907 441	12 045 782,90
42	муж./male	19,5	14 980 329	15 118 670,90
42	жен./female	14,5	11 139 219	11 277 560,90
43	муж./male	18,5	14 212 107	14 350 448,90
43	жен./female	13,5	10 370 997	10 509 338,90
44	муж./male	17,5	13 443 885	13 582 226,90
44	жен./female	12,5	9 602 775	9 741 116,90
45	муж./male	16,5	12 675 663	12 814 004,90
45	жен./female	11,5	8 834 553	8 972 894,90
46	муж./male	15,5	11 907 441	12 045 782,90
46	жен./female	10,5	8 066 331	8 204 672,90
47	муж./male	14,5	11 139 219	11 277 560,90
47	жен./female	9,5	7 298 109	7 436 450,90
48	муж./male	13,5	10 370 997	10 509 338,90
48	жен./female	8,5	6 529 887	6 668 228,90
49	муж./male	12,5	9 602 775	9 741 116,90
49	жен./female	7,5	5 761 665	5 900 006,90
50	муж./male	11,5	8 834 553	8 972 894,90
50	жен./female	6,5	4 993 443	5 131 784,90
51	муж./male	10,5	8 066 331	8 204 672,90
51	жен./female	5,5	4 225 221	4 363 562,90
52	муж./male	9,5	7 298 109	7 436 450,90
52	жен./female	4,5	3 456 999	3 595 340,90
53	муж./male	8,5	6 529 887	6 668 228,90
53	жен./female	3,5	2 688 777	2 827 118,90
54	муж./male	7,5	5 761 665	5 900 006,90
54	жен./female	2,5	1 920 555	2 058 896,90
55	муж./male	6,5	4 993 443	5 131 784,90
55	жен./female	1,5	1 152 333	1 290 674,90
56	муж./male	5,5	4 225 221	4 363 562,90
56	жен./female	0,1	76 822,2	215 164,10
57	муж./male	4,5	3 456 999	3 595 340,90
57	жен./female	—	0	88 290,10
58	муж./male	3,5	2 688 777	2 827 118,90
58	жен./female	—	0	88 290,10
59	муж./male	2,5	1 920 555	2 058 896,90
59	жен./female	—	0	88 290,10
60	муж./male	1,5	1 152 333	1 290 674,90
60	жен./female	—	0	88 290,10
61	муж./male	0,5	384 111	522 452,90

Примечание: *ВВП на одного занятого в РФ в 2022 г. составил 853 580 рублей, понижающий коэффициент – 0,9.

Note: *GDP per one employed person in RF in 2022 amounted to 853 580 rubles, decreasing coefficient – 0.9.

вспышкой ГЛПС, для бюджета Саратовской области в 2019 г.

В 2019 г. на территории Саратовской области была отмечена нетипичная, крайне напряженная эпидемиологическая обстановка по ГЛПС. Всего по Саратовской области зарегистрировано 2702 случая заболевания ГЛПС. Показатель заболеваемости составил 110,20 на 100 тыс. населения, при среднемноголетнем уровне 4,4 на 100 тыс. населения. При этом подавляющее большинство случаев заболе-

вания зарегистрировано среди жителей Саратова и Саратовского района, что составило 75 % от общего числа заболевших по области (2084 случая заболевания). По степени клинической тяжести преобладали среднетяжелые формы течения болезни. Максимальное число заболевших зарегистрировано в возрастной группе 20–49 лет среди лиц мужского пола [13]. Среди заболевших в возрасте до 16 лет зарегистрировано 63 случая (43 – среди мужчин; 20 – среди женщин); в возрасте от 17 лет до 61 года среди

мужчин – 1630 случаев; в возрасте от 17 до 56 лет среди женщин – 868; среди мужского населения старше 61,5 лет – 116; среди женского населения старше 56,5 лет – 25 случаев. Зарегистрировано 3 летальных исхода болезни среди мужского населения, из них 1 случай в возрасте 30 лет; 1 – в возрасте 38 лет; 1 – в возрасте 50 лет; 1 летальный случай среди женского населения – в возрасте 38 лет.

На основании представленных данных экономические потери в связи с регистрацией 2698 случаев заболевания ГЛПС, закончившихся выздоровлением, составили 375601198 рублей.

Непрямые потери в экономике в связи с преждевременной смертью 4 человек в трудоспособном возрасте составили 65852234 рубля.

Таким образом, непредотвращенные экономические потери, с учетом прямых затрат системы здравоохранения и не прямых потерь в экономике страны в связи с преждевременной смертью и временной нетрудоспособностью, понесенные государством в результате вспышки ГЛПС в Саратовской области в 2019 г., составили 441453432 рубля.

Следует учесть, что экономический ущерб, рассчитанный в данной работе, не учитывал затрат на проведение экстренных противоэпидемических мероприятий, стоимость которых многократно увеличила показатель экономического ущерба.

Использование рассмотренных методических подходов к оценке экономического ущерба, связанного с заболеваемостью геморрагической лихорадкой с почечным синдромом, рекомендовано при последующей оценке экономического эффекта проводимых профилактических мероприятий с целью минимизации риска здоровью населения страны, связанного с ГЛПС [14, 15].

В ходе выполненной работы предложена методика расчета экономического ущерба, наносимого одним случаем ГЛПС в Российской Федерации. Установлено, что затраты на лечение, реабилитацию и выплату пособий по временной нетрудоспособности одного случая заболевания ГЛПС в возрасте от 0 до 56,5 лет для женского населения и от 0 до 61,5 лет для мужского населения составляют 140495 рублей; в возрасте старше 56,5 лет для женского населения и 61,5 лет для мужского населения – 95412 рублей.

Каждый летальный случай ГЛПС в возрасте от 0 до 16 лет среди мужского населения, с учетом потерянных лет экономической активности и упущенной выгоды ВВП, обходится государству в 38976231 рубль; среди женского населения – 34708331 рубль; в трудоспособном возрасте значение экономического ущерба разнится в зависимости от возраста человека, умершего в результате заболевания ГЛПС. Каждый летальный случай ГЛПС в возрасте старше 61,5 лет для мужчин и 56,5 лет для женщин обходится государству в 88290 рублей.

Приведены конкретные результаты расчета экономического ущерба вспышки ГЛПС в Саратовской области (2019 г.), который с учетом прямых затрат

системы здравоохранения и не прямых потерь в экономике страны в связи с преждевременной смертью и временной нетрудоспособностью составил 441453432 рубля.

Подчеркнуто, что в структуре основного ущерба преобладают не прямые потери в экономике, обусловленные преждевременной смертью лиц экономически активного возраста. Полученные данные однозначно свидетельствуют о необходимости значительного повышения эффективности эпидемиологического надзора в природных очагах ГЛПС на территории России с целью снижения заболеваемости ГЛПС за счет разработок качественно новых подходов к оценке территории с позиции эпидемиологического риска, а также прогнозирования эпидемиологических осложнений ГЛПС. Потери в экономике являются значимым аргументом для стимулирования инвестиций в профилактику. Поскольку методы специфической профилактики в настоящий момент находятся на стадии разработки, основное значение в предупреждении заболевания ГЛПС придается комплексу мер неспецифической профилактики, в связи с чем необходимо внедрять научно обоснованные подходы к планированию профилактических мероприятий в очагах ГЛПС, с использованием возможностей современных информационных систем, в том числе ГИС-технологий. Рациональное проведение комплекса неспецифических профилактических мероприятий позволит снизить уровень заболеваемости ГЛПС на территории Российской Федерации и предотвратить колоссальный экономический ущерб, наносимый государству.

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

Список литературы

1. Viral haemorrhagic fevers. [Электронный ресурс]. World Health Organization Regional Office for the Eastern Mediterranean. URL: <https://www.emro.who.int/health-topics/haemorrhagic-fevers-viral/introduction.html> (дата обращения 28.12.2022).
2. Брико Н.И., Онищенко Г.Г., Покровский В.И. Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней: в 2 т. М.: Медицинское информационное агентство; 2019. Т. 1 – 880 с.; Т. 2 – 768 с.; ил.
3. Брюханова Г.Д., Горodin В.Н., Романов С.М., Редько А.Н., Носиков Д.В., Гриненко С.В. Проблемы оценки социально-экономического ущерба вследствие эпидемий. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2021; 20(2):93–101. DOI: 10.31631/2073-3046-2021-20-2-93-101.
4. Huber C., Finelli L., Stevens W. The economic and social burden of the 2014 Ebola outbreak in West Africa. *J. Infect. Dis.* 2018; 218(suppl. 5):S698–S704. DOI: 10.1093/infdis/jiy213.4.
5. A Socio-economic Impact Assessment of the Zika Virus in Latin America and the Caribbean. [Электронный ресурс]. United Nations Development Programme. URL: <http://www.undp.org/content/undp/en/home/librarypage/hiv-aids/a-socio-economic-impact-assessment-of-the-zika-virus-in-latin-am.html> (дата обращения 29.12.2022).
6. Cagnolati V., Tempia S., Abdi A.M. Economic impact of Rift Valley fever on the Somali livestock industry and a novel surveillance approach in nomadic pastoral systems. In: *Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics*. 2006. P. 551.
7. A wake-up call: lessons from Ebola for the World Health Systems. [Электронный ресурс]. Save the Children International. URL: <https://www.savethechildren.org.uk/content/dam/global/reports/health-and-nutrition/a-wake-up-call.pdf> (дата обращения 28.12.2022).

8. Smith K.M., Machalaba C.C., Seifman R., Feferholtz Y., Karesh W.B. Infectious disease and economics: The case for considering multi-sectoral impacts. *One Health*. 2019; 7:100080. DOI: 10.1016/j.onehlt.2018.100080.
9. Лешчук С.И., Суркова И.В., Ольшевский А.Г. Расчет экономического ущерба от заболеваемости населения. *Вестник Иркутского государственного технического университета*. 2014; 1:137–44.
10. Шаханина И.Л., Паранина Л.А., Пименова М.Н. О социально-экономической значимости инфекционных болезней. Сообщение III. Основные направления и методы социально-экономических исследований в связи с задачами эпидемиологической науки и практики. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1974; 9:79–83.
11. Шаханина И.Л., Осипова Л.А., Виноград Д.Л. Разработка автоматизированной системы расчета «стандартных» значений экономического ущерба, наносимого одним случаем инфекционной болезни. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1993; 1:33–9.
12. Еникеева З.М., Агзамова Р.Ф. Исходы острого повреждения почек при геморрагической лихорадке с почечным синдромом. *Фундаментальные исследования*. 2013; 2(1):56–60.
13. Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В., Кожанова О.И., Матвеева Н.И., Кресова У.А., Чумачкова Е.А., Пospelov М.В., Архипова Г.Н., Вяткин И.Н., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Эпидемиологические особенности вспышки ГЛПС в Саратовской области 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:78–85. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-78-85.
14. Смоленский В.Ю., Шур П.З., Суворов Д.В., Голева О.И., Сафронов В.А., Хрущева Е.В., Виндокуров И.В. Методические подходы к оценке экономического эффекта мероприятий по минимизации риска здоровью, связанного с особо опасными инфекциями. *Анализ риска здоровью*. 2017; 4:32–8. DOI: 10.21668/health.risk/2017.4.03.
15. Михеева М.А., Михеева И.В. Динамика рейтинга экономического ущерба от инфекционных болезней как критерий эффективности эпидемиологического контроля. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(2):174–81. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-2-174-181.
7. A wake-up call: lessons from Ebola for the World Health Systems. (Cited 28 Dec 2022). [Internet]. Save the Children International. Available from: <https://www.savethechildren.org.uk/content/dam/global/reports/health-and-nutrition/a-wake-up-call.pdf>.
8. Smith K.M., Machalaba C.C., Seifman R., Feferholtz Y., Karesh W.B. Infectious disease and economics: The case for considering multi-sectoral impacts. *One Health*. 2019; 7:100080. DOI: 10.1016/j.onehlt.2018.100080.
9. Leshchuk S.I., Surkova I.V., Olshevsky A.G. [Calculation of economic loss from population disease incidence]. *Vestnik Irkutskogo Gosudarstvennogo Tekhnicheskogo Universiteta [Bulletin of the Irkutsk State Technical University]*. 2014; (1):137–44.
10. Shakhaniina I.L., Paraniina L.A., Pimenova M.N. [On the socio-economic significance of infectious diseases. Communication III. The main areas and methods of socio-economic research in connection with the tasks of epidemiological science and practice]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1974; (9):79–83.
11. Shakhaniina I.L., Osipova L.A., Vinograd D.L. [Development of an automated system for calculating “standard” values of the economic damage caused by single case of an infectious disease]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1993; (1):33–9.
12. Enekeeva Z.M., Agzamova R.F. [Outcomes of acute kidney injury in case of hemorrhagic fever with renal syndrome]. *Fundamental'nye Issledovaniya [Fundamental Research]*. 2013; 2(1):56–60.
13. Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V., Kozhanova O.I., Matveeva N.I., Kresova U.A., Chumachkova E.A., Pospelov M.V., Arkhipova G.N., Vyatkin I.N., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. [Epidemiological Features of HFRS (Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome) Outbreak in the Saratov Region in 2019]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):78–85. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-78-85.
14. Smolensky V.Yu., Shur P.Z., Suvorov D.V., Goleva O.I., Safronov V.A., Khrushcheva E.V., Vindokurov I.V. [Methodological approaches to assessing economic effects of activities aimed at minimizing health risks related to extremely dangerous infections]. *Analiz Riska Zdorov'yu [Health Risk Analysis]*. 2017; (4):32–8. DOI: 10.21668/health.risk/2017.4.03.
15. Mikheeva M.A., Mikheeva I.V. [Dynamics of the rating of economic damage from infectious diseases as a criterion for the effectiveness of epidemiological control]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2020; 97(2):174–81. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-2-174-181.

References

1. Viral haemorrhagic fevers. (Cited 28 Dec 2022). [Internet]. World Health Organization Regional Office for the Eastern Mediterranean. Available from: <https://www.emro.who.int/health-topics/haemorrhagic-fevers-viral/introduction.html>.
2. Briko N.I., Onishchenko G.G., Pokrovsky V.I. [Guidelines on the Epidemiology of Infectious Diseases: in 2 volumes]. Moscow: Medical Information Agency; 2019. Vol. 1 – 880 p.; Vol. 2. – 768 p.: illustrated.
3. Bryukhanova G.D., Gorodin V.N., Romanov S.M., Redko A.N., Nosikov D.V., Grinenko S.V. [Problems of assessing socio-economic damage due to epidemics]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2021; 20(2):93–101. DOI: 10.31631/2073-3046-2021-20-2-93-101.
4. Huber C., Finelli L., Stevens W. The economic and social burden of the 2014 Ebola outbreak in West Africa. *J. Infect. Dis.* 2018; 218(suppl. 5):S698–S704. DOI: 10.1093/infdis/jiy213.4.
5. A Socio-economic Impact Assessment of the Zika Virus in Latin America and the Caribbean. (Cited 29 Dec 2022). [Internet]. United Nations Development Programme. Available from: <http://www.undp.org/content/undp/en/home/librarypage/hiv-aids/a-socio-economic-impact-assessment-of-the-zika-virus-in-latin-am.html>.
6. Cagnolati V., Tempia S., Abdi A.M. Economic impact of Rift Valley fever on the Somali livestock industry and a novel surveillance approach in nomadic pastoral systems. In: Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics. 2006. P. 551.

Authors:

Ivanova A.V., Safronov V.A., Zubova A.A., Popov N.V., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.
Kozhanova O.I., Matveeva N.I., Vyatkin I.N. Rospotrebnadzor Administration in the Saratov Region. 7, Volskaya St., Saratov, 410028, Russian Federation. E-mail: sarrpn@san.ru.

Об авторах:

Иванова А.В., Сафронов В.А., Зубова А.А., Попов Н.В., Щербаклова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.
Кожанова О.И., Матвеева Н.И., Вяткин И.Н. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Саратовской области. Российская Федерация, 410028, Саратов, ул. Вольская, 7. E-mail: sarrpn@san.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-105-110

УДК 616.98:578.834.1

Г.В. Куклина, С.С. Ипатов, А.С. Горшков, Д.В. Печенкин, А.В. Еремкин, А.В. Кузнецовский,
А.С. Туманов, И.В. Дармов

Получение и характеристика гибридом-продуцентов моноклональных антител к антигенам коронавируса SARS-CoV-2

Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров),
Киров, Российская Федерация

Цель работы – получить и охарактеризовать гибридомы-продуценты моноклональных антител к антигенам коронавируса SARS-CoV-2, перспективных для конструирования диагностических иммунохимических тестов. **Материалы и методы.** Для иммунизации мышей линии BALB/c использовали рекомбинантные антигены NP и RBD SARS-CoV-2. Антигенные препараты сорбировали на геле алюминия гидроксида и вводили подкожно мышам линии BALB/c с интервалом 7 дней. Слияние иммунных спленоцитов с клетками миеломной опухоли SP2/0-Ag14 проводили с помощью ПЭГ-1450. Отбор гибридом, секретирующих анти-NP- и анти-RBD-антитела, проводили методом непрямого иммуноферментного анализа (ИФА) в 96-луночных планшетах с сорбированными препаратами NP и RBD. Для клонирования гибридом использовали метод предельных разведений. Изучение секреторных свойств полученных клонов проводили при культивировании *in vitro* в 24-луночных культуральных планшетах. Иммуноасцитические жидкости получали при культивировании гибридных клеток в брюшной полости мышей линии BALB/c. Моноклональные антитела очищали методом аффинной хроматографии на сорбенте протеин А-сефарозе, конъюгировали с пероксидазой хрена и проверяли возможность использования в сэндвич-варианте ИФА для детекции инактивированного коронавируса SARS-CoV-2 штамма «Изолят В». **Результаты и обсуждение.** В результате гибридизаций и отбора клонов получены гибридомы-продуценты моноклональных антител к NP и RBD коронавируса SARS-CoV-2. При культивировании *in vitro* и *in vivo* клоны характеризовались стабильностью пролиферативной и антителопродуцирующей активности. Использование моноклонального антитела 415D12 в качестве захватывающего и конъюгированного с пероксидазой хрена 411D12 в качестве детекторного моноклонального антитела в ИФА позволяет выявить коронавирус SARS-CoV-2 в минимальной концентрации $1 \cdot 10^3$ БОЕ/мл.

Ключевые слова: коронавирус SARS-CoV-2, гибридомы, моноклональные антитела, иммуноферментный анализ.

Корреспондирующий автор: Печенкин Денис Валериевич, e-mail: 23527@mail.ru.

Для цитирования: Куклина Г.В., Ипатов С.С., Горшков А.С., Печенкин Д.В., Еремкин А.В., Кузнецовский А.В., Туманов А.С., Дармов И.В. Получение и характеристика гибридом-продуцентов моноклональных антител к антигенам коронавируса SARS-CoV-2. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:105–110. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-105-110

Поступила 30.12.2022. Принята к публ. 19.01.2023.

G.V. Kuklina, S.S. Ipatov, A.S. Gorshkov, D.V. Pechenkin, A.V. Eremkin, A.V. Kuznetsovsky,
A.S. Tumanov, I.V. Darmov

Obtaining and Characterization of Hybridomas Producing Monoclonal Antibodies against Coronavirus SARS-CoV-2

Affiliated Branch of the “48th Central Research Institute” of the Ministry of Defense of the Russian Federation (Kirov), Kirov, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to obtain and characterize hybridomas producing monoclonal antibodies to antigens of coronavirus SARS-CoV-2, promising for the construction of diagnostic immunochemical tests. **Materials and methods.** Recombinant nucleocapsid and receptor binding fragment of spike protein of SARS-CoV-2 were used for immunization of BALB/c mice. Antigens were absorbed on aluminium hydroxide gel and injected subcutaneously to BALB/c mice at a 7-day-interval. Immune splenocytes and myeloma cells SP2/0-Ag14 were fused by polyethylene glycol 1450. Cell cultures producing specific antibodies against nucleocapsid and receptor binding fragment were selected applying indirect ELISA in 96-well plates sensitized by desired antigens. Clones of hybridomas were obtained using the method of limiting dilutions. Production properties were studied through *in vitro* cultivation in 24-well culture plates. Immune-ascitic fluids were collected during the cultivation of hybrid cells in peritoneal cavities of BALB/c mice. Monoclonal antibodies were purified by affinity chromatography on protein A sepharose sorbent, conjugated with horseradish peroxidase, and tested for the possibility to be used in sandwich ELISA for detection of inactivated SARS-CoV-2 coronavirus strain “Isolate B”. **Results and discussion.** As a result of hybridization and selection of clones, hybridomas producing monoclonal antibodies to nucleocapsid and receptor binding fragment of SARS-CoV-2 have been obtained. During the *in vitro* and *in vivo* cultivation the clones maintained the consistent proliferative and antibody producing activity. The application of monoclonal antibody 415D12 as a capture one and 411D12 antibody conjugated with horseradish peroxidase as a detector antibody in ELISA allows for identifying SARS-CoV-2 coronavirus at a minimum concentration of $1 \cdot 10^3$ PFU per ml.

Key words: SARS-CoV-2 coronavirus, hybridomas, monoclonal antibodies, enzyme linked immunosorbent assay.

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

Corresponding author: Denis V. Pechenkin, e-mail: 23527@mail.ru.

Citation: Kuklina G.V., Ipatov S.S., Gorshkov A.S., Pechenkin D.V., Eremkin A.V., Kuznetsovsky A.V., Tumanov A.S., Darmov I.V. Obtaining and Characterization of Hybridomas Producing Monoclonal Antibodies against Coronavirus SARS-CoV-2. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:105–110. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-105-110

Received 30.12.2022. *Accepted* 19.01.2023.

Kuklina G.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5429-6295>
Ipatov S.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2881-4730>
Gorshkov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5164-3645>

Pechenkin D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8277-3573>
Eremkin A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3133-1921>

Пандемия коронавирусной инфекции, продолжающаяся уже несколько лет, затронула все континенты и страны, привела к рецессии мировой экономики. Ввиду эпидемиологических особенностей COVID-19, волнообразной динамики заболеваемости и постоянного появления новых вариантов вируса преждевременно прогнозировать окончание пандемии. С момента начала распространения SARS-CoV-2 в популяции выявлено большое количество антигенных вариантов вируса. На основании биологических свойств ВОЗ предложила объединять вирусные варианты в группы VOC – variant of concern (варианты, вызывающие беспокойство) и VOI – variant of interest (варианты, вызывающие интерес). Вирусные штаммы из группы VOC, наряду с мутациями, обладают биологическими свойствами, повышающими контагиозность и патогенность или снижающими нейтрализующую активность антител. Вследствие особой эпидемиологической значимости таких штаммов необходима непрерывная работа по их выделению и изучению, а также созданию новых диагностических и лечебных препаратов.

В соответствии с актуальными методическими рекомендациями (Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 15 (22.02.2022)», на сегодняшний день основное значение для этиологической диагностики COVID-19 имеет выявление РНК SARS-CoV-2 с помощью метода амплификации нуклеиновых кислот, а также выявление антигенов коронавируса методами иммуноанализа. Для выявления антигенов коронавируса с использованием иммунохимических методов необходимы моноклональные антитела (МКАТ), при этом чем больше будет получено различных вариантов МКАТ к различным антигенным детерминантам вирусных изолятов SARS-CoV-2, тем полнее и объективнее будет иммунодиагностика инфекции с учетом постоянной изменчивости возбудителя COVID-19.

Антигены коронавируса в настоящее время изучены достаточно полно. Информация об аминокислотных последовательностях белков и соответствующих им нуклеотидных последовательностях генов представлена на различных открытых информационных ресурсах, в том числе NCBI [1]. Структурными белками вируса SARS-CoV-2 являются S (spike), E (envelope), M (membrane) и N (nucleocapsid). При этом белок N часто именуют также NP (nucleocapsid protein). Иммунный ответ при инфицировании коронавирусом вырабатывается на все его структурные антигены, но наиболее значимыми

иммуногенами являются белки S и NP, антитела к которым характеризуются наибольшими протективными свойствами [2, 3]. По причине вовлеченности в процесс инфицирования особое значение имеет рецептор-связывающий домен S-белка, именуемый receptor binding domain (RBD), антитела к которому являются протективными [3, 4].

В настоящее время в Российской Федерации ведется активная работа по получению МКАТ, специфичных к различным антигенным детерминантам SARS-CoV-2, при этом в открытой печати имеется информация о получении антител к коронавирусам как классическими методами гибридомной технологии [5–7], так и молекулярно-генетическими методами [8, 9]. Несмотря на определенные преимущества антител, полученных молекулярно-генетическими методами, например фагового дисплея, классическая гибридомная технология остается не только самостоятельной технологией получения МКАТ, но и первым этапом при получении рекомбинантных гуманизированных антител.

Цель работы – получить и охарактеризовать гибридомы-продуценты моноклональных антител к антигенам SARS-CoV-2, перспективных для конструирования диагностических иммунохимических тестов.

Материалы и методы

Для иммунизации мышей линии BALB/c использовали препараты рекомбинантных коронавирусных белков NP (SARS-CoV-2 Nucleoprotein) и RBD (SARS-CoV-2 Spike RBD) производства ООО «ХайТест» (Россия). Схема иммунизации включала три подкожные инъекции антигенных препаратов, сорбированных на гель алюминия гидроксида, с интервалом введения 7 дней. Дозы препаратов составили 10, 20, 40 мкг на инъекцию. Через 10 дней после последней инъекции осуществляли взятие крови у лабораторных животных из параорбитального синуса и определяли титр специфических антител в непрямом твердофазном иммуноферментном анализе (ИФА).

Для этого рекомбинантные белки сорбировали в лунках 96-луночного планшета (Nunc, Дания) в концентрации 20 мкг/мл в 0,05 М карбонатном буфере, pH 9,6, в течение 18 часов при 4 °С. Лунки отмывали трехкратно фосфатно-солевым буфером PBS, pH 7,2 (Amresco, США) с 0,05 % Твин 20 (Sigma Aldrich, США) и вносили иммунные сыворотки в разведениях от 1:1000 до 1:64000. Пробы инкубировали в те-

чение 1 часа при 37 °C. После трехкратной отмывки PBS в лунки вносили антитела против иммуноглобулинов мыши, меченные пероксидазой хрена (Sigma Aldrich, США), на 30 мин при 37 °C. После трехкратной отмывки PBS в лунки вносили хромоген-субстратную смесь на основе ортофенилендиамина (Sigma Aldrich, США) на 20 мин, останавливали реакцию 1 М серной кислотой и учитывали оптическую плотность при 492 нм на планшетном ридере Multiskan FC (Thermo Scientific, США). Результат анализа считали положительным в том случае, если оптическая плотность хромоген-субстратной смеси в лунках с исследуемыми сыворотками в два раза и более превышала таковую в лунках с отрицательным контролем (отмывочным буфером – PBS).

Далее животным с наибольшим уровнем продукции антител (титр в ИФА 1:16000 и более) через 20 дней после иммунизации вводили внутрибрюшинно бустерную дозу антигена в количестве 40 мкг. На четвертые сутки с момента бустерной инъекции селезенку асептически извлекали, спленоциты получали путем перфузии средой RPMI-1640 (Sigma Aldrich, США).

Процедуру слияния спленоцитов иммунных мышей BALB/c с клетками миеломной опухоли SP2/0-Ag14 проводили по методике, предложенной G. Köhler и C. Milstein [10], в модификации S.F. de StGroth и D. Scheidegger [11], а также с учетом собственного опыта проведения гибридизаций. В качестве индуктора слияния клеток использовали 50 % раствор полиэтиленгликоля с молекулярной массой 1450 (Sigma Aldrich, США). Сразу после слияния полученные клетки рассеивали в 96-луночные культуральные планшеты (Eppendorf, Германия) с фидерным слоем из перитонеальных макрофагов мышей линии BALB/c. Культивирование осуществляли в CO₂-инкубаторе (Lamsystems, Россия) при 37 °C в увлажненной атмосфере с 5 % CO₂. Для выращивания клеток использовали среду RPMI-1640 с 2 mM L-глутамина, 1 mM пирувата натрия (Sigma Aldrich, США), 10 % фетальной телячьей сыворотки (Thermo Scientific, США) и 80 мг/мл гентамицина. Селекцию гибридных клеток проводили сразу после слияния путем добавления в ростовую среду однократного раствора НАТ (Sigma-Aldrich, США). После 10-х суток культивирования селекционную среду заменяли на щадящую (без аминоптерина) с 2 mM гипоксантина и 2 mM тимидина (Sigma-Aldrich, США), а после 20-х суток клетки поддерживали на ростовой среде без селекционных добавок. Ежедневно проводили визуальный контроль морфофункционального состояния клеток с использованием инвертированного микроскопа «Микромед-И» (ООО «Микромед», Россия). С момента появления колоний гибридных клеток на 10–14-е сутки проводили первичный иммунологический скрининг.

Специфическую активность антителопродукции гибридных культур определяли в культуральной жидкости без разведения методом твердофаз-

ного ИФА, как описано выше, трижды с интервалом 2–3 дня по мере роста клеток. Получение клонов гибридных культур, секретирующих анти-NP- и анти-RBD-антитела, проводили методом предельных разведений при расчетной посевной концентрации – одна клетка на лунку. Клонирование повторяли не менее двух раз, отбирая на каждой стадии клоны с наибольшей пролиферативной активностью и устойчивым синтезом специфических антител. Клетки отобранных клонов размножали в достаточном количестве и криоконсервировали в фетальной телячьей сыворотке с добавлением диметилсульфоксида (Sigma-Aldrich, США) до 8 % по объему, а затем помещали на хранение в сосуд Дьюара с жидким азотом.

Секреторные свойства полученных клонов изучали в процессе культивирования *in vitro* в 24-луночных культуральных планшетах (Eppendorf, Германия) на протяжении восьми пассажей. Гибридные клетки засеивали в лунки планшетов в концентрациях 50, 100 и 200 тыс. клеток в 1 мл. Культивирование осуществляли в ростовой среде в течение четырех суток. Культуральные жидкости получали от гибридных культур в логарифмической фазе роста, когда отмечался максимальный уровень продукции антител. Исследование секреторных свойств проводили путем определения титра специфических антител в ИФА, как описано выше. Для исследования использовали культуральные жидкости в разведениях от 1:1000 до 1:512000.

Для получения иммуоасцитических жидкостей (далее – ИАЖ) гибридные клетки выращивали в культуральных флаконах T25 (Eppendorf, Германия) и вводили внутрибрюшинно предварительно праймированным пристаном (Sigma-Aldrich, США) мышам линии BALB/c в дозе 2·10⁶ клеток/мышь. Начиная с 7-х суток контролировали приживание гибридных клеток. При увеличении размеров брюшной полости мышей в два раза и более производили забор перитонеального экссудата. Клеточные компоненты, содержащиеся в асцитических жидкостях, удаляли центрифугированием. Титр специфических антител определяли методом ИФА, как описано выше. Для исследования использовали асцитические жидкости в разведениях от 1:10000 до 1:5120000. Специфические иммуноглобулины выделяли методом аффинной хроматографии на колонке с протеин А-сефарозой (GE Healthcare, США). Из полученных иммуноглобулинов изготавливали конъюгаты с пероксидазой хрена методом периодатного окисления [12].

Исследование возможности использования полученных МКАТ для детекции антигенов коронавируса SARS-CoV-2 проводили в ИФА. В работе использован вирус SARS-CoV-2, штамм «Изолят В», соответствующий референсной последовательности NC_045512.2 (Wuhan seafood market pneumonia virus isolate Wuhan-Hu-1, complete genome). Суспензия вирионов данного штамма, инактивированная про-

пиолактоном, получена из Специализированной коллекции ФГБУ «48 ЦНИИ» Минобороны России. Наличие генетического материала вируса в данной суспензии подтверждено с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (набор ПЦР-РВ-2019-nCov производства ЗАО «Синтол», Россия).

Для выполнения анализа в лунках 96-луночных планшетов сорбировали антитела в концентрации 20 мкг/мл в 0,05 М карбонатном буфере, pH 9,6, в течение 18 часов при 4 °С. После трехкратной отмывки отмывочным буфером в лунки вносили аликвоты инактивированной вирусной биомассы SARS-CoV-2 в концентрациях $1 \cdot 10^6$, $5 \cdot 10^5$, $1 \cdot 10^5$, $5 \cdot 10^4$, $1 \cdot 10^4$, $5 \cdot 10^3$, $2,5 \cdot 10^3$, $1 \cdot 10^3$ и $1 \cdot 10^2$ БОЕ/мл. Пробы инкубировали в течение 1 часа при 37 °С. После трехкратной отмывки PBS в лунки вносили конъюгированные МКАТ на 30 мин при 37 °С. Далее постановку осуществляли, как описано выше. Результаты анализа принимали к учету в том случае, если оптическая плотность хромоген-субстратной смеси в лунках с исследуемыми образцами превышала величину 0,3. При этом оптическая плотность в условиях отсутствия аналита в лунках не должна превышать значение 0,15.

Работы с микроорганизмами проводились в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Работы с лабораторными животными проводились в соответствии с международными этическими нормами, законодательством Российской Федерации и нормативными документами учреждения.

Результаты и обсуждение

Проведено два эксперимента по слиянию спленоцитов мышей линии BALB/c, иммунизированных препаратом белка NP вируса SARS-CoV-2, с клетками миеломной опухоли SP2/0-Ag14 и два эксперимента по слиянию спленоцитов животных, иммунизированных препаратом белка RBD вируса SARS-CoV-2.

Через 10 дней в 90 % лунок 96-луночных культуральных планшетов отмечено появление колоний гибридных клеток. Культуральные жидкости из лунок с интенсивно растущими гибридными клетками протестированы в ИФА с соответствующими антигенными препаратами SARS-CoV-2. По результатам первичного иммунологического скрининга выявлено 25 лунок с гибридными клетками, продуцирующими анти-NP-антитела, и 12 лунок с гибридами, продуцирующими анти-RBD-антитела. Из них наибольшей антителопродуцирующей активностью в ИФА обладали 7 культур пролиферирующих гибридных клеток, синтезирующих анти-NP-антитела, и 5 культур гибридных клеток, синтезирующих анти-RBD-антитела.

Полученные культуры гибридных клеток были клонированы. Процедуру клонирования каждой гибридной клеточной линии повторяли не менее двух раз до достижения стабильной антителопродукции у 100 % клеток в популяции. В результате выбраны по 3–4 клон от каждой клеточной линии. Полученные культуры размножали путем пассирования в 24-луночных культуральных планшетах и затем в культуральных флаконах возрастающего объема. Специфическая активность продуцируемых моноклонами антител сохранялась на протяжении восьми пассажей *in vitro* (срок наблюдения). При тестировании в ИФА в культуральной жидкости от гибридом 404A11, 405B9, 411B5, 411D12, 413D7, 414G12, 415D10, 415D12 определялись титры антител к антигену NP в диапазоне разведений культуральной жидкости от 1:32000 до 1:256000. При этом с вирусной биомассой реагировали только культуральные жидкости, полученные от гибридом 404A11, 411D12, 414G12, 415D12, на уровне титров антител в ИФА от 1:4000 до 1:32000. Аналогичная зависимость отмечена также при тестировании ИАЖ: с вирусной биомассой реагировали ИАЖ, полученные от мышей при культивировании *in vivo* гибридом 404A11, 411D12, 414G12, 415D12 (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Характеристики гибридом, продуцирующих моноклональные антитела к антигену NP коронавируса SARS-CoV-2
Characteristics of hybridomas producing monoclonal antibodies to NP antigen of SARS-CoV-2 coronavirus

Гибридома-продуцент MKAT Hybridoma producing monoclonal antibodies	Титр МКАТ к NP в культуральной жидкости Titers of monoclonal antibodies to NP in culture fluid	Титр МКАТ к вирусной биомассе SARS-CoV-2 в культуральной жидкости Titers of monoclonal antibodies to SARS-CoV-2 biomass in culture fluid	Титр МКАТ к NP в иммуноасцитической жидкости Titers of monoclonal antibodies to NP in immune-ascitic fluid	Титр МКАТ к вирусной биомассе SARS-CoV-2 в иммуноасцитической жидкости Titers of monoclonal antibodies to SARS-CoV-2 biomass in immune- ascitic fluid
404A11	1:64000	1:4000	1:1280000	1:80000
405B9	1:128000	Нет титров / No titers	1:1280000	Нет титров / No titers
411B5	1:32000	Нет титров / No titers	1:1280000	Нет титров / No titers
411D12	1:64000	1:16000	1:2560000	1:320000
413D7	1:128000	Нет титров / No titers	1:2560000	Нет титров / No titers
414G12	1:64000	1:16000	1:2560000	1:160000
415D10	1:256000	Нет титров / No titers	1:2560000	Нет титров / No titers
415D12	1:128000	1:32000	1:2560000	1:640000

Таблица 2 / Table 2

Характеристики гибридом, продуцирующих моноклональные антитела к антигену RBD коронавируса SARS-CoV-2
Characteristics of hybridomas producing monoclonal antibodies to RBD antigen of SARS-CoV-2 coronavirus

Гибридома-продуцент МКАТ Hybridoma producing monoclonal antibodies	Титр МКАТ к RBD в культуральной жидкости Titers of monoclonal antibodies to RBD in culture fluid	Титр МКАТ к вирусной биомассе SARS-CoV-2 в культуральной жидкости Titers of monoclonal antibodies to SARS-CoV-2 biomass in culture fluid	Титр МКАТ к RBD в иммуноасцитической жидкости Titers of monoclonal antibodies to RBD in immune-ascitic fluid	Титр МКАТ к вирусной биомассе SARS-CoV-2 в иммуноасцитической жидкости Titers of monoclonal antibodies to SARS-CoV-2 biomass in immune-ascitic fluid
406C7	1:64000	1:1600	1:1280000	1:8000
408D2	1:32000	1:400	1:1280000	1:4000
408F12	1:16000	1:200	1:160000	1:2000
408G2	1:32000	1:400	1:2560000	1:4000
409D10	1:8000	1:200	1:160000	1:1000

При тестировании в ИФА культуральной жидкости гибридом к RBD определялись титры антител в диапазоне разведений от 1:8000 до 1:64000. Иммуноасцитические жидкости, полученные от мышей при культивировании *in vivo* гибридом 406C7, 408D2, 408F12, 408G2, 409D10, также реагировали с рекомбинантным белком RBD; титры специфических антител составили от 1:160000 до 1:2560000 (табл. 2). При этом культуральные и иммуноасцитические жидкости от данных гибридом проявляли низкую иммунореактивность в ИФА к антигенам вирусной биомассы SARS-CoV-2 (табл. 2) и не использовались в дальнейшей работе.

На заключительном этапе исследований определена возможность использования полученных МКАТ для детекции вирусных частиц SARS-CoV-2 методом ИФА. Для исследования использовали МКАТ, реагировавшие в ИФА с антигенами вирусной биомассы SARS-CoV-2. По результатам данного эксперимента установлена возможность выявления вирионов SARS-CoV-2 в концентрации от $1 \cdot 10^3$ до $1 \cdot 10^6$ БОЕ/мл с использованием МКАТ 404A11, 411D12, 414G12 и 415D12. При этом использование МКАТ 415D12 в качестве захватывающего и конъюгированного с пероксидазой хрена 411D12 в качестве детекторного МКАТ позволяет выявлять вирионы SARS-CoV-2 штамма «Изолят В» в концентрации $1 \cdot 10^3$ БОЕ/мл (табл. 3).

В результате проведенных гибридизаций, селекций и последующих клонирований получены 7 гиб-

ридом, продуцирующих МКАТ к NP SARS-CoV-2: 404A11, 405B9, 411B5, 411D12, 413D7, 414G12, 415D10, 415D12; 5 гибридом, продуцирующих МКАТ к RBD SARS-CoV-2: 406C7, 408D2, 408F12, 408G2, 409D10. Из них только гибридомы 404A11, 411D12, 414G12, 415D12 (специфичные к антигену NP) проявляли иммунореактивность к антигенам вирусной биомассы SARS-CoV-2, достаточную для разработки на их основе иммунохимических тестов. Вероятно, это связано с тем, что в составе вириона SARS-CoV-2 нуклеокапсидный белок в процентном соотношении преобладает над другими белками [13], поэтому чувствительность иммунохимических тестов для выявления SARS-CoV-2, основанных на анти-NP-антителах, оказывается выше чувствительности аналогичных тестов, основанных на анти-RBD-антителах. Причиной низкой иммунореактивности полученных анти-RBD-МКАТ к нативным вирионам может также служить конформационная «закрытость» антигенных эпитопов из состава нативного S-белка вирионов SARS-CoV-2, к которым были получены анти-RBD-МКАТ. В этом случае проблему возможно решить путем проведения дополнительных процедур гибридизации и получения МКАТ.

Все полученные гибридомы характеризовались стабильностью пролиферативной и антителопродуцирующей активности на протяжении 8 пассажей *in vitro* (срок наблюдения). При введении в брюшную полость мышей BALB/c получены иммуноасцитиче-

Таблица 3 / Table 3

Результаты сэндвич-ИФА при выявлении вирусной биомассы SARS-CoV-2
Results of sandwich-ELISA during the detection of SARS-CoV-2 biomass

МКАТ, сорбируемые в планшетах, от гибридом ... Monoclonal antibodies from hybridomas, adsorbed in plates ...	Минимальная выявляемая концентрация вирусной биомассы SARS-CoV-2 методом ИФА при использовании конъюгированных МКАТ от гибридом, БОЕ/мл Minimum detected concentration of SARS-CoV-2 biomass in sandwich ELISA using monoclonal antibodies conjugated with horseradish peroxidase, PFU per ml			
	404A11	411D12	414G12	415D12
404A11	$1 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^3$
411D12	$5 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^5$	$2,5 \cdot 10^3$
414G12	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^3$
415D12	$2,5 \cdot 10^3$	$1 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^3$	$5 \cdot 10^4$

ские жидкости, из которых выделены моноклональные антитела. Использование моноклональных антител к NP SARS-CoV-2 позволяет методом ИФА выявлять вирусные частицы коронавируса SARS-CoV-2, штамм «Изолят В», в концентрации $1 \cdot 10^3$ БОЕ/мл и более. Гибридомы-продуценты и моноклональные антитела планируется использовать при изготовлении диагностических препаратов, предназначенных для детекции антигенов коронавируса SARS-CoV-2.

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

Список литературы

1. SARS-CoV-2-related data provided by the Protein Domains resource [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/SARS-CoV-2.html> (дата обращения 15.08.2022).
2. Guo L., Ren L., Yang S., Xiao M., Chang D., Yang F., Dela Cruz C.S., Wang Y., Wu C., Xiao Y., Zhang L., Han L., Dang S., Xu Y., Yang Q.W., Xu S.Y., Zhu H.D., Xu Y.C., Jin Q., Sharma L., Wang L., Wang J. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71(15):778–5. DOI: 10.1093/cid/ciaa310.
3. Shanmugaraj B., Siriwananant K., Wangkanont K., Phoolcharoen W. Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 2020; 38(1):10–8. DOI: 10.12932/AP-200220-0773.
4. Wang C., Li W., Drabek D., Okba N.M.A., van Haperen R., Osterhaus A.D.M.E., van Kuppeveld F.J.M., Haagmans B.L., Grosveld F., Bosch B.J. A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):2251. DOI: 10.1038/s41467-020-16256-y.
5. Шевиakov А.Г. Получение мышиных моноклональных антител к нуклеокапсиду нового коронавируса SARS-CoV-2. *Проблемы медицинской микологии*. 2021; 23(2):164.
6. Xie C., Ding H., Ding J., Xue Y., Lu S., Lv H. Preparation of highly specific monoclonal antibodies against SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and the preliminary development of antigen detection test strips. *J. Med. Virol.* 2022; 94(4):1633–40. DOI: 10.1002/jmv.27520.
7. Чуркин И.А., Ручко С.В., Суровяткина И.В., Лебедев В.Н., Панкова Е.И., Сыромятникова С.И., Степанов Н.Н., Харченко В.А., Максимов В.А. Штамм гибридных клеток T2/S-6E11 животных *Mus musculus* L., продуцирующих моноклональные антитела к коронавирусу – возбудителю тяжелого острого респираторного синдрома. Патент РФ № 2291195, опубл. 10.01.2007.
8. Шахпаронов М.И., Павлюков М.С., Антипова Н.В. Моноклональное антитело к RBD фрагменту в составе S белка вируса SARS-CoV-2. Патент РФ № 2744274, опубл. 04.03.2021.
9. Есмагамбетов И.Б., Шебляков Д.В., Лебедин Ю.С., Фаворская И.А., Должикова И.В., Деркаев А.А., Рябова Е.И., Прокофьев В.В., Алексеева И.А., Воронина Д.В., Зорков И.Д., Ковыршина А.В., Илюхина А.А., Ботиков А.Г., Карпов А.П., Лубенец Н.Л., Зубкова О.В., Семихин А.С., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Гинцбург А.Л. Гуманизированное моноклональное антитело, специфически связывающееся с RBD S белка вируса SARS-CoV-2, средство и способ для терапии и экстренной профилактики заболеваний, вызываемых вирусом SARS-CoV-2. Патент РФ № 2765731, опубл. 02.02.2022.
10. Köhler G., Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975; 256(5517):495–7. DOI: 10.1038/256495a0.
11. de StGroth S.F., Scheidegger D. Production of monoclonal antibodies: strategy and tactics. *J. Immunol. Methods*. 1980; 35(1-2):1–21. DOI: 10.1016/0022-1759(80)90146-5.
12. Nakane P.K., Kawaoi A. Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugated. *J. Histochem. Cytochem.* 1974; 22(12):1084–91. DOI: 10.1177/22.12.1084.
13. Lu R.-M., Ko S.-H., Chen W.-Y., Chang Y.-L., Lin H.-T., Wu H.-C. Monoclonal antibodies against nucleocapsid protein of SARS-CoV-2 variant for detection of COVID-19. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(22):12412. DOI: 10.3390/ijms222212412.
1. SARS-CoV-2-related data provided by the Protein Domains resource. (Cited 15 Aug 2022). [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/SARS-CoV-2.html>.
2. Guo L., Ren L., Yang S., Xiao M., Chang D., Yang F., Dela Cruz C.S., Wang Y., Wu C., Xiao Y., Zhang L., Han L., Dang S., Xu Y., Yang Q.W., Xu S.Y., Zhu H.D., Xu Y.C., Jin Q., Sharma L., Wang L., Wang J. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin. Infect. Dis.* 2020; 71(15):778–5. DOI: 10.1093/cid/ciaa310.
3. Shanmugaraj B., Siriwananant K., Wangkanont K., Phoolcharoen W. Perspectives on monoclonal antibody therapy as potential therapeutic intervention for Coronavirus disease-19 (COVID-19). *Asian Pac. J. Allergy Immunol.* 2020; 38(1):10–8. DOI: 10.12932/AP-200220-0773.
4. Wang C., Li W., Drabek D., Okba N.M.A., van Haperen R., Osterhaus A.D.M.E., van Kuppeveld F.J.M., Haagmans B.L., Grosveld F., Bosch B.J. A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection. *Nat. Commun.* 2020; 11(1):2251. DOI: 10.1038/s41467-020-16256-y.
5. Sheviakov A.G. [Development of mouse monoclonal antibodies specific for nucleocapsid of novel coronavirus SARS-CoV-2]. *Problemy Meditsinskoy Mikologii [Problems in Medical Mycology]*. 2021; 23(2):164.
6. Xie C., Ding H., Ding J., Xue Y., Lu S., Lv H. Preparation of highly specific monoclonal antibodies against SARS-CoV-2 nucleocapsid protein and the preliminary development of antigen detection test strips. *J. Med. Virol.* 2022; 94(4):1633–40. DOI: 10.1002/jmv.27520.
7. Churkin I.A., Ruchko S.V., Surovyatkina I.V., Lebedev V.N., Pankova E.I., Syromyatnikova S.I., Stepanov N.N., Kharchenko V.A., Maksimov V.A. [Strains of hybrid cells T2/S-6E11 of *Mus musculus* L., producing monoclonal antibodies to coronavirus – causative agent of severe acute respiratory syndrome]. RF Patent No. 2291195, publ. January 10, 2007.
8. Shakhparonov M.I., Pavlyukov M.S., Antipova N.V. [Monoclonal antibody to RBD-fragment in S-protein of SARS-CoV-2]. RF Patent No. 2744274, publ. March 04, 2021.
9. Esmagambetov I.B., Shchelyakov D.V., Lebedin Yu.S., Favorskaya I.A., Dolzhikova I.V., Derkaev A.A., Ryabova E.I., Prokof'ev V.V., Alekseeva I.A., Voronina D.V., Zorkov I.D., Kovyrshina A.V., Ilyukhina A.A., Botikov A.G., Karpov A.P., Lubenets N.L., Zubkova O.V., Semikhin A.S., Naroditsky B.S., Logunov D.Yu., Gintsburg A.L. [Humanized monoclonal antibody specifically binding to RBD of S-protein of SARS-CoV-2, means and method for therapy and emergency prevention of diseases caused by SARS-CoV-2 virus]. RF Patent No. 2765731, publ. February 02, 2022.
10. Köhler G., Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975; 256(5517):495–7. DOI: 10.1038/256495a0.
11. de StGroth S.F., Scheidegger D. Production of monoclonal antibodies: strategy and tactics. *J. Immunol. Methods*. 1980; 35(1-2):1–21. DOI: 10.1016/0022-1759(80)90146-5.
12. Nakane P.K., Kawaoi A. Peroxidase-labeled antibody. A new method of conjugated. *J. Histochem. Cytochem.* 1974; 22(12):1084–91. DOI: 10.1177/22.12.1084.
13. Lu R.-M., Ko S.-H., Chen W.-Y., Chang Y.-L., Lin H.-T., Wu H.-C. Monoclonal antibodies against nucleocapsid protein of SARS-CoV-2 variant for detection of COVID-19. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(22):12412. DOI: 10.3390/ijms222212412.

Authors:

Kuklina G.V., Ipatov S.S., Gorshkov A.S., Pechenkin D.V., Eremkin A.V., Kuznetsovsky A.V., Tumanov A.S., Darmov I.V. Affiliated Branch of the “48th Central Research Institute” of the Ministry of Defense of the Russian Federation (Kirov). 119, Oktyabrsky Avenue, Kirov, 610017, Russian Federation. E-mail: 23527@mail.ru.

Об авторах:

Куклина Г.В., Ипатов С.С., Горшков А.С., Печенкин Д.В., Еремкин А.В., Кузнецовский А.В., Туманов А.С., Дармов И.В. Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров). Российская Федерация, 610017, Киров, Октябрьский пр-т, 119. E-mail: 23527@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-111-119

УДК 616.98:578.834.1

Л.В. Миронова¹, А.Н. Бондарюк^{1,2}, Е.А. Сидорова¹, Н.О. Бочалгин¹, И.С. Федотова¹,
Ю.С. Букин^{2,3}, А.С. Пономарева¹, Е.И. Андаев¹, С.В. Балахонов¹

Популяционная геномика SARS-CoV-2 в субъектах Сибирского и Дальневосточного федеральных округов

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ²ФГБУН «Лимнологический институт» Сибирского отделения РАН, Иркутск, Российская Федерация; ³ФГБОУ ВО «Иркутский государственный университет», Иркутск, Российская Федерация

Цель работы – анализ генетической структуры популяций и изучение закономерностей эволюционной изменчивости возбудителя новой коронавирусной инфекции в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах. **Материалы и методы.** Исследовано 1033 генома SARS-CoV-2 из проб от лиц с диагнозом COVID-19 из восьми субъектов Сибири и Дальнего Востока с декабря 2020 г. по ноябрь 2021 г. Секвенирование проводилось на платформе MinION Oxford Nanopore по протоколу ARTIC v.3. Степень генетической изоляции SARS-CoV-2 оценивалась по критерию F_{st} . Филогенетический анализ осуществлялся с использованием метода максимального правдоподобия и байесовского филогенетического вывода. При реконструкции популяционной динамики применена непараметрическая модель Bayesian Skyline Plot (BSP). **Результаты и обсуждение.** На начальных этапах в 100 % идентифицирован исходный вариант SARS-CoV-2 (B.1), геновариант Alpha обнаруживался в марте – июне 2021 г., Beta – в единичных образцах в марте – мае 2021 г., Delta впервые выявлен в апреле 2021 г. Максимальная степень генетической изоляции SARS-CoV-2 ($F_{st}=0,18$) установлена для наиболее удаленных территорий (Алтайский край ↔ Республика Бурятия и Алтайский край ↔ Иркутская область). Между Иркутской областью, Республикой Бурятия и Красноярским краем выявлена относительно свободная циркуляция вируса. По результатам популяционно-генетических тестов показано, что определяющим механизмом формирования генетического разнообразия SARS-CoV-2 стал резкий рост эффективного размера популяции вируса. Реконструкция популяционной динамики в BEAST (модель BSP) выявила согласованность трендов генетического разнообразия вируса и количества активных случаев заболевания. В кластере Delta выявлено два субкластера, состоящих преимущественно из образцов, выделенных в Иркутской области и Красноярском крае. Установлена смена доминирующего варианта SARS-CoV-2 в динамике. Молекулярно-эпидемиологические данные свидетельствуют о существовании множественных путей проникновения различных генотипов SARS-CoV-2 в субъекты с формированием отдельных монофилетических кластеров и дальнейшим внутри- и экстерриториальным распространением входящих в кластеры вариантов.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, геновариант, филогенетический анализ, генетическое разнообразие, популяционная динамика, Delta, ВЭП.

Корреспондирующий автор: Миронова Лилия Валерьевна, e-mail: mironova-lv@yandex.ru.

Для цитирования: Миронова Л.В., Бондарюк А.Н., Сидорова Е.А., Бочалгин Н.О., Федотова И.С., Букин Ю.С., Пономарева А.С., Андаев Е.И., Балахонов С.В. Популяционная геномика SARS-CoV-2 в субъектах Сибирского и Дальневосточного федеральных округов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:111–119. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-111-119

Поступила 05.08.2022. Принята к публ. 10.08.2022.

L.V. Mironova¹, A.N. Bondaryuk^{1,2}, E.A. Sidorova¹, N.O. Bochalgina¹, I.S. Fedotova¹, Yu.S. Bukin^{2,3},
A.S. Ponomareva¹, E.I. Andaev¹, S.V. Balakhonov¹

Population Genomics of SARS-CoV-2 in the Constituent Entities of Siberian and Far Eastern Federal Districts

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

²Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy Sciences, Irkutsk, Russian Federation;

³Irkutsk State University, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to analyze the genetic structure of populations and the patterns of evolutionary variability of the novel coronavirus infection in the Siberian and Far Eastern Federal Districts. **Materials and methods.** 1033 SARS-CoV-2 genomes from samples from individuals diagnosed with COVID-19 from eight entities of the Siberia and Far East between December 2020 and November 2021 were assessed. Sequencing was performed on the MinION Oxford Nanopore platform using the ARTIC v.3 protocol. The degree of SARS-CoV-2 genetic isolation was estimated applying the F_{st} criterion. Phylogenetic analysis was carried out using maximum likelihood method and Bayesian phylogenetic inference. A nonparametric Bayesian Skyline Plot (BSP) model was used to reconstruct population dynamics. **Results and discussion.** The original SARS-CoV-2 variant (B.1) was identified in 100 % of the cases at the initial stages. The Alpha variant was detected in March–June, 2021; Beta – in single samples in March–May, 2021. Delta was first identified in April, 2021. The maximum degree of SARS-CoV-2 genetic isolation ($F_{st}=0.18$) was established for the most remote territories (Altai Territory ↔ Republic of Buryatia and Altai Territory ↔ Irkutsk Region). A relatively free circulation of the virus was detected between Irkutsk Region, Republic of Buryatia and Krasnoyarsk Territory. According to the results of population genetic tests, a sharp increase in the effective virus population size was the determining mechanism of SARS-CoV-2 genetic diversity formation. Reconstruction of population dynamics in BEAST (BSP model) has re-

vealed the consistency of trends in the genetic diversity of the virus and the number of active cases. Two subclusters have been identified in the Delta cluster, consisting predominantly of samples isolated in the Irkutsk Region and Krasnoyarsk Territory. Change in the dominant variant of SARS-CoV-2 has been traced in dynamics. Molecular-epidemiological data point to the multiple pathways of spatial expansion of different SARS-CoV-2 genotypes into the constituent entities with generation of individual monophyletic clusters and further intra- and extraterritorial spread of the decedents.

Key words: SARS-CoV-2, genovariant, phylogenetic analysis, genetic diversity, population dynamics, Delta, VOC.

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

Corresponding author: Liliya V. Mironova, e-mail: mironova-lv@yandex.ru.

Citation: Mironova L.V., Bondaryuk A.N., Sidorova E.A., Bochalgin N.O., Fedotova I.S., Bukin Yu.S., Ponomareva A.S., Andaev E.I., Balakhonov S.V. Population Genomics of SARS-CoV-2 in the Constituent Entities of Siberian and Far Eastern Federal Districts. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:111–119. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-111-119

Received 05.08.2022. Accepted 10.08.2022.

Mironova L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8481-6442>

Bondaryuk A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4422-0497>

Sidorova E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0279-5831>

Bochalgin N.O., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3053-6514>

Fedotova I.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9890-0960>

Bukin Yu.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4534-3846>

Ponomareva A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0674-6159>

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

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

РНК-содержащие вирусы относятся к группе быстро эволюционирующих патогенов. В организме хозяина адаптивной изменчивости подвержены, как правило, участки генома вируса, обеспечивающие ему уклонение от иммунного ответа. Наряду с этим эффективное распространение возбудителя в популяции восприимчивого хозяина, повышение его трансмиссивности обусловлено изменчивостью поверхностных белков, связывающихся со специфическими рецепторами макроорганизма [1].

На основании байесовского филогенетического анализа SARS-CoV-2 установлено, что средняя скорость накопления мутаций в его геноме составляет $1 \cdot 10^{-3}$ замен в год [2–4]. Эволюционные преобразования возбудителя приводят к возникновению и закреплению мутаций в ключевых участках генома коронавируса и формированию новых генетических вариантов с определенными селективными преимуществами.

Так, известно о формировании в ходе пандемии вариантов SARS-CoV-2, обозначенных ВОЗ как вызывающие беспокойство варианты, по принятой в РФ номенклатуре – варианты с высоким эпидемическим потенциалом (ВЭП): Alpha, Beta, Gamma, Delta, – характеризующиеся способностью к уклонению от иммунного ответа и более высокой трансмиссивностью [5, 6]. В конце ноября 2021 г. сообщено о появлении нового варианта SARS-CoV-2 – Omicron, который к настоящему времени практически полностью вытеснил существующие ранее варианты коронавируса и демонстрирует высокую вариабельность сублиний.

Высокий потенциал изменчивости возбудителя новой коронавирусной инфекции, смена доминирующих вариантов в динамике пандемии определяют значимость исследований по изучению структурных особенностей геномов SARS-CoV-2 для выяснения закономерностей его эволюционных преобразований и их взаимосвязи с эпидемическим процессом.

В Российской Федерации организована система геномного мониторинга возбудителя новой коронавирусной инфекции, в рамках которой определены научные учреждения Роспотребнадзора, обеспечивающие на постоянной основе молекулярно-

генетические исследования SARS-CoV-2 в прикрепленных субъектах РФ. ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора выполняет секвенирование образцов биологического материала от лиц с диагнозом COVID-19 из восьми субъектов, входящих в состав Сибирского и Дальневосточного федеральных округов (СФО и ДФО): Алтайский, Красноярский, Забайкальский края, республики Алтай, Хакасия, Тыва, Бурятия, Иркутская область. Анализ полученных в процессе мониторинга последовательностей геномов SARS-CoV-2 позволяет отследить эволюционные изменения вируса и сопоставить характер этих изменений с эпидемиологическими данными по заболеваемости и распространению SARS-CoV-2 в курируемых субъектах.

Цель работы – анализ генетической структуры популяций и изучение закономерностей эволюционной изменчивости возбудителя новой коронавирусной инфекции в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах.

Материалы и методы

Исследуемый материал. Объектом исследования служили пробы биологического материала, отобранные от лиц с диагнозом COVID-19 из восьми курируемых институтом территорий (Алтайский, Красноярский, Забайкальский края, республики Алтай, Хакасия, Тыва, Бурятия, Иркутская область) в период с декабря 2020 г. по ноябрь 2021 г. включительно.

Секвенирование геномов проводилось на платформе MinION Oxford Nanopore в соответствии с протоколом SARS-CoV-2 v3 (LoCost) консорциума Artic Network. Для подготовки библиотек ампликонов использовалась праймерная панель ARTIC v.3. Результаты анализировались посредством картирования полученных ридов на референсный геном в соответствии со стандартным протоколом (<https://artic.network/nCoV-2019/ncov2019-bioinformatics-sop.html>).

Выборка нуклеотидных последовательностей. Всего в работе использовано 1033 нуклеотид-

ные последовательности геномов SARS-CoV-2, полученные из проб биологического материала от лиц с диагнозом COVID-19. Покрывание референсного генома для включенных в исследование нуклеотидных последовательностей составило более 95 %.

Генотипирование проводилось при помощи онлайн-версии программы Pangolin (<https://pangolin.cog-uk.io/>).

Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводилось с использованием онлайн-сервиса MAFFT [7]. Визуализация выравнивания осуществлялась в программе AliView v.1.27 [8].

Для анализа гомоплазий в белке S выбрано 11 аминокислотных (а.к.) замен и две делеции, характерные для четырех вариантов с высоким эпидемическим потенциалом: вариант Alpha – Δ69-70, N501Y, A570D, P681H, D1118H; Beta – K417N, E484K, N501Y; Gamma – L18F, D138Y, E484K, N501Y; Delta – E484Q, L452R, P681R, T478K.

Популяционно-генетический анализ. На основании территории изоляции исходная выборка поделена на семь предполагаемых популяций (в анализ не включены образцы из Республики Тыва в связи с недостаточным количеством проб в выборке).

Плотность вероятности генетического разнообразия популяций (θ – среднее количество попарно несовпадающих нуклеотидов) рассчитана в среде вычислений R на основе выборки из 1000 реплик ультрабыстрого бутстрепа. Достоверность различий в значениях θ между каждой парой популяций оценивалась как площадь перекрытия двух распределений плотности вероятности: если площадь перекрытия превышала значение 0,05, то такие пары распределений θ не рассматривались нами как достоверно различающиеся. Оценка площади перекрытия проводилась в R с использованием пакета sfsmisc.

Популяционно-генетические тесты – Tajima's D и Ramos-Onsins-Rozas (R2-тест) – на детекцию резкого изменения эффективного размера популяции и нейтральность эволюционного процесса проводились в R с использованием пакета pegas.

Тест на нейтральный характер эволюции Fay and Wu's H, а также расчет показателей F_{st} между каждой парой популяций выполнены в программе DnaSP v.6 [9].

Филогенетический анализ проводился с использованием двух основных подходов: метода максимального правдоподобия (ML), реализованного в программе IQTREE v.1.6.12 [10], и байесовского филогенетического вывода (программа BEAST v.2.6.3 [11]). Для филогенетической реконструкции в IQTREE использовали всю имеющуюся выборку (1033 нуклеотидные последовательности). Выбор эволюционной модели основывался на значении байесовского информационного критерия (BIC), рассчитанного с применением алгоритма ModelFinder [12], реализованного в IQTREE. Статистическая поддержка клад оценивалась при помощи ультрабыстрого бутстрепа (ufbs) с количеством реплик, равным 1000 [13].

Для проведения байесовского филогенетического анализа в BEAST составлено две подвыборки: pop150 (для анализа популяционной динамики) и clock269 (для оценки времени образования устойчивых генетических линий SARS-CoV-2) со 150 и 269 нуклеотидными последовательностями соответственно. Выборка pop150 сформирована случайным образом, выборка clock269 смещена в сторону стабильных генетических линий, циркулирующих преимущественно на территориях Иркутской области и Красноярского края.

Эволюционную модель (матрицу замен) для анализа в BEAST выбирали при помощи ModelFinder (IQTREE). Выбор молекулярных часов основывался на значениях коэффициента вариации (KB) эволюционной скорости, полученных с использованием расслабленных часов с априорным логнормальным распределением скорости нуклеотидных замен между филогенетическими ветвями (UCLD). Если в 95 % интервал максимума плотности апостериорной вероятности (95 % HPD) не входят значения KB от 0 до 0,1, то в этом случае в качестве наиболее подходящей модели рассматривается модель расслабленных молекулярных часов.

Расчет силы временного сигнала (temporal signal) проводился на основе коэффициента детерминации (R^2), отражающего взаимосвязь между датой изоляции образцов SARS-CoV-2 и их генетическим расстоянием до корня. Значения R^2 рассчитывали в программе TempEst v.1.5.3. При $R^2 > 0,1$ сила временного сигнала рассматривалась как достаточная для применения молекулярных часов.

Для реконструкции популяционной динамики (изменение относительного генетического разнообразия во времени $N_e \cdot \tau$, где N_e – эффективный размер популяции, τ – время генерации) нами составлена дополнительная подвыборка (pop150), в состав которой случайным образом отобраны 150 изолятов из 8 регионов (период изоляции: декабрь 2020 г. – ноябрь 2021 г. включительно). В качестве популяционной модели выбрана непараметрическая модель Bayesian Skyline Plot с 10 композитными коалесцентными интервалами (BSP10).

Количество итераций в запуске алгоритма Монте-Карло по схеме марковской цепи (MCMC) составило $200 \cdot 10^6$. Статистическая неопределенность для времени дивергенции и эволюционной скорости оценивалась при помощи 95 % HPD. По итогам запуска значение эффективного размера выборки (ESS) для всех параметров модели превышало 200 независимых образцов. Для построения консенсусного дерева из общего запуска отобрано 36000 деревьев (с учетом отжига 10 % от длины цепи MCMC).

Результаты и обсуждение

Всего с декабря 2020 г. по ноябрь 2021 г. секвенировано 1819 геномов SARS-CoV-2 из проб биологического материала от лиц с диагнозом COVID-19

из восьми субъектов СФО и ДФО. На начальных этапах исследования в 100 % случаев обнаруживался исходный вариант коронавируса (базальные ветви клады В по номенклатуре PANGO); геновариант Alpha идентифицирован впервые в марте 2021 г. и обнаруживался в отдельных пробах до июня 2021 г., геновариант Beta – в единичных образцах в марте – мае 2021 г. Геновариант Delta, впервые выявленный на территории курируемых субъектов в конце апреля, к июню идентифицирован в 90 % проб и затем полностью вытеснил остальные варианты коронавируса (с августа по ноябрь 2021 г. геновариант Delta идентифицирован в 100 % исследованных проб, <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.20453115>). Первые случаи заболевания COVID-19, обусловленные геновариантом Omicron, выявлены в конце декабря 2021 г. в Иркутской области.

Изучение структуры популяций и закономерностей генетической изменчивости SARS-CoV-2 в Сибирском и Дальневосточном регионах проведено на основании анализа секвенированных с декабря 2020 г. по ноябрь 2021 г. 1033 геномов.

Генотипирование показало, что 81,2 % исследованных изолятов SARS-CoV-2 отнесены к геноварианту Delta, в структуре которого доминирует линия AY.122 – ее удельный вес составил 77,6 %. Доля геноварианта Alpha в выборке составила 2,4 %, Beta – 0,2 %, исходного варианта SARS-CoV-2 – 16,2 % с распределением на 16 генетических линий, доминирующая среди которых – B.1.1 (61,7 %) (<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.20453655>).

Динамика аминокислотных замен в белке S.

Для анализа динамики аминокислотных замен в белке S выбрано несколько мутаций, характерных для четырех вариантов ВЭП. Обращает внимание обнаружение в декабре 2020 г. замен, характерных для вариантов ВЭП до их регистрации на исследуемых

территориях (рис. 1). В частности, замены L18F и D138Y, характерные для варианта Gamma (P.1), составили 70 % от общей выборки; замена E484K [варианты Beta (B.1.351) и Gamma (P.1)] – 6 % от выборки; P681H [вариант Alpha (B.1.1.7)] – менее 5 % от общей выборки; P681R [вариант Delta] – 20 % от общей выборки. При этом замена P681R, характерная для варианта Delta, зафиксирована еще до возникновения этого варианта в природе, что является наглядным примером конвергентной эволюции и селективного преимущества обозначенных мутаций.

Наибольшее разнообразие замен в белке S наблюдается в апреле и мае 2021 г. (12 и 10 замен соответственно), когда зафиксировано появление всех трех вариантов на курируемых территориях. Далее, начиная с июня, вследствие нарастания удельного веса варианта Delta разнообразие ВЭП-замен падает.

В сентябре и октябре 2021 г. нам удалось секвенировать несколько образцов, относящихся к варианту Delta (AY.122), содержащих замену E484Q, чаще встречающуюся в линии B.1.617.3: три последовательности в образцах из Красноярского края в сентябре и один образец из г. Иркутска в октябре. В ноябре зафиксирована замена N501Y, которая, по данным outbreak.info, в линии B.1.617.2 встречается лишь в 0,2 % случаев.

Генетическое разнообразие и популяционная структура SARS-CoV-2. Проведен анализ степени генетической изоляции SARS-CoV-2, циркулирующего на курируемых территориях, с использованием критерия F_{st} . Согласно методике, чем выше значения F_{st} , тем выше изоляция между двумя территориями. Результаты анализа изображены в виде графа (рис. 2, а).

Ожидаемо, максимальное значение F_{st} (0,18) оказалось характерно для наиболее удаленных территорий (Алтайский край ↔ Республика Бурятия и



Рис. 1. Динамика аминокислотных замен в белке S, характерных для вариантов SARS-CoV-2 с высоким эпидемическим потенциалом (ВЭП)

Fig. 1. The dynamics of amino acid substitutions specific to the SARS-CoV-2 variants of concern (VOCs) in the S protein

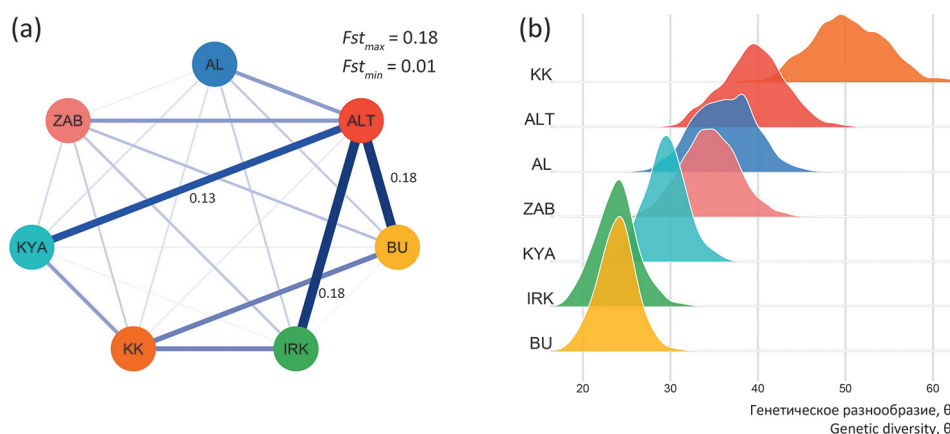


Рис. 2. Результаты анализа степени генетической изоляции SARS-CoV-2 с использованием критерия F_{st} и расчет генетического разнообразия θ :

a – попарные значения F_{st} (толщина ребер графа) для 7 курируемых территорий (вершины графа); *b* – плотность распределения генетического разнообразия (θ) для 7 исследуемых популяций (сокращения регионов даны согласно ISO 3166-2: *AL* – Республика Алтай; *ALT* – Алтайский край; *BU* – Республика Бурятия; *IRK* – Иркутская область; *KK* – Республика Хакасия; *KYA* – Красноярский край; *ZAB* – Забайкальский край)

Fig. 2. The results of the analysis of the degree of SARS-CoV-2 genetic isolation using the F_{st} criterion and the calculation of genetic diversity θ :

a – paired F_{st} values (graph edge thickness) for 7 territories under supervision (graph vertices); *b* – the distribution density (θ) of genetic diversity of 7 analyzed populations (the abbreviations are provided according to the ISO 3166-2: *AL* – Altai Republic; *ALT* – Altai Territory; *BU* – Republic of Buryatia; *IRK* – Irkutsk Region; *KK* – Republic of Khakassia; *KYA* – Krasnoyarsk Territory; *ZAB* – Zabaykalsky Territory)

Алтайский край ↔ Иркутская область). Наиболее изолированным регионом оказался Алтайский край. Между Иркутской областью, Республикой Бурятия и Красноярским краем выявлена относительно свободная циркуляция вируса со значениями F_{st} , приближающимися к нулю.

Стоит отметить, что в целом значения F_{st} невелики. Это может быть связано с тем, что даже при высоком уровне изоляции на разных территориях вирус не успел накопить достаточное количество нуклеотидных замен для более точного расчета значений критерия.

Расчет генетического разнообразия (θ) показал, что в Республике Хакасия популяция вируса обладает наивысшим средним θ (50,2), что достоверно

отличается (p -value < 0,05) от показателей θ для популяций Красноярского края (28,8), Иркутской области (22,6), Забайкальского края (33,5) и Республики Бурятия (23,1) (рис. 2, b).

Наименьшее генетическое разнообразие оказалось характерно для популяций Иркутской области (22,6) и Республики Бурятия (23,1), что достоверно отличается от θ популяций Алтайского края, Республики Алтай и Республики Хакасия, при этом достоверных различий между значениями θ для самих популяций Иркутской области и Республики Бурятия нет (p -value = 0,95, <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.20453829>).

Проверка нейтрального характера эволюции SARS-CoV-2. Результаты тестов (таблица) показыва-

Результаты популяционно-генетических тестов

The results of population genetic tests

Регион (популяция) Region (population)	D-тест Таджимы Tajima's D-statistics	P-value для D-теста Таджимы P-value for Tajima's D-statistics	R2-тест R2-statistics	P-value для R2-теста P-value for R2-statistics	H-тест Фэя и Ву Fay and Wu's H-statistics	P-value для H-теста Фэя и Ву P-value for Fay and Wu's H-statistics
Республика Алтай Altai Republic	-2,79	0,0052	0,039	< 0,001	8,63	0,59
Алтайский край Altai Territory	-2,54	0,011	0,034	< 0,001	19,60	0,94
Республика Бурятия Republic of Buryatia	-3,12	0,0018	0,011	< 0,001	-4,90	0,23
Иркутская область Irkutsk Region	-3,01	0,0026	0,0036	< 0,001	-8,57	0,17
Республика Хакасия Republic of Khakassia	-3,09	0,002	0,0253	< 0,001	19,70	0,84
Красноярский край Krasnoyarsk Territory	-3,06	0,0022	0,0078	< 0,001	0,47	0,34
Забайкальский край Trans-Baikal Territory	-3,01	0,0026	0,0061	< 0,001	2,53	0,36

ли, что на популяционном уровне генетическое разнообразие вируса SARS-CoV-2 во всех курируемых регионах не формировалось по нейтральному сценарию (нейтральный дрейф генов при небольшом изменении эффективного размера популяции).

Тест Tajima's D (таблица) позволил отклонить гипотезу нейтрального характера эволюции ($p\text{-value} < 0,05$) в пользу гипотез быстрого увеличения эффективного размера популяции либо движущего отбора с фиксацией наиболее приспособленных генотипов (отрицательное во всех случаях значение статистики теста). Результаты R2-теста позволяют сделать вывод, что во всех регионах происходило резкое увеличение эффективной численности популяции вируса ($P < 0,05$). Тест Fay and Wu's H не зафиксировал движущий отбор ни в одном из регионов ($P > 0,05$). Таким образом, по совокупности результатов тестирования можно сказать, что определяющим механизмом формирования генетического разнообразия SARS-CoV-2 стал резкий рост в недавнем прошлом эффективного размера популяции вируса. Для вирусов единицей эффективного размера служит инфицированный индивидуум, являющийся источником инфекции для других представителей популяции, поэтому увеличение эффективного размера популяции вируса заключается в росте текущего

числа инфицированных. Результаты популяционного тестирования, показывающие резкий рост числа заболевших за исследуемый промежуток времени, согласуются с реальными эпидемиологическими данными, фиксирующими рост заболеваемости COVID-19 и результатами анализа с помощью метода BSP (см. ниже). Хотя тест Fay and Wu's H и не зафиксировал движущий отбор в каком-либо регионе, полностью отказаться от роли этого процесса в формировании генетического разнообразия вируса нельзя. На начальном этапе появившийся в исследуемых регионах штамм B.1.617.2 SARS-CoV-2 (вариант Delta) и его потомки вытесняли остальные филогенетические линии SARS-CoV-2, так как они имели больший адаптивный потенциал (большую заразность и, соответственно, большее репродуктивное число), реализуя сценарий движущего отбора. Затем движущий отбор сменился резким ростом эффективной численности вируса (сценарий популяционной экспансии), который и определился популяционными тестами в современных генетических данных.

Филогенетический анализ методом ML ожидаемо показал соответствие с результатами генотипирования в Pangolin: два варианта ВЭП (Alpha и Delta) образовали на дереве монофилетические кластеры с высокой поддержкой ($ufb=100$, рис. 3).

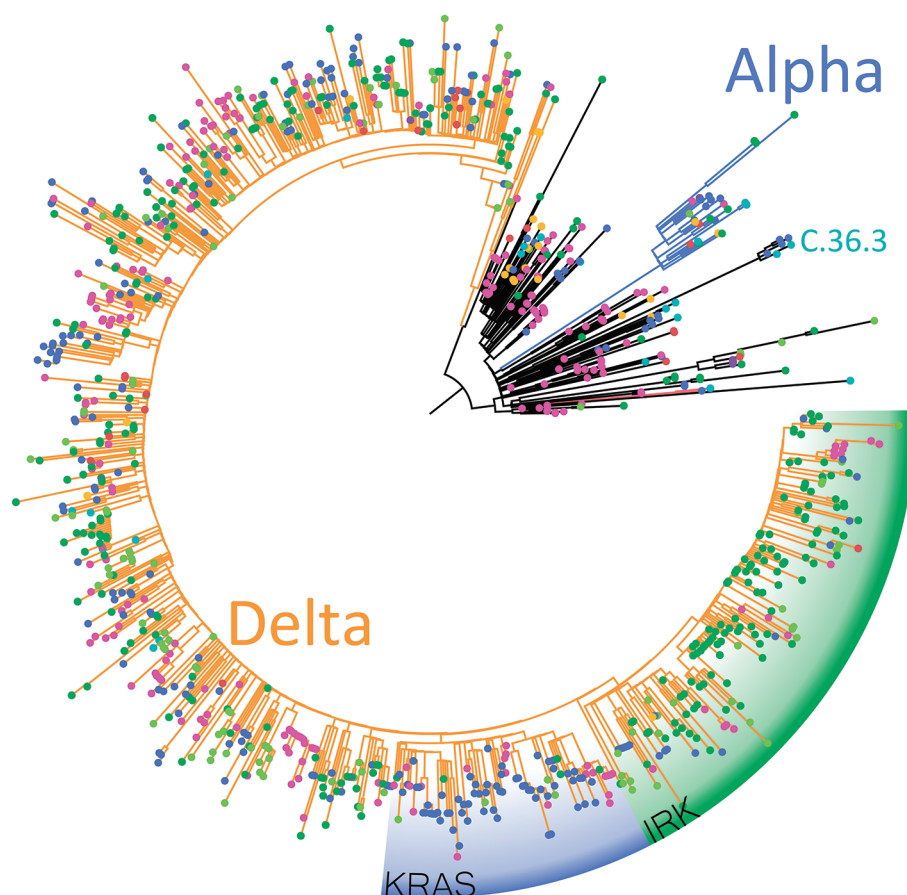


Рис. 3. Филогенетическое дерево, реконструированное методом максимального правдоподобия в программе IQTREE (модель замен с наивысшим значением BIC: GTR+F+I+G4)

Fig. 3. The maximum likelihood phylogenetic tree reconstructed in IQTREE software (the best-fit model according to BIC: GTR+F+I+G4)

Также выявлены отдельные кластеры, сформированные более ранними линиями: B.1.1.189 (Иркутская область, $n=6$), B.1.1.372 (Забайкальский край, $n=5$, $ufb=98$), B.1.1.397 (Забайкальский край, $n=6$, $ufb=97$), C.36 и C36.3 (Красноярский край и Республика Хакасия, $n=6$, $ufb=100$). Данная структура дерева указывает не только на множественные независимые пути проникновения различных вариантов SARS-CoV-2 на территории указанных регионов, но и на их дальнейшее распространение внутри территорий (внутренние узлы субкластеров).

В кластере варианта Delta выявлено наличие двух монофилетических субкластеров, состоящих преимущественно из образцов, выделенных в Иркутской области (кластер Irk, $n=168$, $ufb=85$) и Красноярском крае (кластер Kras, $n=71$, $ufb=83$), что говорит о проникновении, закреплении и дальнейшем распространении на территории субъектов двух независимых генетических линий SARS-CoV-2. Для оценки датировок сформирована дополнительная подвыборка (clock269), включающая в себя помимо изолятов кластеров Irk и Kras более ранние генетические линии SARS-CoV-2.

Предварительно обе анализируемые выборки прошли проверку на наличие временного сигнала.

Анализ временного сигнала в программе TempEst показал, что в обеих выборках присутствует выраженная взаимосвязь между датой изоляции образцов и их генетическим расстоянием до корня ($R^2=0,491$, $R^2=0,723$; <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.20453931>). Следовательно, применение молекулярных часов в обоих случаях можно считать корректным.

Отклонение генетических дистанций от рассчитанных трендов можно объяснить наличием вариации скорости эволюции между генетическими линиями SARS-CoV-2 ($KB=0,28$; 95 % HPD, 0,15–0,41), поэтому в дальнейшем при анализе обеих выборок в BEAST мы использовали расслабленные молекулярные часы (UCLD).

Эволюционная скорость. Значение эволюционной скорости оценивалось на основе анализа несмещенной выборки *pop150*. Согласно нашим расчетам, эволюционная скорость SARS-CoV-2 составила $7,1 \cdot 10^{-4}$ нуклеотидных замен на сайт в год (95 % HPD, $6,1-8,0 \cdot 10^{-4}$ нуклеотидных замен на сайт в год). В самых ранних работах, посвященных оценке скорости фиксации нуклеотидных замен SARS-CoV-2, получены более высокие значения – порядка 10^{-3} [3, 14]. Однако в ряде других работ исследователи публикуют значения эволюционной скорости, сопоставимые с нашими результатами ($6,6 \cdot 10^{-4}$, 95 % HPD, $6,1-8,0 \cdot 10^{-4}$ [15]; $4,1 \cdot 10^{-4}$ [16]; $3,95 \cdot 10^{-4}$ [17]). Вполне возможно, что наблюдаемые различия в оценках эволюционной скорости существуют в действительности и обусловлены разницей в охвате вакцинацией, скорости распространения вируса, а также спецификой популяционной структуры. Тем не менее стоит иметь в виду и чувстви-

тельность самого метода оценки скорости к выбору априорных распределений параметров.

Молекулярно-эпидемиологический анализ. Установлено, что кластер Irk включает первый образец, генотипированный как Delta (10 мая 2021 г.), поэтому время возникновения данного кластера (tMRCA) можно рассматривать как момент появления на территории Иркутской области первого пациента, инфицированного геновариантом Delta (нулевой пациент). tMRCA кластера Kras не может быть интерпретирована схожим образом, так как данная клада не содержит первый положительный образец. Филогенетический анализ в BEAST с применением молекулярных часов позволил рассчитать время возникновения кластеров Irk и Kras с относительно высокой точностью (рис. 4).

Кластер Irk. Проведенные расчеты показали, что в Иркутской области нулевой пациент с 95 % вероятностью существовал в период с 8 апреля по 7 мая 2021 г. (по средним оценкам tMRCA – 24 апреля 2021 г., апостериорная поддержка = 0,97). Сравнительный анализ аминокислотных замен выявил две маркерные мутации в рамках считывания ORF1ab (I1215V) и ORF7a (P45S), встречающиеся в изолятах кластера Irk в 100 и 99 % случаев соответственно, что позволяет отследить дальнейшее перемещение вируса на территории других субъектов. Данные перемещения патогена представлены в виде субкластеров с характерной сменой цвета ветвей: субкластер Irk.I – Иркутская область → Забайкальский край → Республика Бурятия → Забайкальский край (реэмиграция); субкластер Irk.II – Иркутская область → Красноярский край → Иркутская область (реэмиграция); субкластер Irk.III – Иркутская область и три независимых заноса в Красноярский край, Республику Бурятия и Забайкальский край с последующим обширным распространением в последнем случае (внутренние узлы); в субкластерах Irk.IV и Irk.V вирус также получил дальнейшее распространение на территориях Красноярского края и Республики Бурятия.

В структуре кластера Irk можно выделить субкластер Irk570, все представители которого несут в белке S аминокислотную замену A570S, однако апостериорная поддержка субкластера относительно низка и равняется 0,2.

Кластер Kras. Схожие оценки времени появления ближайшего общего предка получены для кластера Kras (95 % HPD, 17 апреля – 19 мая 2021 г.). Субкластеры Kras.I и Kras.II наглядно иллюстрируют перенос вируса из Красноярского края в Забайкальский край, где SARS-CoV-2 получает свое дальнейшее распространение. В случае Kras.I зарегистрирован пример реэмиграции из Забайкальского края в Красноярский край.

Популяционная динамика. В контексте инфекционных болезней изменение относительного генетического разнообразия вируса ($N_e \cdot \tau$, где N_e – эффективный размер популяции, τ – время генера-

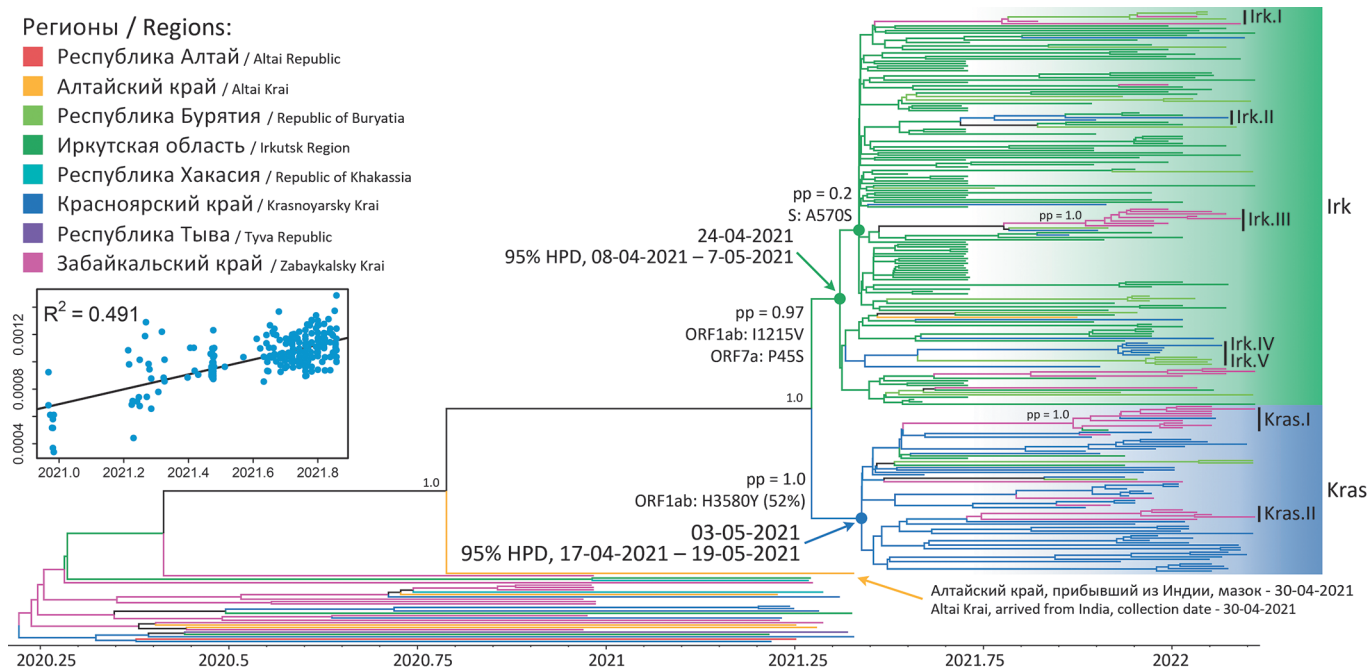


Рис. 4. Филогенетическое дерево, реконструированное в BEAST (модель GTR+F+I+G4+UCLD+BSP10). Регрессионный тренд во внутреннем окне отображает величину временного сигнала

Fig. 4. Maximum clade credibility tree inferred with BEAST (the model combination is GTR+F+I+G4+UCLD+BSP10). In the insertion, the regression analysis demonstrates the strength of temporal signal

ции) можно соотнести с изменением количества активных случаев заболевания [18, 19]. Мы провели реконструкцию динамики генетического разнообразия SARS-CoV-2, используя подвыборку из 150 нуклеотидных последовательностей и сравнили полученные результаты с динамикой активных случаев в 8 курируемых регионах. Анализ показал, что в период с апреля по май 2021 г. произошел спад $N_e \cdot \tau$ (рис. 5). Далее последовал непродолжительный период стабилизации $N_e \cdot \tau$ (май – июнь 2021 г.), в течение которого на всех исследуемых территориях регистрировались первые случаи заноса геноварианта Delta

(в Республике Бурятия – 22 апреля, Забайкальском крае – 28 апреля, Алтайском крае – 30 апреля, Красноярском крае – 7 мая, Иркутской области и Республике Алтай – 10 и 11 мая, Республике Тыва – 18 мая, Республике Хакасия – 27 мая). Появление геноварианта Delta спровоцировало дальнейший экспоненциальный рост заболеваемости и увеличение показателя $N_e \cdot \tau$.

Полученные данные позволяют предположить, что для реализации эпидемического потенциала на анализируемых территориях варианту Delta потребовался приблизительно один месяц. В случае

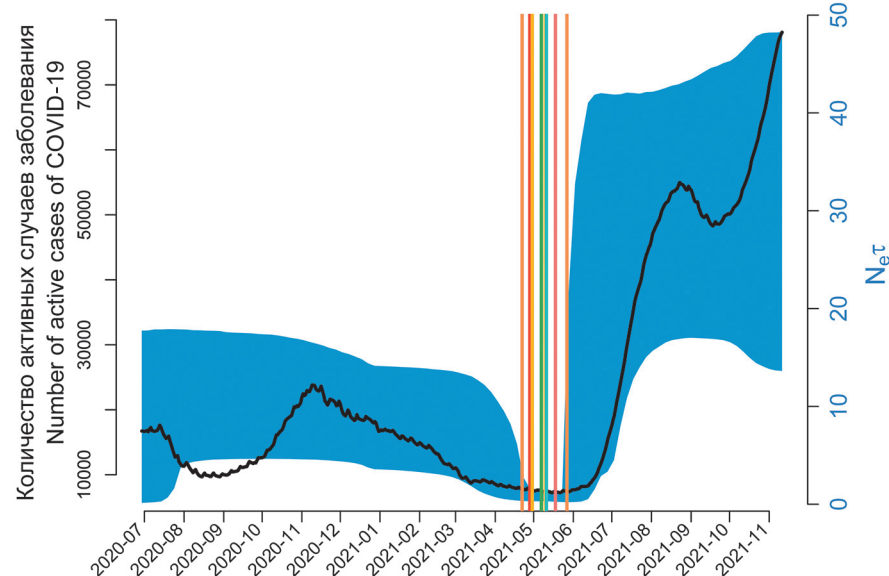


Рис. 5. Сравнение динамики относительного генетического разнообразия ($N_e \cdot \tau$) SARS-CoV-2 (непараметрическая модель Bayesian Skyline Plot с 10 композитными коалесцентными интервалами, BSP10) с количеством активных случаев в 8 курируемых регионах. Закрашенная синяя область отображает 95 % HPD, вертикальные цветные линии – первый зарегистрированный случай заражения вариантом Delta в каждом из регионов. Важно отметить, что кривая активных случаев практически не выходит за пределы 95 % HPD $N_e \cdot \tau$

Fig. 5. Comparison of SARS-CoV-2 relative genetic diversity dynamics ($N_e \cdot \tau$, where N_e – effective number of infections, τ – generation time) (Nonparametric Bayesian Skyline Plot model with 10 composite coalescent intervals, BSP10) with the change in the number of COVID-19 active cases in 8 regions under supervision. The shaded with blue color area is 95 % HPD of $N_e \cdot \tau$, vertical colored lines – the first reported case of Delta variant infection in each region. Notably, the active case curve is almost always within the $N_e \cdot \tau$ 95 % HPD

с распространением варианта Omicron на территории России прослеживается аналогичная картина распространения возбудителя.

На основании проведенного анализа показано, что в динамике резкий рост генетического разнообразия SARS-CoV-2 совпадает по времени с интенсивным распространением геноварианта Delta в субъектах. Эти результаты подтверждают охарактеризованный в настоящем исследовании механизм формирования генетического разнообразия возбудителя, заключающийся в действии на начальном этапе движущего отбора за счет селективных преимуществ нового геноварианта с последующим резким ростом эффективного размера популяции патогена. Данный механизм, по всей вероятности, реализован и при распространении в настоящее время геноварианта Omicron.

Таким образом, продемонстрирована смена доминирующего варианта возбудителя новой коронавирусной инфекции в субъектах СФО и ДФО в динамике, что отражает глобальные тренды развития пандемии. При этом установлена относительно свободная циркуляция вируса между отдельными субъектами СФО и ДФО, в частности Иркутской областью, Красноярским краем и Республикой Бурятия. Молекулярно-эпидемиологические данные свидетельствуют о существовании множественных путей проникновения различных генотипов SARS-CoV-2 на территории субъектов с формированием отдельных монофилетических кластеров патогена и дальнейшим внутри- и экстерриториальным распространением входящих в кластеры вариантов.

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

References / Список литературы

1. Frost S.D.W., Magalis B.R., Kosakovsky Pond S.L. Neutral theory and rapidly evolving viral pathogens. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35(6):1348–54. DOI: 10.1093/molbev/msy088.
2. Ciotti M., Ciccozzi M., Pieri M., Bernardini S. The COVID-19 pandemic: viral variants and vaccine efficacy. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2022; 59(1):66–75. DOI: 10.1080/10408363.2021.1979462.
3. Duchene S., Featherstone L., Haritopoulou-Sinaniidou M., Rambaut A., Lemey P., Baele G. Temporal signal and the phylodynamic threshold of SARS-CoV-2. *Virus Evol.* 2020; 6(2):veaa061. DOI: 10.1093/ve/veaa061.
4. Safari I., Elahi E. Evolution of the SARS-CoV-2 genome and emergence of variants of concern. *Arch. Virol.* 2022; 167(2):293–305. DOI: 10.1007/s00705-021-05295-5.
5. Martin D.P., Weaver S., Tegally H., San J.E., Shank S.D., Wilkinson E., Lucaci A.G., Giandhari J., Naidoo S., Pillay Y., Singh L., Lessells R.J., NGS-SA, COVID-19 Genomics UK (COG-UK), Gupta R.K., Wertheim J.O., Nekturenko A., Murrell B., Harkins G.W., Lemey P., MacLean O.A., Robertson D.L., de Oliveira T., Kosakovsky Pond S.L. The emergence and ongoing convergent evolution of the SARS-CoV-2 N501Y lineages. *Cell.* 2021; 184(20):5189–5200.e5187. DOI: 10.1016/j.cell.2021.09.003.
6. Mascola J.R., Graham B.S., Fauci A.S. SARS-CoV-2 viral variants-tackling a moving target. *JAMA.* 2021; 325(13):1261–2. DOI: 10.1001/jama.2021.2088.
7. Katoh K., Rozewicki J., Yamada K.D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Brief Bioinform.* 2019; 20(4):1160–6. DOI: 10.1093/bib/bbx108.

8. Larsson A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics.* 2014; 30(22):3276–8. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu531.
9. Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J.C., Guirao-Rico S., Librado P., Ramos-Onsins S.E., Sánchez-Gracia A. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Mol. Biol. Evol.* 2017; 34(12):3299–302. DOI: 10.1093/molbev/msx248.
10. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 2015; 32(1):268–74. DOI: 10.1093/molbev/msu300.
11. Bouckaert R., Vaughan T.G., Barido-Sottani J., Duchene S., Fourment M., Gavryushkina A., Heled J., Jones G., Kuhnert D., De Maio N., Matschiner M., Mendes F.K., Muller N.F., Ogilvie H.A., du Plessis L., Poppinga A., Rambaut A., Rasmussen D., Siveroni I., Suchard M.A., Wu C.H., Xie D., Zhang C., Stadler T., Drummond A.J. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput. Biol.* 2019; 15(4):e1006650. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1006650.
12. Kalyaanamoorthy S., Minh B.Q., Wong T.K.F., von Haeseler A., Jermini L.S. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat. Methods.* 2017; 14(6):587–9. DOI: 10.1038/nmeth.4285.
13. Minh B.Q., Nguyen M.A.T., von Haeseler A. Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. *Mol. Biol. Evol.* 2013; 30(5):1188–95. DOI: 10.1093/molbev/mst024.
14. Singh D., Yi S.V. On the origin and evolution of SARS-CoV-2. *Exp. Mol. Med.* 2021; 53(4):537–47. DOI: 10.1038/s12276-021-00604-z.
15. Wang S., Xu X., Wei C., Li S., Zhao J., Zheng Y., Liu X., Zeng X., Yuan W., Peng S. Molecular evolutionary characteristics of SARS-CoV-2 emerging in the United States. *J. Med. Virol.* 2022; 94(1):310–7. DOI: 10.1002/jmv.27331.
16. Motayo B.O., Oluwasemowo O.O., Olusola B.A., Akinduti P.A., Arege O.T., Obafemi Y.D., Faneye A.O., Isibor P.O., Aworunse O.S., Oranusi S.U. Evolution and genetic diversity of SARS-CoV-2 in Africa using whole genome sequences. *Int. J. Infect. Dis.* 2021; 103:282–7. DOI: 10.1016/j.ijid.2020.11.190.
17. Shen S., Zhang Z., He F. The phylogenetic relationship within SARS-CoV-2s: An expanding basal clade. *Mol. Phylogenet. Evol.* 2021; 157:107017. DOI: 10.1016/j.ympev.2020.107017.
18. Pybus O.G., Rambaut A. Evolutionary analysis of the dynamics of viral infectious disease. *Nat. Rev. Genet.* 2009; 10(8):540–50. DOI: 10.1038/nrg2583.
19. Hall M.D., Woolhouse M.E., Rambaut A. The effects of sampling strategy on the quality of reconstruction of viral population dynamics using Bayesian skyline family coalescent methods: A simulation study. *Virus Evol.* 2016; 2(1):vew003. DOI: 10.1093/ve/vew003.

Authors:

Mironova L.V., Sidorova E.A., Bochalgin N.O., Fedotova I.S., Ponomareva A.S., Andayev E.I., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Bondaryuk A.N. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East; 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy Sciences; 3, Ulaanbaatar St., Irkutsk, 664033, Russian Federation.

Bukin Yu.S. Limnological Institute of the Siberian Branch of the Russian Academy Sciences; 3, Ulaanbaatar St., Irkutsk, 664033, Russian Federation; e-mail: bukinyura@mail.ru. Irkutsk State University; 1, Karl Marx St., Irkutsk, 664003, Russian Federation.

Об авторах:

Миронова Л.В., Сидорова Е.А., Бочалгин Н.О., Федотова И.С., Пономарева А.С., Андаев Е.И., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Бондарюк А.Н. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока; Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Лимнологический институт Сибирского отделения РАН; Российская Федерация, 664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3.

Букин Ю.С. Лимнологический институт Сибирского отделения РАН; Российская Федерация, 664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3; e-mail: bukinyura@mail.ru. Иркутский государственный университет; Российская Федерация, 664003, Иркутск, ул. Карла Маркса, 1.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-120-125

УДК 616.98:578.834.1(571.51)

А.Я. Никитин¹, О.В. Сорокина², Е.И. Андаев¹, Н.Ю. Харлампьева², С.В. Балахонов¹**Влияние COVID-19 на заболеваемость людей трансмиссивными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами (на примере Красноярского края)**¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае», Красноярск, Российская Федерация

В 2022 г. в эндемичных по клещевому вирусному энцефалиту (КВЭ) и иксодовым клещевым боррелиозам (ИКБ) субъектах Российской Федерации, федеральных округах и в целом по стране произошел рост заболеваемости. Одновременно среди людей, пострадавших от иксодовых клещей, возросла доля клинических форм болезней. **Цель** – провести анализ возможных причин одновременного роста заболеваемости трансмиссивными инфекциями и доли клинических форм среди лиц, пострадавших от присасывания клещей, на примере материалов по Красноярскому краю. **Материалы и методы.** Анализировали заболеваемость КВЭ и ИКБ среди лиц, перенесших или нет COVID-19, число людей, пострадавших от присасывания клещей за 2021–2022 гг. в Красноярском крае. Статистическая обработка выполнена стандартными методами вариационной статистики с применением программы Excel. **Результаты и обсуждение.** Показано, что в Красноярском крае при снижении числа лиц, пострадавших от присасывания клещей в 2022 г., по сравнению с 2021 г. (соответственно 12216 и 13214) произошло увеличение числа случаев КВЭ (со 124 до 250) и ИКБ (со 115 до 224), а также доли лиц, у которых после присасывания клещей выявлены клинические формы инфекций. Из трех возможных объяснений наблюдаемой картины в качестве наиболее вероятной рассматривается снижение иммунного статуса красноярцев, переболевших до контакта с клещами COVID-19. Статистическим методом обосновано, что среди людей, заболевших КВЭ и ИКБ, доля лиц, перенесших COVID-19, значимо выше ожидаемой исходя из фактической заболеваемости населения Красноярского края новой коронавирусной инфекцией. Таким образом, COVID-19 влияет на заболеваемость людей трансмиссивными инфекциями опосредованно, через изменение числа контактов людей с природными станциями, и напрямую, изменяя иммунный статус.

Ключевые слова: трансмиссивные инфекции, иксодовые клещи, COVID-19, изменение иммунного статуса.

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

Для цитирования: Никитин А.Я., Сорокина О.В., Андаев Е.И., Харлампьева Н.Ю., Балахонов С.В. Влияние COVID-19 на заболеваемость людей трансмиссивными инфекциями, передающимися иксодовыми клещами (на примере Красноярского края). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 1:120–125. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-120-125

Поступила 17.02.2023. Принята к публ. 14.03.2023.

A.Ya. Nikitin¹, O.V. Sorokina², E.I. Andaev¹, N.Yu. Kharlamp'eva², S.V. Balakhonov¹**The Effect of COVID-19 on the Incidence of Human Vector-Borne Infections Transmitted by Ixodid Ticks (Illustrated by the Example of Krasnoyarsk Territory)**¹Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation,²Center of Hygiene and Epidemiology in the Krasnoyarsk Territory, Krasnoyarsk, Russian Federation

Abstract. In 2022, there was an increase in the incidence of tick-borne encephalitis (TBE) and ixodid tick-borne borreliosis (ITBB) in the subjects of the Russian Federation, federal districts and the country as a whole. At the same time, among people affected by ixodid ticks, the proportion of clinical forms of the diseases has increased. **The aim** of this study is to analyze the possible causes of the simultaneous increase in the incidence of vector-borne infections and the proportion of clinical forms among the people bitten by the ticks, using the materials on Krasnoyarsk Territory as an example. **Materials and methods.** We analyzed the incidence of TBE and ITBB among the people who have or haven't had COVID-19, the number of people affected by tick bites in 2021–2022 in Krasnoyarsk Territory. Statistical analysis is performed by standard methods of variational statistics using Excel. **Results and discussion.** It is shown that in the Krasnoyarsk Territory, with a decrease in the number of individuals affected by tick bites in 2022 as compared to 2021 (12216 and 13214, respectively), there was an increase in the number of cases of TBE (from 124 to 250) and ITBB (from 115 to 224), as well as the proportion of people who had clinical forms of the infections after tick bites. Among three possible explanations of the observed pattern, a decrease in the immune status of Krasnoyarsk residents who had had COVID-19 before the contact with ticks is considered as the most likely one. Using statistical methods it was substantiated that among people with TBE and ITBB, the proportion of individuals who have had COVID-19 is significantly higher than expected, based on the actual incidence of the Krasnoyarsk Territory population with a new coronavirus infection. Thus, COVID-19 affects the incidence of vector-borne infections indirectly, through a change in the number of people contacts with natural stations, and directly, by changing the immune status.

Key words: vector-borne infections, ixodid ticks, COVID-19, immune status changes.

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

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

Citation: Nikitin A.Ya., Sorokina O.V., Andaev E.I., Kharlamp'eva N.Yu., Balakhonov S.V. The Effect of COVID-19 on the Incidence of Human Vector-Borne Infections Transmitted by Ixodid Ticks (Illustrated by the Example of Krasnoyarsk Territory). *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:120–125. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-120-125
Received 17.02.2023. Accepted 14.03.2023.

Nikitin A.Ya., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3918-7832>
Andaev E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6612-479X>

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

На протяжении двух десятилетий XXI в. в Российской Федерации регистрировали снижение заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ) [1–3]. Небольшие всплески инцидентности КВЭ, происходившие в отдельные годы (2015, 2019 гг.), не меняли общей картины и не вызывали необходимости со стороны служб надзора за инфекционными болезнями и здравоохранения кардинально менять подходы к профилактике КВЭ. Несмотря на относительное эпидемиологическое благополучие в РФ по КВЭ в этот период, специалистами разных стран подчеркивалось, что ситуация неоднозначна в различных частях нозоарела и ослабление внимания к опасной инфекции недопустимо [3–7].

Эпидемиологический сезон 2022 г. характеризуется в Российской Федерации неожиданно высоким подъемом числа случаев КВЭ: с 1010 в 2021 г. до 1969 в 2022 г. (рост на 95 %). Подобный характер изменения наблюдался практически во всех эндемичных субъектах страны, особенно с многолетним высоким показателем инцидентности болезни. Соответственно рост заболеваемости КВЭ в субъектах привел к аналогичным изменениям в показателях федеральных округов (в порядке убывания степени роста): Дальневосточный, Сибирский (СФО), Уральский, Центральный, Приволжский, Северо-Западный. Причем в 2022 г. в стране возросла не только заболеваемость КВЭ, но также число летальных исходов (с 14 в 2021 г. до 49) и доля клинических форм болезни среди лиц, пострадавших от присасывания клещей (в среднем для шести федеральных округов с $0,41 \pm 0,092$ % в 2021 г. до $1,08 \pm 0,389$ % в 2022 г.) (табл. 1).

Аналогично в 2022 г. произошел рост инцидентности и доли манифестных форм болезни среди людей, пострадавших от присасывания иксодовых клещей, по наиболее распространенному в Евразии зоонозу – иксодовым клещевым боррелиозам (ИКБ). Число больных ИКБ в Российской Федерации увеличилось с 3875 (2021 г.) до 7257 (рост на 87 %). Доля манифестных форм среди лиц, пострадавших от присасывания клещей, выросла с 0,23 до 1,44 %. Как и в случае с КВЭ, подобный характер динамики показателей наблюдался в большинстве субъектов и федеральных округов страны. В среднем для шести федеральных округов доля клинических проявлений болезни изменилась с $(0,75 \pm 0,263)$ % в 2021 г. до $(1,28 \pm 0,336)$ % в 2022 г. Таким образом, по двум разным инфекциям произошло однонаправленное количественное и качественное изменение эпидемиологического процесса.

Цель работы – провести анализ возможных причин одновременного роста заболеваемости транс-

миссивными инфекциями и доли клинических форм среди лиц, пострадавших от присасывания клещей, на примере материалов по Красноярскому краю.

Материалы и методы

Ретроспективный эпидемиологический анализ данных о ситуации по КВЭ и ИКБ в 2021 г. основан на материалах формы № 2 федерального статистического наблюдения «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», № 1 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» в 2022 г., с учетом материалов Референс-центра по мониторингу за клещевым вирусным энцефалитом ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае». Данные о заболеваемости населения Красноярского края COVID-19, КВЭ и ИКБ предоставлены ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае».

Показатели заболеваемости КВЭ, ИКБ и COVID-19, а также обращаемости населения, пострадавшего от присасывания клещей, представлены в абсолютных значениях. Доля людей с клиническими (манифестными) формами трансмиссивных инфекций находилась путем деления числа выявленных случаев зоонозной инфекции на количество лиц, пострадавших на данной территории от присасывания иксодовых клещей, и выражалась в процентах.

Приведенные в работе материалы статистически обработаны методами вариационной статистики, а именно путем расчета среднего арифметического и стандартной ошибки этого показателя. Для сравнения выборок применяли методы Стьюдента и χ^2 [8].

Значимыми считали различия при уровне вероятности (P) ниже 0,05. Все расчеты проведены в программе Excel.

Результаты и обсуждение

Самая высокая заболеваемость КВЭ в РФ за последние 10 лет наблюдается в Красноярском крае. В 2022 г. на долю субъекта пришлось 31,4 % от всех случаев КВЭ в СФО (250 из 796). По сравнению с 2021 г. число случаев КВЭ в Красноярском крае в 2022 г. увеличилось сразу на 101,6 % (со 124 до 250 больных). Доля манифестных форм среди лиц, пострадавших от клещей, статистически значимо ($P < 0,001$) возросла с 0,94 до 2,05 %. Вместе с тем число обращений населения в медицинские организации после присасывания клещей снизилось с 13214 в 2021 г. до 12216 в 2022 г. (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Сравнительный анализ данных по заболеваемости инфекциями, передающимися иксодовыми клешнями, в Российской Федерации и субъектах Сибирского федерального округа за 2021 и 2022 гг.

Comparative analysis of the data on the incidence of infections transmitted by ixodid ticks in the Russian Federation and constituent entities of the Siberian Federal District over the period of 2021 and 2022

Российская Федерация и субъекты Сибирского федерального округа The Russian Federation and the entities of the Siberian Federal District	Число людей, пострадавших от клешей Number of people affected by ticks		Число случаев КВЭ Number of TBVE cases		Доля манифестных форм КВЭ, % Share of manifest forms of TBVE, %		Число случаев ИКБ Number of ITBV cases		Доля манифестных форм ИКБ, % Share of manifest forms of ITBV, %	
	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022	2021	2022
Российская Федерация Russian Federation	453283	502764	1010	1969	0,223	0,392	3875	7257	0,868	1,443
Сибирский ФО Siberian FD	112063	107201	377	796	0,336	0,743	616	1114	0,554	1,039
Республика Алтай Altai Republic	4323	3312	15	9	0,347	0,272	22	20	0,509	0,604
Республика Тыва Republic of Tuva	1172	1461	11	61	0,939	4,175	35	57	2,986	3,901
Республика Хакасия Republic of Khakassia	2779	2569	9	36	0,324	1,401	12	39	0,613	1,518
Алтайский край Altai Territory	9814	9952	26	25	0,265	0,251	16	38	0,165	0,382
Красноярский край Krasnoyarsk Territory	13214	12216	124	250	0,938	2,046	115	224	0,870	1,834
Иркутская область Irkutsk Region	10658	13494	28	109	0,263	0,808	40	145	0,375	1,075
Кемеровская область – Кузбасс Kemerovo Region – Kuzbass	30023	27769	48	93	0,160	0,335	98	192	0,326	0,691
Новосибирская область Novosibirsk Region	16857	17315	73	135	0,433	0,780	106	212	0,629	1,224
Омская область Omsk Region	4968	6224	11	21	0,221	0,337	4	10	0,081	0,161
Томская область Tomsk Region	18255	12889	32	57	0,175	0,442	168	177	0,920	1,373
Среднее ± ошибка средней для субъектов СФО Mean value ± standard error of the mean for SFD entities	11206,3±2788,78	10720,1±2531,25	37,7±11,46	79,6±22,93	0,41±0,092	1,08±0,389	61,6±17,66	111,4±27,27	0,75±0,263	1,28±0,336
Значимость различий в 2021 и 2022 гг. (P) Significance of differences in 2021 and 2022 (P)	> 0,05		< 0,01		≤ 0,05		< 0,01		< 0,001	

Примечание: КВЭ – клещевой вирусный энцефалит; ИКБ – иксодовые клещевые боррелиозы; P – уровень вероятности.

Note: TBVE – tick-borne viral encephalitis; ITBV – Ixodid tick-borne borreliosis; P – level of probability.

Гипотетически подобный характер изменения показателей, характеризующих заболеваемость КВЭ, может быть вызван тремя причинами: а) снижением адресности мероприятий вакцинации/ревакцинации населения; б) ростом вирусофорности клещей или доли особей в их популяциях с высоким содержанием возбудителя; в) изменением чувствительности людей к циркулирующим вариантам вируса.

Для проверки реалистичности высказанных предположений рассмотрим особенности заболеваемости населения Красноярского края КВЭ и ИКБ в 2022 г. Известно, что на территории Красноярского края основным переносчиком вируса и боррелий является *Ixodes persulcatus*, а природные очаги этих инфекций носят совмещенный характер [9].

Как можно видеть из табл. 1, в сезон 2022 г. в Красноярске возросла не только заболеваемость КВЭ, но и ИКБ, причем доля клинических форм ИКБ среди людей, пострадавших от присасывания клещей, статистически значимо ($P < 0,001$) выросла с 0,87 % в 2021 г. до 1,83 % в 2022 г. Так как в РФ не применяют вакцины от ИКБ, то схожесть в динамике изменений показателей, характеризующих вирусную и бактериальную инфекции, делает предположение о роли в этих процессах снижения адресности вакцинации неприменимым. Маловероятным событием является и резкое однонаправленное изменение зараженности клещей вирусом и боррелиями, что могло бы теоретически вызвать рост заболеваемости населения и доли клинических форм КВЭ и ИКБ. Кроме того, фактические данные о вирусофорности клещей, снятых с людей в 2021 г. (исследовано методом ПЦР 9778 особей) выявили 1,77 % инфицированных, а в 2022 г. (исследовано методом ПЦР 8740 особей) – 1,48 %, то есть показатель был даже несколько ниже в год резкого подъема заболеваемости. Фактические данные о зараженности клещей боррелиями в 2021 г. (исследовано методом ПЦР 9766 особей) выявили 44,9 % инфицированных, а в 2022 г. (исследовано методом ПЦР 8708 особей) – 44,3 %, то есть различия между двумя сезонами несущественны.

Таким образом, наиболее вероятным является предположение об изменении популяционной инфекционной чувствительности к возбудителям трансмиссивных инфекций у людей. В свете недавнего распространения по всему миру новой коронавирусной инфекции COVID-19, вызвавшей чрезвычайную ситуацию международного характера в области общественного здравоохранения, возникает предположение о ее отрицательном влиянии на общий уровень иммунного статуса населения, что затрагивает и ситуацию с трансмиссивными инфекциями [10, 11].

Для проверки гипотезы о роли продолжающейся пандемии COVID-19 в росте заболеваемости населения трансмиссивными инфекциями, передающимися клещами, оценим долю красноярцев, переболевших коронавирусной инфекцией до мая 2022 г. (примерное начало эпидемического сезона КВЭ и ИКБ в Красноярском крае). По информации ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае», к этому времени было зарегистрировано 429033 случая COVID-19, что составляет 15,9 % всего населения субъекта. В качестве нулевой гипотезы примем, что доля людей, переболевших COVID-19, среди перенесших трансмиссивные инфекции, передающиеся иксодовыми клещами, будет такой же. То есть среди 250 переболевших КВЭ в 2022 г. должно быть примерно 40, а среди 224 переболевших ИКБ – 37 человек, перенесших COVID-19 (табл. 2). Фактические данные показывают, что среди больных КВЭ в 2022 г. выявлено 78 лиц (31,2 %), перенесших COVID-19. Аналогично среди больных ИКБ таких людей 64 (27,4 %). Такое несовпадение ожидаемого и фактического числа больных позволяет с высокой степенью надежности ($P < 0,001$ в обоих случаях) отвергнуть нулевую гипотезу.

Полученные данные можно интерпретировать следующим образом: измененный иммунный статус людей в результате перенесенной новой коронавирусной инфекции, двухраундовой иммунизации и бустерной поддержки влияет на восприимчивость к возбудителям трансмиссивных инфекций. В ре-

Таблица 2 / Table 2

Ожидаемое и фактическое число людей, переболевших COVID-19, среди лиц, перенесших КВЭ (250 человек) и ИКБ (224 человека) в Красноярском крае в 2022 г.

The expected and actual number of people who had COVID-19 among those who had TBVE (250 people) and ITBB (224 people) in the Krasnoyarsk Territory in 2022

Трансмиссивная инфекция Vector-borne infection	*Число (%) переболевших COVID-19 в период: *Number of people (%) who had COVID-19 during the period of:			Фактически (%) Actual value (%)	Ожидалось (%) Expected value (%)	χ^2 (P)
	I 01.01. – 30.06.2021	II 01.07. – 31.12.2021	III 01.01. – 31.05.2022			
КВЭ TBVE	5 (6,4)	35 (44,9)	38 (48,7)	78 (31,2)	39,8 (15,9)	36,1 ($< 0,001$)
ИКБ ITBB	7 (10,9)	24 (37,5)	33 (51,6)	64 (27,4)	37,2 (15,9)	19,7 ($< 0,001$)

Примечания: люди, болевшие коронавирусной инфекцией повторно, учтены в период последнего проявления болезни.

Notes: persons, who had coronavirus infection repeatedly, are accounted for during the last manifestation of the disease; TBVE – tick-borne viral encephalitis; ITBB – Ixodid tick-borne borreliosis.

зультате более низкие дозы вируса и боррелий могут вызвать заболевания, что увеличивает как число выявляемых случаев, так и долю манифестных форм среди лиц, пострадавших от присасывания иксодовых клещей. В частности, известно, что до пандемии COVID-19 примерно у 3 % людей, пострадавших от укуса клеща, клиническая картина КВЭ не проявлялась, хотя антиген в сыворотках крови обнаруживался [12].

В нашем распоряжении имелись данные о сроках, когда люди, заболевшие КВЭ или ИКБ, болели COVID-19 (табл. 2). С определенным допуском можно считать, что от эпидемического сезона по трансмиссивным инфекциям в 2022 г. I период удален на 420, II – 240, III – 75 дней. Роль каждого из периодов в формировании иммунного статуса будет пропорциональна доле людей, болевших в нем COVID-19. Как можно видеть из данных табл. 2, доля людей, переболевших COVID-19 в I периоде по обоим трансмиссивным инфекциям, невысока. Наибольшее влияние на заболеваемость инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, оказывают люди, перенесшие COVID-19 во II и особенно III периоде. То есть изменения, возникшие в иммунной системе в результате перенесенного COVID-19, оказывают влияние на восприимчивость организма реципиента к КВЭ и ИКБ на протяжении не более 240, а в большинстве случаев – около 100 дней.

Отметим, что опосредованное влияние пандемии COVID-19 на заболеваемость природно-очаговыми инфекциями обсуждали и ранее [3, 13–16]. Причем в зависимости от социально-экономических и культурных традиций в разных странах последствия этого были прямо противоположными. Так, в РФ в период карантинных ограничений доля людей, пострадавших от клещей, снизилась, что привело к падению заболеваемости по ряду природно-очаговых инфекций [3, 13, 14]. В то же время в странах Европы введенный локдаун привел к росту числа контактов людей с природными стациями, соответственно – росту заболеваемости КВЭ [15, 16].

В вышеупомянутых работах обсуждается опосредованное влияние коронавирусной инфекции, приводящее к изменению частоты контактов населения с природными стациями и перераспределением в лечебных учреждениях объемов оказания медицинской помощи в пользу больных COVID-19. То есть рассматриваются принципиально иные механизмы и результаты влияния пандемии коронавирусной инфекции на заболеваемость населения КВЭ и ИКБ по сравнению с представленными в нашем сообщении. Кроме того, появился ряд публикаций, где рассматриваются осложнения в течении КВЭ после предшествующего заражения вирусом SARS-CoV-2 [11] или характер взаимодействия разных возбудителей при исходном заражении человека боррелиями и вирусом клещевого энцефалита (без симптомов КВЭ), что после перенесенного COVID-19 привело к проявлению симптомов ИКБ и КВЭ [17]. Эти публика-

ции однозначно указывают на возможность изменения иммунного статуса людей после перенесенного COVID-19.

Выявленный эффект длительного влияния COVID-19 на восприимчивость людей к возбудителям, передающимся иксодовыми клещами, в силу продолжающейся пандемии коронавирусной инфекции требует: а) учета при составлении моделей краткосрочного прогноза КВЭ и ИКБ на будущие годы; б) рекомендации для лиц из контингентов риска после перенесенного COVID-19 проверять иммунный статус и в случае необходимости проводить его коррекцию; в) более широкого применения мер неспецифической профилактики, особенно использование населением индивидуальных средств защиты.

Нет оснований полагать, что ослабление иммунитета после перенесенного COVID-19 проявляется у людей только на эндемичных по КВЭ и ИКБ территориях Красноярского края. Таким образом, одной из причин (возможно, основной) роста заболеваемости населения РФ трансмиссивными инфекциями, а также увеличения доли манифестных форм КВЭ и ИКБ в 2022 г. является перенесенный значительным числом россиян COVID-19.

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

Список литературы

1. Леонова Г.Н. Клещевой энцефалит в Дальневосточном очаговом регионе евразийского континента. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2020; 97(2):150–8. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-2-150-158.
2. Погодина В.В., Ишмухаметов А.А., редакторы. Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время). Тверь: ООО «ТФП»; 2021. 344 с.
3. Никитин А.Я., Андаев Е.И., Толмачёва М.И., Аюгин Н.И., Яценко Е.В., Матвеева В.А., Туранов А.О., Балахонов С.В. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации за 2011–2021 гг. и краткосрочный прогноз ее развития. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:15–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-15-23.
4. Süss J. Tick-borne encephalitis 2010: epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia – an overview. *Ticks Tick Borne Dis*. 2011; 2(1):2–15. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2010.10.007.
5. Jaenson T.G., Värvi K., Fröjdman I., Jääskeläinen A., Rundgren K., Versteirt V., Estrada-Peña A., Medlock J.M., Golovljova I. First evidence of established populations of the taiga tick *Ixodes persulcatus* (Acari: Ixodidae) in Sweden. *Parasit. Vectors*. 2016; 9(1):377. DOI: 10.1186/s13071-016-1658-3.
6. Malkhazova S.M., Pestina P.V., Tikunov V.S. Emerging and re-emerging natural focal diseases of European Russia (typological classification of nosological profiles and dynamics of incidence). *Geography, Environment, Sustainability*. 2020; 13(1):115–27. DOI: 10.24057/2071-9388-2019-61.
7. Holding M., Schmitt H.-J., Ellsbery G. TBE in United Kingdom. Chapter 12b. In: Dobler G., Erber W., Bröker M., Schmitt H.-J., eds. *The TBE Book*. 3rd ed. Singapore: Global Health Press; 2020. DOI: 10.33442/26613980_12b35-3.
8. Елисеева И.И., Юзбашев М.М. Общая теория статистики: учебник. М.: Финансы и статистика; 2006. 656 с.
9. Хазова Т.Г. Эколого-паразитологическая характеристика природных очагов клещевого энцефалита в Красноярском крае. *Бюллетень СО РАМН*. 2007; 126(4):94–9.
10. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский И.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербакова С.А. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 1: Модели реализации профилактических и противоэпидемических мероприятий. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 1:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13.
11. Czarnowska A., Kapica-Topczewska K., Garkowski A., Chorąży M., Tarasiuk J., Kochanowicz J., Kułakowska A.,

Zajkowska J. Severe tick-borne encephalitis in a patient recovered from COVID-19. *Ticks Tick Borne Dis.* 2022; 13(4):101940. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2022.101940.

12. Ляпунов А.В., Данчинова Г.А., Хаснатинов М.А., Туник Т.В., Арбатская Е.В., Петрова И.В., Савельева М.В., Горбунова Е.Л., Гладкова Е.П. Встречаемость антигена вируса клещевого энцефалита у населения, пострадавшего от укусов иксодовых клещей. *Бюллетень ВШНЦ СО РАМН.* 2013; 2:115–8.

13. Рудакова С.А., Пенъевская Н.А., Блох А.И., Рудаков Н.В., Транквиловский Д.В., Савельев Д.А., Теслова О.Е., Канешова Н.Е. Обзор эпидемиологической ситуации по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2010–2020 гг. и прогноз на 2021 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 2:52–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-52-61.

14. Туранов А.О., Андаев Е.И., Никитин А.Я. Динамика и интенсивность эпидемического процесса иксодовых клещевых боррелиозов и сибирского клещевого тифа в Восточном Забайкалье. *Фундаментальная и клиническая медицина.* 2022; 7(4):18–28. DOI: 10.23946/2500-0764-2022-7-4-18-2813.

15. Steffen R., Lautenschlager S., Fehr J. Travel restrictions and lockdown during the COVID-19 pandemic – impact on notified infectious diseases in Switzerland. *J. Travel Med.* 2020; 27(8):taaa180. DOI: 10.1093/jtm/taaa180.

16. Чемакина И.С., Коста Клеменс С.А., Клеменс Р. Клещевой энцефалит в странах Европейского союза: современное состояние и возникающие проблемы. В кн.: Актуальные вопросы обеспечения эпидемиологического благополучия в трансграничных природных очагах чумы и других опасных инфекционных болезней: Материалы XV Межгос. науч.-практ. конф. (5–6 октября 2021 г., Иркутск); Иркутск: Изд-во ИГУ; 2021. С. 244–5. [Электронный ресурс]. URL: <http://nipchi-conference.tilda.ws/> (дата обращения 07.02.2023).

17. Леонова Г.Н., Шутикова А.Л., Попов А.Ф., Щелканов М.Ю. Верификация случая микст инфекции болезни Лайма, клещевого энцефалита и COVID-19. *Acta Biomedica Scientifica.* 2022; 7(5-2):67–73. DOI: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.7.

References

1. Leonova G.N. [Tick-borne encephalitis in the Far East focal region of the Eurasian continent]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2020; 97(2):150–8. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-2-150-158.

2. Pogodina V.V., Ishmukhametov A.A., editors. [Evolution of Tick-Borne Encephalitis (Since the Discovery of the Pathogen to the Present)]. Tver: TFP LLC; 2021. 344 p.

3. Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Tolmacheva M.I., Ayugin N.I., Yatsmenko E.V., Matveeva V.A., Turanov A.O., Balakhonov S.V. [Epidemiological situation on tick-borne viral encephalitis in the Russian Federation in 2011–2021 and short-term forecast of its development]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; (1):15–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-15-23.

4. Süss J. Tick-borne encephalitis 2010: epidemiology, risk areas, and virus strains in Europe and Asia – an overview. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011; 2(1):2–15. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2010.10.007.

5. Jaenson T.G., Värvi K., Fröjdman I., Jääskeläinen A., Rundgren K., Versteirt V., Estrada-Peña A., Medlock J.M., Golovljova I. First evidence of established populations of the taiga tick *Ixodes persulcatus* (Acari: Ixodidae) in Sweden. *Parasit. Vectors.* 2016; 9(1):377. DOI: 10.1186/s13071-016-1658-3.

6. Malkhazova S.M., Pestina P.V., Tikunov V.S. Emerging and re-emerging natural focal diseases of European Russia (typological classification of nosological profiles and dynamics of incidence). *Geography, Environment, Sustainability.* 2020; 13(1):115–27. DOI: 10.24057/2071-9388-2019-61.

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

8. Eliseeva I.I., Yuzbashev M.M. [General Theory of Statistics: Textbook]. Moscow: “Finance and statistics”; 2006. 656 p.

9. Khazova T.G. [Ecological and parasitological characterization of tick-borne encephalitis natural foci in the Krasnoyarsk Territory]. *Byulleten' Sibirskogo Otdeleniya Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk* [Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2007; 126(4):94–9.

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

11. Czarnowska A., Kapica-Topczewska K., Garkowski A., Chorazy M., Tarasiuk J., Kochanowicz J., Kulakowska A., Zajkowska J. Severe tick-borne encephalitis in a patient recovered from COVID-19. *Ticks Tick Borne Dis.* 2022; 13(4):101940. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2022.101940.

12. Lyapunov A.V., Danchinova G.A., Khasnatinov M.A., Tunik T.V., Arbatskaya E.V., Petrova I.V., Savel'kaeva M.V., Gorbunova E.L., Gladkova E.P. [The prevalence of tick-borne encephalitis virus antigen in serum samples from people suffered from tick bites]. *Byulleten' Sibirskogo Otdeleniya Rossiyskoy Akademii Meditsinskikh Nauk* [Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences]. 2013; (2):115–8.

13. Rudakova S.A., Pen'evskaya N.A., Blokh A.I., Rudakov N.V., Trankvilevsky D.V., Savel'ev D.A., Teslova O.E., Kaneshova N.E. [Review of the epidemiological situation on Ixodic tick-borne borreliosis in the Russian Federation in 2010–2020 and prognosis for 2021]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2021; (2):52–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-2-52-61.

14. Turanov A.O., Andaev E.I., Nikitin A.Ya. [Incidence and trends of ixodid tick-borne borreliosis and Siberian tick typhus in the Eastern Transbaikalia]. *Fundamental'naya i Klinicheskaya Meditsina*. [Fundamental and Clinical Medicine]. 2022; 7(4):18–28. DOI: 10.23946/2500-0764-2022-7-4-18-28.

15. Steffen R., Lautenschlager S., Fehr J. Travel restrictions and lockdown during the COVID-19 pandemic – impact on notified infectious diseases in Switzerland. *J. Travel Med.* 2020; 27(8):taaa180. DOI: 10.1093/jtm/taaa180.

16. Chemakina I.S., Costa Clemens S.A., Clemens R. [Tick-borne encephalitis in the countries of the European Union: modern state and arising concerns. In: [Issues of Epidemiological Wellbeing Providing in Transborder Natural Foci of Plague and Other Dangerous Infectious Diseases]. Proceedings of the XV Inter-State Scientific and Practical Conference (October, 5–6, 2021). Irkutsk: Publishing House of Irkutsk State University; 2021. P. 244–5. (Cited: 07 Feb 2023). [Internet]. Available from: <http://nipchi-conference.tilda.ws/>.

17. Leonova G.N., Shutikova A.L., Popov A.F., Shchelkanov M.Yu. Verification of a case of mixed infection with Lyme disease, tick-borne encephalitis and COVID-19. *Acta Biomedica Scientifica.* 2022; 7(5-2):67–73. DOI: 10.29413/ABS.2022-7.5-2.7.

Authors:

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

Sorokina O.V., Kharlamp'eva N.Yu. Center of Hygiene and Epidemiology in the Krasnoyarsk Territory. 38, Sopochnaya St., Krasnoyarsk, 660100, Russian Federation. E-mail: fguz@24.rospotrebnadzor.ru.

Об авторах:

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

Сорокина О.В., Харлампьева Н.Ю. Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае. Российская Федерация, 660100, Красноярск, ул. Сопочная, 38. E-mail: fguz@24.rospotrebnadzor.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-126-131

УДК 616.98:579.842.23

К.А. Никифоров¹, Е.Г. Оглодин¹, М.А. Макашова¹, А.Н. Балыкова¹, Д.В. Уткин², Л.М. Куклева¹,
Г.А. Ерошенко¹, В.В. Кутырев¹

Разработка комплексной системы молекулярно-генетической идентификации штаммов *Yersinia pestis*

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

²ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского», Саратов, Российская Федерация

В статье представлена разработанная комплексная система молекулярно-генетической идентификации штаммов *Yersinia pestis* в соответствии с их принадлежностью к подвидам, биоварам и филогеографическим популяциям, с помощью методов ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ), аллель-специфической ПЦР-РВ и мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке. С использованием этой системы возможно установление принадлежности штаммов *Y. pestis* к следующим филогенетическим ветвям: 0.ANT1, 0.ANT2, 0.ANT3, 0.ANT5, 3.ANT, 4.ANT античного биовара основного подвида; 2.MED0, 2.MED1, 2.MED2, 2.MED3, 2.MED4 средневекового биовара основного подвида; 1.IN1, 1.IN2, 1.IN3 биовара *intermedium* основного подвида; 1.ORI1, 1.ORI2, 1.ORI3 восточного биовара основного подвида; 0.PE3 (ангольский подвид), 0.PE7 (тибетский подвид) и 0.PE10 (цинхайский подвид). Первый этап исследований в рамках разработанной системы – индикация возбудителя чумы с использованием зарегистрированных диагностических препаратов. Второй этап – установление принадлежности к отдельным подвидам методом ПЦР-РВ или методом системы мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке, позволяющей также определять принадлежность штаммов к биоварам основного подвида и основным филогенетическим линиям античного биовара. Третий этап – определение принадлежности штаммов к филогенетическим ветвям методом АС-ПЦР-РВ. Разработанная комплексная система молекулярно-генетической идентификации штаммов *Y. pestis* может быть применена на региональном и федеральном уровнях системы лабораторной диагностики инфекционных болезней Российской Федерации. Ее использование значительно облегчит и повысит оперативность проведения внутривидовой дифференциации штаммов *Y. pestis* в рамках эпидемиологического расследования вспышек или заносов штаммов возбудителя чумы на территорию Российской Федерации или при паспортизации штаммов в коллекционной деятельности.

Ключевые слова: возбудитель чумы, молекулярно-генетические методы, идентификация штаммов.

Корреспондирующий автор: Никифоров Константин Алексеевич, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Никифоров К.А., Оглодин Е.Г., Макашова М.А., Балыкова А.Н., Уткин Д.В., Куклева Л.М., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Разработка комплексной системы молекулярно-генетической идентификации штаммов *Yersinia pestis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 1:126–131. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-126-131

Поступила 09.12.2022. Принята к публ. 14.12.2022.

К.А. Nikiforov¹, E.G. Oglochin¹, M.A. Makashova¹, A.N. Balykova¹, D.V. Utkin², L.M. Kukleva¹,
G.A. Eroshenko¹, V.V. Kutyrev¹

Development of an Integrated System for Molecular-Genetic Identification of *Yersinia pestis* Strains

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

²Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky, Saratov, Russian Federation

Abstract. The paper describes a developed comprehensive system for molecular-genetic identification of *Yersinia pestis* strains according to their appurtenance to certain subspecies, biovars, phylo-geographic populations, using real-time PCR (RT-PCR), allele-specific RT-PCR, and multiplex PCR with hybridization fluorescent registration of results on a solid substrate. Application of this system makes it possible to establish the appurtenance of *Y. pestis* strains to the following phylogenetic branches: 0.ANT1, 0.ANT2, 0.ANT3, 0.ANT5, 3.ANT, 4.ANT of antique biovar of the main subspecies; 2.MED0, 2.MED1, 2.MED2, 2.MED3, 2.MED4 of medieval biovar of the main subspecies; 1.IN1, 1.IN2, 1.IN3 of *intermedium* biovar of the main subspecies; 1.ORI1, 1.ORI2, 1.ORI3 of oriental biovar of the main subspecies; 0.PE3 (*angolica* subspecies), 0.PE7 (*tibetica* subspecies) and 0.PE10 (*qinghaica* subspecies). The first stage of the studies within the frames of the developed system is indication of plague agent using registered diagnostic drugs. The second stage is the determination of belonging to individual subspecies through RT-PCR or by the method of multiplex PCR system with hybridization-fluorescent registration of results on a solid substrate, which also allows for establishing to which biovars of the main subspecies and the main phylogenetic lines of the ancient biovar the strains belong. The third stage is the identification of strain appurtenance to phylogenetic branches by the AS-RT-PCR method. The designed complex system for molecular-genetic identification of *Y. pestis* strains can be applied at the regional and federal levels of the laboratory network of the Russian Federation for diagnostics of infectious diseases. Its use will considerably facilitate and increase the efficiency of intraspecific differentiation of *Y. pestis* strains within the framework of the epidemiological investigation of outbreaks or importation of strains of plague pathogen into the territory of the Russian Federation or during the certification of strains in collection activities.

Key words: plague agent, molecular-genetic methods, identification of strains.

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

Corresponding author: Konstantin A. Nikiforov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Nikiforov K.A., Oglozin E.G., Makashova M.A., Balykova A.N., Utkin D.V., Kukleva L.M., Eroshenko G.A., Kutryev V.V. Development of an Integrated System for Molecular-Genetic Identification of *Yersinia pestis* Strains. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 1:126–131. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-126-131

Received 09.12.2022. Accepted 14.12.2022.

Nikiforov K.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4115-9486>

Oglozin E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2955-3034>

Makashova M.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7713-7959>

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

Utkin D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5903-7700>

Kukleva L.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2438-8364>

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

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

В настоящее время с учетом тесных торгово-экономических и социокультурных связей на фоне усиливающейся глобализации чума остается актуальной угрозой для санитарно-эпидемиологического благополучия населения мира. Чума является острой природно-очаговой инфекционной болезнью, вызываемой бактерией *Yersinia pestis*. Природные очаги чумы находятся на всех континентах, за исключением Австралии и Антарктиды, в горных, степных, полупустынных и пустынных зонах. Циркуляция штаммов *Y. pestis* в условиях разных природных ландшафтов послужила причиной различий в свойствах и в вирулентности штаммов этого вида.

Так, согласно усовершенствованной внутривидовой классификации внутри вида *Y. pestis* выделяются семь подвидов: основной (очаги мира), тибетский (филогенетическая ветвь 0.PE7) (природные очаги на территории Тибетского автономного округа и провинции Цинхай Китая), кавказский (0.PE2) (очаги Кавказа и Закавказья), ангольский (0.PE3) (представлен единственным штаммом, выделенным в Анголе), центральноазиатский (0.PE4) (центральноазиатская зона природной очаговости чумы), цинхайский (0.PE10) (провинция Цинхай Китая) и улегейский (0.PE5) (Монголия). Центральноазиатский подвид образован четырьмя биоварами: алтайским (0.PE4a) (Горный Алтай России и Монголии), гиссарским (0.PE4h) (Гиссарский высокогорный очаг Республики Таджикистан), таласским (0.PE4t) (Таласский высокогорный очаг Киргизской Республики) и *microtus* (0.PE4m) (Китай) [1]. Штаммы основного подвида вирулентны для человека и характеризуются высоким эпидемическим потенциалом, что отличает их от штаммов неосновных подвидов. Штаммы этого подвида в свою очередь делятся на четыре биовара: античный, средневековый, восточный и *intermedium*. В античном биоваре выделяют филогенетические линии 0.ANT (объединяет ветви 0.ANT1, 0.ANT2, распространенные в Китае; 0.ANT3, встречающуюся в Китае и Киргизской Республике, и 0.ANT5, характерную для Киргизской Республики), 1.ANT (штаммы которой выделяются в Центральной Африке), 2.ANT (характерна для нескольких очагов Китая, Монголии и Забайкальского степного природного очага чумы РФ), 3.ANT (характерна для ряда очагов Китая и Монголии), 4.ANT (эндемична для Горно-Алтайского горного и Сайлюгемского природных очагов РФ и Монголии) [2–4].

Потомками линии 1.ANT являются биовары *intermedium* (1.IN) и восточный (1.ORI). Штаммы биовара 1.IN характерны только для ряда природных очагов Китая и являются предшественниками восточного биовара. Среди многообразия штаммов биовара 1.IN к настоящему моменту описано пять ветвей эволюции. Штаммы ветви 1.IN1 выделяются на территории провинции Цинхай и Синьцзян-Уйгурского автономного района; штаммы 1.IN2 характерны для провинций Цинхай и Ганьсу, Тибетского автономного района; штаммы 1.IN3 специфичны для провинции Юннань; штаммы 1.IN4 получили распространение в Джунгарском бассейне в северной части Синьцзян-Уйгурского автономного района [5]; недавно описана новая ветвь 1.IN5 в провинции Юннань [6]. Штаммы восточного биовара распространились по всем континентам во время третьей пандемии чумы. Восточный биовар состоит из трех ветвей эволюции (штаммы ветви 1.ORI1 были занесены в США, 1.ORI2 – в Европу, Южную Америку, Африку и Юго-Восточную Азию, 1.ORI3 – на Мадагаскар) [3].

Линия 2.ANT античного биовара является эволюционным предшественником средневекового биовара (2.MED), который в свою очередь представлен несколькими филогенетическими ветвями. В РФ циркулируют штаммы ветвей 2.MED0 (Центрально-Кавказский высокогорный очаг чумы) и 2.MED1 (большинство очагов РФ и других стран СНГ). Штаммы филогенетических ветвей 2.MED2 и 2.MED3 встречаются только в очагах Китая. Также недавно выделена филогенетическая ветвь 2.MED4, образованная штаммами начала XX в. на территории природных очагов Поволжья, Прикаспия и Кавказа.

На территории РФ и соседних государств распространены штаммы многих филогенетических ветвей возбудителя чумы, отличающихся по вирулентности и эпидемической значимости и, следовательно, по комплексу проводимых мероприятий в случае их обнаружения. Кроме того, некоторые природные очаги чумы РФ и соседних стран являются очагами смешанного типа, на территории которых одновременно циркулируют штаммы разных подвидов. В частности, в ряде очагов Кавказа встречаются штаммы кавказского подвида и средневекового биовара основного подвида, в Горно-Алтайском высокогорном очаге – штаммы алтайского биовара центральноазиатского подвида и штаммы ветви 4.ANT античного биовара основного подвида, в Таласском высокогорном очаге – штаммы таласского биова-

ра центральноазиатского подвида и средневекового биовара основного подвида, в природном очаге аймака Баян-Улгий Монголии – штаммы алтайского биовара центральноазиатского подвида, улегейского подвида и штаммы ветвей 3.ANT и 4.ANT античного биовара основного подвида. В связи с приведенными выше фактами возможны завозы штаммов других филогенетических ветвей *Y. pestis* на территорию Российской Федерации.

Традиционно для лабораторной диагностики чумы используются бактериологические, иммунологические и молекулярно-генетические методы. Молекулярно-генетические методы дают возможность получить результат за несколько часов от поступления подозрительного материала, что очень важно для проведения противоэпидемических мероприятий. К числу наиболее применяемых относится полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (ПЦР-РВ). Как медицинские изделия (МИ) зарегистрированы наборы реагентов: «Ген *Y. pestis* индикация – РГФ», «Ген *Y. pestis* идентификация – РГФ» (РосНИПЧИ «Микроб», Саратов), «АмплиСенс *Y. pestis* – FL» (ЦНИИ эпидемиологии, Москва), «ОМ-Скрин-Чума-РВ» (ООО «Синтол», Москва), – которые дают возможность проводить индикацию и идентификацию (оценка вирулентности и плазмидного профиля) штаммов *Y. pestis*. Также созданы экспериментальные праймеры и зонды, позволяющие выполнять дифференциацию некоторых филогенетических ветвей *Y. pestis*: средневекового биовара и восточного биовара основного подвида и ряда ветвей внутри средневекового биовара и ветви 4.ANT [7].

При этом нерешенными вопросами остаются дифференциация популяций 0.ANT1, 0.ANT2, 0.ANT3, 0.ANT5, 3.ANT античного биовара основного подвида; 2.MED4 средневекового биовара; 1.ORI1, 1.ORI2, 1.ORI3 восточного биовара; 1.IN1, 1.IN2, 1.IN3 биовара *intermedium*; ангольского (0.PE3), тибетского (0.PE7) и цинхайского (0.PE10) подвидов *Y. pestis*. Для решения этих вопросов необходима разработка системы оперативной и точной внутривидовой дифференциации штаммов возбудителя чумы с установлением их принадлежности к конкретным филогенетическим ветвям. Такая система будет способствовать повышению эффективности эпидемиологического мониторинга природных очагов чумы и эпидемиологического расследования вспышек или заносов штаммов *Y. pestis* в РФ.

Цель – представить разработку комплексной системы молекулярно-генетической идентификации штаммов *Y. pestis* в соответствии с их принадлежностью к определенным подвидам, биоварам, филогенетическим популяциям. Такая система может быть основана на быстрых и точных методах ПЦР-РВ и систем мультиплексных ПЦР с гибридационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке по детекции маркерных делеций или инсерций (indel-мутации). Однако такие indel-мутации

обнаружены не для всех филогенетических ветвей *Y. pestis*. Для этих ветвей в качестве генетических маркеров возможно использование специфических единичных полиморфных нуклеотидов (SNPs), являющихся наиболее распространенными генетическими маркерами в геноме [8].

Первоначально для создания системы внутривидовой дифференциации штаммов *Y. pestis* в соответствии с их принадлежностью к подвидам нами разработаны комплекты праймеров и зондов для ПЦР-РВ, основанные на определении наличия или отсутствия маркерных indel-мутаций, для разделения штаммов основного, кавказского (0.PE2), улегейского подвидов (0.PE5), а также алтайского (0.PE4a), гиссарского (0.PE4h), таласского (0.PE4t) и *microtus* (0.PE4m) биоваров центральноазиатского подвида [9]. Разработано также МИ «Набор реагентов для выявления и дифференциации штаммов возбудителя чумы основного и неосновных подвидов (отдельно алтайского биовара центральноазиатского подвида) методом полимеразной цепной реакции с гибридационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени (ГенПест-подвид/алтай-РГФ)» (регистрационное удостоверение № РЗН 2018/7338 от 05.07.2018). Этот набор позволяет проводить индикацию ДНК *Y. pestis* в пробах клинического и биологического материала, объектов окружающей среды с одновременным установлением принадлежности к основному и неосновным подвидам, с отдельной дифференциацией алтайского биовара центральноазиатского подвида методом ПЦР-РВ. Наиболее перспективно применение этого набора на региональном уровне системы лабораторной диагностики инфекционных болезней Роспотребнадзора в Горно-Алтайском высокогорном очаге чумы и прилегающей части Монголии, для которых свойственна одновременная циркуляция штаммов основного подвида *Y. pestis* ветви 4.ANT и алтайского биовара центральноазиатского подвида.

Следующей задачей было разделение подвидов, биоваров и ряда филогенетических линий *Y. pestis*. Для этого сконструирована система мультиплексных ПЦР с гибридационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке для индикации, идентификации и внутривидовой дифференциации штаммов по их принадлежности к виду *Y. pestis*, подвидам, биоварам, филогенетическим линиям, а также по наличию основных генов вирулентности [10]. Выбор этого метода продиктован тем, что он является эффективным, многофакторным, быстрым и позволяющим детектировать большое количество маркеров.

Разработанная нами система мультиплексных ПЦР с гибридационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке основана на определении наличия или отсутствия маркерных indel-мутаций и позволяет проводить установление принадлежности штаммов возбудителя чумы к основному, кавказскому (0.PE2), центральноазиатскому

(отдельно к алтайскому (0.PE4a), гиссарскому (0.PE4h), microtus (0.PE4m) и таласскому (0.PE4t) биоварам), улегейскому (0.PE5) подвидам, кроме того, к античному (с отдельным выделением ветвей 1.ANT (вместе с 1.IN) и 2.ANT), средневековому (с отдельным выделением ветви 2.MED0) и восточному биоварам основного подвида. Зарегистрировано МИ «Пест-МЛ ПЦР-биочип» для качественного выявления ДНК *Y. pestis* в пробах клинического материала, биологического материала, культур микроорганизмов с одновременным установлением принадлежности к основному и неосновным подвидам, биоварам, а также дифференциации вирулентных изолятов от авирулентных (регистрационное удостоверение № РЗН 2021/15445 от 04.10.2021). Применение МИ «Пест-МЛ ПЦР-биочип» перспективно на федеральном уровне системы лабораторной диагностики инфекционных болезней Роспотребнадзора при наличии соответствующего оборудования.

Заключительная задача состояла в решении вопроса дифференциации основных филогенетических ветвей *Y. pestis*. Для этого создан комплекс аллель-специфических ПЦР-РВ (АС-ПЦР-РВ), дающий

возможность проведения дифференциации филогенетических ветвей, для которых ранее не были подобраны эффективные маркерные indel-мутации [11]. Комплекс АС-ПЦР-РВ позволяет проводить дифференциацию филогенетических ветвей 0.ANT1, 0.ANT2, 0.ANT3, 0.ANT5, 3.ANT, 4.ANT античного биовара; 2.MED0, 2.MED1, 2.MED2, 2.MED3, 2.MED4 средневекового биовара; 1.IN1, 1.IN2, 1.IN3 биовара intermedium; 1.ORI1, 1.ORI2, 1.ORI3 восточного биовара и, кроме того, ангольского (0.PE3), тибетского (0.PE7) и цинхайского (0.PE10) подвигов. Разработанная система АС-ПЦР-РВ в перспективе может быть использована на региональном и федеральном уровнях системы лабораторной диагностики инфекционных болезней Роспотребнадзора, при наличии необходимого оборудования и персонала.

Таким образом, на основе полученных результатов мы предлагаем комплексную молекулярно-генетическую систему оперативной внутривидовой дифференциации штаммов *Y. pestis* методами ПЦР-РВ, АС-ПЦР-РВ и мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке (рисунк).

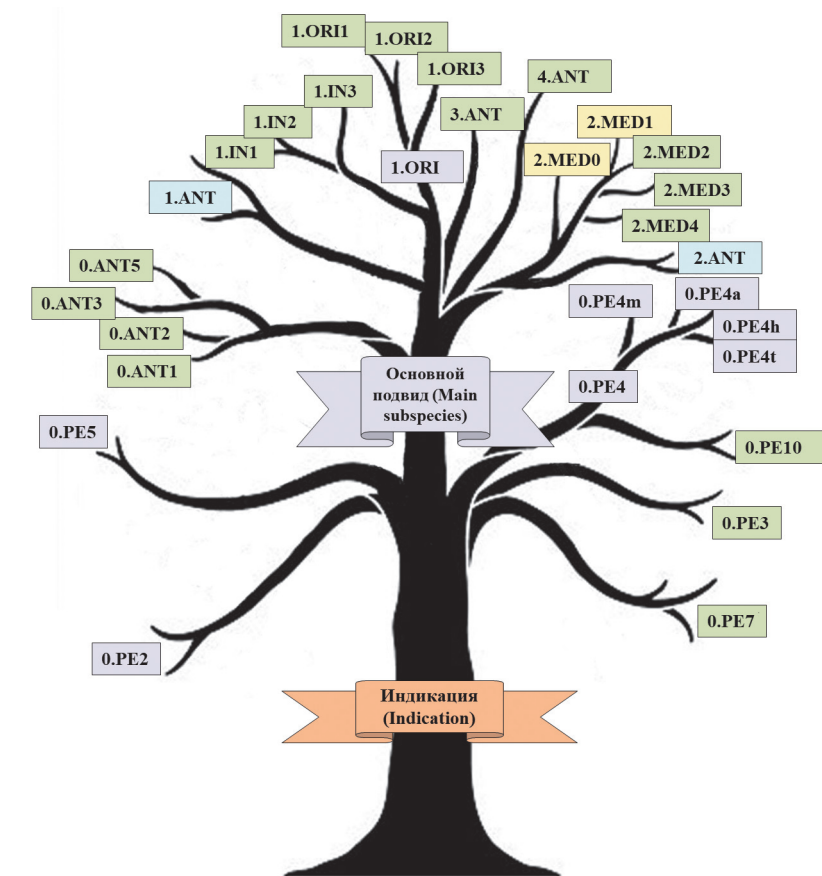


Схема применения комплексной молекулярно-генетической системы внутривидовой дифференциации штаммов *Y. pestis*

Scheme of application of the complex molecular-genetic system for intraspecific differentiation of *Y. pestis* strains

- ПЦР-РВ и система мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке (Real-time PCR and multiplex PCR system with hybridization-fluorescence registration of results on a solid substrate)
- АС-ПЦР-РВ и система мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке (AS-RT-PCR and multiplex PCR system with hybridization-fluorescence registration of results on a solid substrate)
- Система мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке (Multiplex PCR system with hybridization-fluorescence registration of results on a solid substrate)
- АС-ПЦР-РВ (AS-RT-PCR)

Первым этапом этой системы является проведение индикации ДНК возбудителя чумы с использованием зарегистрированных диагностических препаратов. После этого определяется принадлежность к отдельным подвидам (основному, кавказскому, улегейскому подвидам, алтайскому, гиссарскому, таласскому и *microtus* биоварам центральноазиатского подвида) методом ПЦР-РВ, основанном на детекции *indel*-мутаций. Либо с помощью системы мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке, детектирующей *indel*-мутации, устанавливается принадлежность штаммов к основному, кавказскому, улегейскому, центральноазиатскому (с отдельным выделением биоваров алтайского, гиссарского, таласского и *microtus*) подвидам, а также к античному (с отдельным выделением ветвей 1.ANT (вместе с 1.IN) и 2.ANT), средневековому (с отдельным выделением ветви 2.MED0) и восточному биоварам основного подвида. На последнем этапе методом АС-ПЦР-РВ проводится установление принадлежности штаммов к филогенетическим ветвям 0.ANT1, 0.ANT2, 0.ANT3, 0.ANT5, 3.ANT, 4.ANT; 2.MED0, 2.MED1, 2.MED2, 2.MED3, 2.MED4; 1.IN1, 1.IN2, 1.IN3; 1.ORI1, 1.ORI2, 1.ORI3; 0.PE3, 0.PE7 и 0.PE10.

Применение разработанной комплексной молекулярно-генетической системы для быстрой и надежной дифференциации штаммов *Y. pestis* по их принадлежности к определенным подвидам, биоварам и филогенетическим ветвям в перспективе дает возможность повысить эффективность и оперативность мониторинга природных очагов и выполнять молекулярное внутривидовое разделение штаммов *Y. pestis* на региональном и федеральном уровнях системы лабораторной диагностики инфекционных болезней Роспотребнадзора. Это значительно упростит проведение внутривидовой дифференциации при осуществлении молекулярно-эпидемиологического мониторинга в очагах и расследования вспышек или заносов штаммов *Y. pestis* в Российскую Федерацию или при проведении паспортизации штаммов в рамках коллекционной деятельности.

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

Список литературы

1. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Z.V., Oglochin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.
2. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guisoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1999; 96(24):14043–8. DOI: 10.1073/pnas.96.24.14043.
3. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.

4. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.
5. Zhang Y., Luo T., Yang C., Yue X., Guo R., Wang X., Buren M., Song Y., Yang R., Cao H., Cui Y., Dai X. Phenotypic and molecular genetic characteristics of *Yersinia pestis* at an emerging natural plague focus, Junggar Basin, China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018; 98(1):231–7. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0195.
6. Shi L., Qin J., Zheng H., Guo Y., Zhang H., Zhong Y., Yang C., Dong S., Yang F., Wu Y., Zhao G., Song Y., Yang R., Wang P., Cui Y. New genotype of *Yersinia pestis* found in live rodents in Yunnan Province, China. *Front. Microbiol.* 2021; 12:628335. DOI: 10.3389/fmicb.2021.628335.
7. Motin V.L., Georgescu A.M., Elliott J.M., Hu P., Worsham P.L., Ott L.L., Slezak T.R., Sokhansanj B.A., Regala W.M., Brubaker R.R., Garcia E. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR-based IS100 genotyping and analysis of structural genes encoding glycerol-3-phosphate dehydrogenase (*glpD*). *J. Bacteriol.* 2002; 184(4):1019–27. DOI: 10.1128/jb.184.4.1019-1027.2002.
8. Soleimani V.D., Baum B.R., Johnson D.A. Efficient validation of single nucleotide polymorphisms in plants by allele-specific PCR, with an example from barley. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2003; 21:281–8. DOI: 10.1007/BF02772803.
9. Никифоров К.А., Оглодин Е.Г., Куклева Л.М., Ерошенко Г.А., Германчук В.Г., Девдариани З.Л., Кутырев В.В. Подвидовая дифференциация штаммов *Yersinia pestis* методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии.* 2017; 2:22–7. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-22-27.
10. Никифоров К.А., Уткин Д.В., Макашова М.А., Куклева Л.М., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Конструирование системы мультиплексных ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов на твердой подложке для индикации и идентификации штаммов возбудителя чумы. *Биотехнология.* 2020; 36(3):46–56. DOI: 10.21519/0234-2758-2020-36-3-46-56.
11. Никифоров К.А., Оглодин Е.Г., Куклева Л.М., Макашова М.А., Балькова А.Н., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Конструирование системы аллель-специфической ПЦР в режиме реального времени для определения филогенетической принадлежности штаммов *Yersinia pestis*. *Биотехнология.* 2022; 38(3):82–91. DOI: 10.56304/S0234275822030073.

References

1. Kutyrev V.V., Eroshenko G.A., Motin V.L., Nosov N.Y., Krasnov J.M., Kukleva L.M., Nikiforov K.A., Al'khova Z.V., Oglochin E.G., Guseva N.P. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106.
2. Achtman M., Zurth K., Morelli G., Torrea G., Guisoule A., Carniel E. *Yersinia pestis*, the cause of plague, is a recently emerged clone of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1999; 96(24):14043–8. DOI: 10.1073/pnas.96.24.14043.
3. Morelli G., Song Y., Mazzoni C.J., Eppinger M., Roumagnac P., Wagner D.M., Feldkamp M., Kusecek B., Vogler A.J., Li Y., Cui Y., Thomson N.R., Jombart T., Leblois R., Lichtner P., Rahalison L., Petersen J.M., Balloux F., Keim P., Wirth T., Ravel J., Yang R., Carniel E., Achtman M. *Yersinia pestis* genome sequencing identifies patterns of global phylogenetic diversity. *Nat. Genet.* 2010; 42(12):1140–3. DOI: 10.1038/ng.705.
4. Cui Y., Yu C., Yan Y., Li D., Li Y., Jombart T., Weinert L.A., Wang Z., Guo Z., Xu L., Zhang Y., Zheng H., Qin N., Xiao X., Wu M., Wang X., Zhou D., Qi Z., Du Z., Wu H., Yang X., Cao H., Wang H., Wang J., Yao S., Rakin A., Li Y., Falush D., Balloux F., Achtman M., Song Y., Wang J., Yang R. Historical variations in mutation rate in an epidemic pathogen, *Yersinia pestis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2013; 110(2):577–82. DOI: 10.1073/pnas.1205750110.
5. Zhang Y., Luo T., Yang C., Yue X., Guo R., Wang X., Buren M., Song Y., Yang R., Cao H., Cui Y., Dai X. Phenotypic and molecular genetic characteristics of *Yersinia pestis* at an emerging natural plague focus, Junggar Basin, China. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2018; 98(1):231–7. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0195.
6. Shi L., Qin J., Zheng H., Guo Y., Zhang H., Zhong Y., Yang C., Dong S., Yang F., Wu Y., Zhao G., Song Y., Yang R., Wang P., Cui Y. New genotype of *Yersinia pestis* found in live rodents in Yunnan Province, China. *Front. Microbiol.* 2021; 12:628335. DOI: 10.3389/fmicb.2021.628335.
7. Motin V.L., Georgescu A.M., Elliott J.M., Hu P., Worsham P.L., Ott L.L., Slezak T.R., Sokhansanj B.A., Regala W.M., Brubaker R.R., Garcia E. Genetic variability of *Yersinia pestis* isolates as predicted by PCR-based IS100 genotyping and analysis of struc-

tural genes encoding glycerol-3-phosphate dehydrogenase (*glpD*). *J. Bacteriol.* 2002; 184(4):1019–27. DOI: 10.1128/jb.184.4.1019-1027.2002.

8. Soleimani V.D., Baum B.R., Johnson D.A. Efficient validation of single nucleotide polymorphisms in plants by allele-specific PCR, with an example from barley. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2003; 21:281–8. DOI: 10.1007/BF02772803.

9. Nikiforov K.A., Oglodin E.G., Kukleva L.M., Eroshenko G.A., Germanchuk V.G., Devdariani Z.L., Kutyrev V.V. [Subspecies differentiation of *Yersinia pestis* strains by PCR with hybridization-fluorescence detection]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii, Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology, Immunobiology]. 2017; (2):22–7. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-2-22-27.

10. Nikiforov K.A., Utkin D.V., Makashova M.A., Kukleva L.M., Eroshenko G.A., Kutyrev V.V. [Designing a system of multiplex PCR with hybridization-fluorescent registration of results, on a solid substrate, for indication and identification of *Y. pestis* strains]. *Biotehnologiya* [Biotechnology]. 2020; 36(3):46–56. DOI: 10.21519/0234-2758-2020-36-3-46-56.

11. Nikiforov K.A., Oglodin E.G., Kukleva L.M., Makashova M.A., Balykova A.N., Eroshenko G.A., Kutyrev V.V. [Construction of a real-time allele-specific PCR system for determining the phylogenetic affiliation of *Yersinia pestis* strains]. *Biotehnologiya* [Biotechnology]. 2022; 38(3):82–91. DOI: 10.56304/S0234275822030073.

Authors:

Nikiforov K.A., Oglodin E.G., Makashova M.A., Balykova A.N., Kukleva L.M., Eroshenko G.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Utkin D.V. Saratov National Research State University named after N.G. Chernyshevsky. 83, Astrakhanskaya St., Saratov, 410012, Russian Federation.

Об авторах:

Никифоров К.А., Оглодин Е.Г., Макашова М.А., Балькова А.Н., Куклева Л.М., Ерошенко Г.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Уткин Д.В. Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского. Российская Федерация, 410012, Саратов, ул. Астраханская, 83.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-132-141

УДК 616.98:579.841.95

Н.А. Осина, Д.А. Ситмбетов, Е.Г. Булгакова, С.С. Чекмарева, Е.В. Сазанова, А.М. Сеничкина,
О.Ю. Ляшова, А.В. Осин, С.А. Щербакова

Внутривидовая дифференциация штаммов *Francisella tularensis* методом мультилокусной полимеразной цепной реакции с учетом результатов в режиме реального времени

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

Цель – разработка способа внутривидовой дифференциации туляремиального микроба: подвиды *tularensis* (субпопуляции AI и AII), *holarctica* (биовары *japonica*, *Ery^{SR}*), *mediasiatica* и *novicida* – с помощью мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени. **Материалы и методы.** В работе использовали 48 штаммов *Francisella tularensis* различных подвидов, биоваров и субпопуляций. Внутривидовую принадлежность штаммов устанавливали на основании анализа варибельности области дифференциации RD-1 методом ПЦР, гена *sdhA* – методом фрагментного секвенирования по Сэнгеру, диско-диффузионным методом с использованием дисков с эритромицином. Подбор праймеров и зондов проводили с помощью программного обеспечения на сайте www.genscript.com и программы GeneRunner 6.5.52. Оценку гомологии последовательностей – по алгоритму BLAST, используя базу данных GenBank NCBI. **Результаты и обсуждение.** Получены новые данные по структуре и встречаемости областей дифференциации RD-8, RD-12, RD-28, гена *FTT1122c* и гомологичных ему последовательностей у штаммов туляремиального микроба различной подвидовой принадлежности. Выявлена новая RD_{hm} размером 346 п.н., характерная для штаммов subsp. *mediasiatica*, *holarctica*, которая делетирована у subsp. *tularensis* и отсутствует у subsp. *novicida*. На основе выявления локусов *FTT1670*, *FTT1122c*, *FTT1067*, *FTW_2084* разработана мультилокусная ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени «*F. tularensis* 4с», обеспечивающая определение всех подвидов туляремиального микроба, отдельно биовара *japonica* голарктического подвида и субпопуляций AI, AII подвида *tularensis*. Подтверждена ее специфичность при исследовании штаммов туляремиального микроба из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб». Полученные результаты расширяют представление о внутривидовой генетической неоднородности туляремиального микроба и возможности идентификации возбудителя туляремии с помощью молекулярно-генетических методов. Они также важны для понимания процессов приспособления возбудителя к циркуляции в макроорганизме и объектах окружающей среды, направлений эволюции и образования новых видов франциселл.

Ключевые слова: мультилокусная ПЦР, внутривидовая дифференциация, *Francisella tularensis*, биовары, подвиды, области дифференциации RD, структурная организация.

Корреспондирующий автор: Осина Наталия Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Осина Н.А., Ситмбетов Д.А., Булгакова Е.Г., Чекмарева С.С., Сазанова Е.В., Сеничкина А.М., Ляшова О.Ю., Осин А.В., Щербакова С.А. Внутривидовая дифференциация штаммов *Francisella tularensis* методом мультилокусной полимеразной цепной реакции с учетом результатов в режиме реального времени. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 1:132–141. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-132-141

Поступила 27.02.2023 Принята к публ. 24.03.2023.

N.A. Osina, D.A. Sitmbetov, E.G. Bulgakova, S.S. Chekmareva, E.V. Sazanova, A.M. Senichkina,
O.Yu. Lyashova, A.V. Osin, S.A. Shcherbakova

Intraspecific Differentiation of *Francisella tularensis* Strains Using Multilocus Real-Time Polymerase Chain Reaction

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

Abstract. The aim of the study was to develop a method for intraspecific differentiation of the tularemia microbe: subspecies *tularensis* (subpopulations AI and AII), *holarctica* (biovars *japonica*, *Ery^{SR}*), *mediasiatica*, and *novicida* using multilocus real-time PCR. **Materials and methods.** We used 48 strains of *F. tularensis* of various subspecies, biovars, and subpopulations. Intraspecific appurtenance of the strains was carried out on the basis of the analysis of the RD-1 region variability applying PCR, the *sdhA* gene by Sanger fragment sequencing and by the disk diffusion method using disks with erythromycin. The selection of primers and probes was performed using the software available at www.genscript.com and GeneRunner 6.5.52. Sequence homology was assessed using the BLAST algorithm and the GenBank NCBI database. **Results and discussion.** New data on the structure and occurrence of the differentiation regions RD-8, RD-12, RD-28 of *FTT1122c* gene and its homologous sequences in strains of tularemia microbe of various subspecies have been obtained. Novel RD_{hm} 346 bp in size, characteristic of strains of the subsp. *mediasiatica*, *holarctica*, which is deleted in subsp. *tularensis* and absent in subsp. *novicida* has been detected. Based on the detection of the *FTT1670*, *FTT1122c*, *FTT1067*, *FTW_2084* loci, a multilocus real-time PCR has been developed – “*F. tularensis* 4с”, providing for identification of all subspecies of the tularemia microbe, separately for the biovar *japonica* of the *holarctica* subspecies and subpopulations AI, AII of the subspecies *tularensis*. The PCR specificity was confirmed in the study of strains of tularemia microbe from the fund of the “State Collection of Pathogenic Bacteria” at the premises of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. The results obtained expand the concept of intraspecific genetic heterogeneity of tularemia microbe and possibilities of identifying the causative agent of tularemia using molecular-genetic methods.

They are important for understanding the processes of adaptation of the pathogen to circulation in the host organism and environmental objects, the course of evolution and formation of new species of *Francisella*.

Key words: multilocus PCR, intraspecific differentiation, *Francisella tularensis*, biovars, subspecies, RD differentiation regions, structural organization.

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

Corresponding author: Natalia A. Osina, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Osina N.A., Sitmbetov D.A., Bulgakova E.G., Chekmareva S.S., Sazanova E.V., Senichkina A.M., Lyashova O.Yu., Osin A.V., Shcherbakova S.A. Intraspecific Differentiation of *Francisella tularensis* Strains Using Multilocus Real-Time Polymerase Chain Reaction. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 1:132–141. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-132-141

Received 27.02.2023. Accepted 24.03.2023.

Osina N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0954-5683>

Sitmbetov D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2766-2624>

Bulgakova E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2405-2684>

Chekmareva S.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5487-2240>

Sazanova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9140-3910>

Senichkina A.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1026-2680>

Lyashova O.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1332-9580>

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

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

Согласно современной классификации, вид *Francisella tularensis* представлен четырьмя подвидами: *tularensis* (две субпопуляции AI и AII), *holarctica* (три биовара: *japonica*, эритромициноустойчивый Ery^R, эритромицинчувствительный Ery^S), *mediasiatica* и *novicida* [1–3]. Для подвигов, биоваров и генетических групп туляремиального микроба характерны различные ареалы распространения. Степень вирулентности туляремиального микроба зависит от того, к какому подвиду он относится. Поэтому на этапе идентификации выделенных культур возбудителя туляремии большое значение имеет определение их внутривидовой принадлежности.

Применение в соответствии с действующими нормативно-методическими документами (МУ 3.1.2007-05, МУ 4.2.2939-11) для этих целей бактериологического и биологического методов трудоемко и продолжительно во времени. Перспективными подходами в данном направлении являются молекулярно-генетические методы.

Разными исследователями предложены подходы для дифференцирования нескольких подвигов туляремиального микроба: *tularensis* [4]; *holarctica* [5]; *tularensis*, *holarctica*, *novicida* [6]; субпопуляций AI и AII *F. tularensis* subsp. *tularensis* [2]; *F. tularensis* subsp. *tularensis* AI и AII, *F. tularensis* subsp. *holarctica*, *F. tularensis* subsp. *novicida* [3] – методами ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной (ПЦР-РВ) или электрофоретической (ПЦР-ЭФ) детекцией. Применяя аналогичные приемы, а также ПЦР со случайными праймерами (RAPD), ряд исследователей смогли дифференцировать все подвиды патогена [7–10].

Дифференцировать подвиды, субпопуляции AI и AII *F. tularensis* subsp. *tularensis*, биовар *japonica* *F. tularensis* subsp. *holarctica* удалось D.N. Birdsell et al. [11] путем выявления одиннадцати полиморфных нуклеотидов (SNP) методом монолокусной ПЦР-РВ и В.М. Сорокину с соавт. [12] на основании детекции пяти INDEL-маркеров с помощью монолокусной ПЦР с электрофоретическим учетом результатов в 8 % полиакриламидном геле.

Однако предложенные подходы либо недостаточно чувствительны [7], либо недостаточно информативны [2, 4–6], трудоемки в исполнении [9, 11, 12] и продолжительны по времени [7]. Все это указыва-

ет на необходимость разработки простых, быстрых и информативных подходов для определения подвигов и биоваров туляремиального микроба с помощью молекулярно-генетических методов.

Целью работы являлась разработка способа внутривидовой дифференциации туляремиального микроба: подвиды *tularensis* (субпопуляции AI и AII), *holarctica* (биовары *japonica*, Ery^{S/R}), *mediasiatica* и *novicida* с помощью мультилокусной ПЦР с учетом результатов в режиме реального времени.

Материалы и методы

Объектом исследования служили 48 штаммов туляремиального микроба из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», из них подвиды *tularensis* AI – 3, *tularensis* AII – 4, *mediasiatica* – 3, *holarctica* bv. Ery^R – 19, *holarctica* bv. Ery^S – 13, *holarctica* bv. *japonica* – 4, *novicida* – 2. Штаммы культивировали на FT-агаре (ФБУН ГНЦ ПМБ) в течение 36–48 ч при температуре (37±1) °C. Из выросших культур готовили суспензии в 2 мл 0,9 % раствора натрия хлорида по отраслевому стандартному образцу мутности 10 единиц ФГБУ НЦЭСМП (ОСО 42-28-85-П, 10МЕ), что соответствовало 5·10⁹ м.к./мл для возбудителя туляремии. Затем десятикратными разведениями в 0,9 % растворе натрия хлорида микробные взвеси доводили до концентрации 1·10³ м.к./мл. Обеззараживание проб осуществляли в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Выделение ДНК проводили с помощью набора «ДНК-сорб В» в соответствии с инструкцией к препарату.

Определение чувствительности штаммов туляремиального микроба к эритромицину осуществляли диско-диффузионным методом с использованием дисков с антибиотиком 15 мкг/мл (Oxoid Ltd., Великобритания).

Для проведения реакции амплификации применяли фермент SynTaq ДНК-полимераза с ингибирующими активностью фермента антителами и другие реагенты производства ООО «Синтол» (10хПЦР-Буфер-Б, 25 мМоль MgCl₂, 25 мМоль смеси дНТФ).

Постановку ПЦР с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов осуществляли на при-

боре типа RotorGene (Qiagen, Германия) и CFX96 (BioRad, США), а с электрофоретической детекцией – на амплификаторе Mastercycler (Eppendorf, Германия) визуализируя ампликоны в 2 % агарозном геле.

Определение подвиговой принадлежности на основании анализа варибельности области дифференциации RD-1 методом ПЦР с электрофоретической детекцией проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗ [5]. Для выявления полиморфных нуклеотидов в гене *sdhA* проводили амплификации его фрагмента размером 521 п.н. с использованием праймеров *sdhA1* 5'-AACGAGCGTTTGGTGGGATG-3', *sdhA2* 5'-CACCACGCCCTTCCATAATTTC-3'. Полученные методом фрагментного секвенирования по Сэнгеру нуклеотидные последовательности выравнивали относительно гена *sdhA* штамма *F. tularensis* SchuS4 (GenBank NCBI № NC_006570.2). Для *F. tularensis* subsp. *tularensis* AI характерны следующие нуклеотиды: 441G, 465A, 480C, 750T, 795 C; *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* – 441G, 465G, 480T, 750T, 795C; *F. tularensis* subsp. *tularensis* AII и *F. tularensis* *holarctica* bv. Ery^{RS} – 441G, 465G, 480C, 750T, 795C; *F. tularensis* subsp. *holarctica* bv. *japonica* – 441G, 465G, 480C, 750C, 795C; *F. tularensis* subsp. *novicida* – 441A, 465G, 480T, 750T, 795T.

Фрагментное секвенирование по Сэнгеру осуществляли на генетическом анализаторе 3500 XL в соответствии с рекомендациями производителя.

Подбор праймеров и зондов проводили с помощью программного обеспечения на сайте www.genscript.com (Bioinformatics Tools/Molecular Biology/Real-time PCR (TaqMan) Primer Design) и программы GeneRunner 6.5.52. Для оценки гомологии последовательностей использовали алгоритм BLAST и базу данных GenBank NCBI, программу MEGA X64.

Результаты и обсуждение

Подбор перспективных ДНК-мишеней для внутривидовой дифференциации туляремиального микроба методом мультилокусной ПЦР. Поиск генетических маркеров, специфичных для подвигов, биоваров и субпопуляций туляремиального микроба осуществляли на основании анализа зарубежных публикаций [2, 13, 14], а также нуклеотидных последовательностей полных геномов штаммов патогена с установленным таксономическим положением, представленных в базе данных GenBank NCBI.

В качестве ДНК-мишени для дифференциации туляремиального микроба голарктического подвида методом ПЦР представляется перспективным использование локуса *ISFtu2*, имеющего различное расположение в геноме *F. tularensis* subsp. *holarctica* и *F. tularensis* subsp. *tularensis*. Эффективность такого подхода была подтверждена ранее [5]. С этой же целью может рассматриваться ген *narH* (*FTT1670*, RD-28), который, по данным Н. LeButt [15] и

S.T. Sarva *et al.* [16] отсутствует у штаммов подвида *holarctica*. Таким образом, штаммы данного подвида, в отличие от штаммов других подвигов, не будут выявляться методом ПЦР с праймерами, комплементарными данному гену.

По данным L. Rohmer *et al.* [14] и М.М. Samrakandi *et al.* [17], для подвида *tularensis* потенциально специфичной может рассматриваться область RD-8 (*FTT1066-FTT1073* по нуклеотидной последовательности *F. tularensis* Schu S4, GenBank NCBI № NC_006570.2) размером 11,1 т.п.н., которая содержит шесть функциональных генов, два псевдогена (*FTT1066*, *FTT1075*) и фланкирована ISFtu1 и 16 нуклеотидными повторами. Проведенный нами анализ данной области *in silico* показал, что аналогичный по составу участок *FTM0877-FTM0869* (*F. tularensis* FSC147 GenBank NCBI № CP00915.1) встречается у штаммов *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*, штамма *F. tularensis* subsp. *holarctica* биоваров Ery – KCX64_05490 – KCX64_05555 (*F. tularensis* 2015321842 № CP073125), *F. tularensis* subsp. *holarctica* биовар *japonica* – JPFTKU_12440 – JPFTKU_12600 (*F. tularensis* KU-1 № AP023460), штамма *F. tularensis* subsp. *novicida* – N894_0885–N894_0896 (*F. tularensis* PA10-7858 № CP016635). В последних двух случаях область не фланкирована ISFtu1 (рис. 1).

Более детальный анализ генов, входящих в данную область, показал, что в гене *FTT1067*, кодирующем синтез рестрикционной эндонуклеазы III типа и являющемся, предположительно, нефункциональным у *F. tularensis* subsp. *tularensis* Schu S4, выявлена делеция размером 19 п.н. (рис. 1). Аналогичные делеции обнаружены у других штаммов подвида *tularensis*, представленных в базе данных GenBank NCBI, а также у штамма *F. tularensis* subsp. *holarctica* 2015321842, выделенного от человека в США в 2015 г. (GenBank NCBI № C3073125).

Полученные данные указывают на возможность сохранения у штаммов туляремиального микроба голарктического подвида японского биовара и подвида *novicida* остатков области RD-8, частично гомологичной с таковой у *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*, а также приобретения практически аналогичной структуры штаммом голарктического подвида Ery^{SR}. В последнем случае донором может выступать *F. tularensis* subsp. *tularensis*, поскольку на территории США одновременно циркулируют подвиды *tularensis* и *holarctica* с делецией 19 п.н. в области RD-8. Существующие отличия в количестве открытых рамок считывания в области RD-8 у различных подвигов и биоваров могут быть следствием циркуляции этих патогенов на различных носителях и переносчиках.

Исходя из полученных данных, ген *FTT1067* может быть использован для дифференциации штаммов туляремиального микроба подвигов *mediasiatica* и *holarctica* биовара *japonica*.

Другими вариантами, подходящими для внутривидового типирования туляремиального микро-

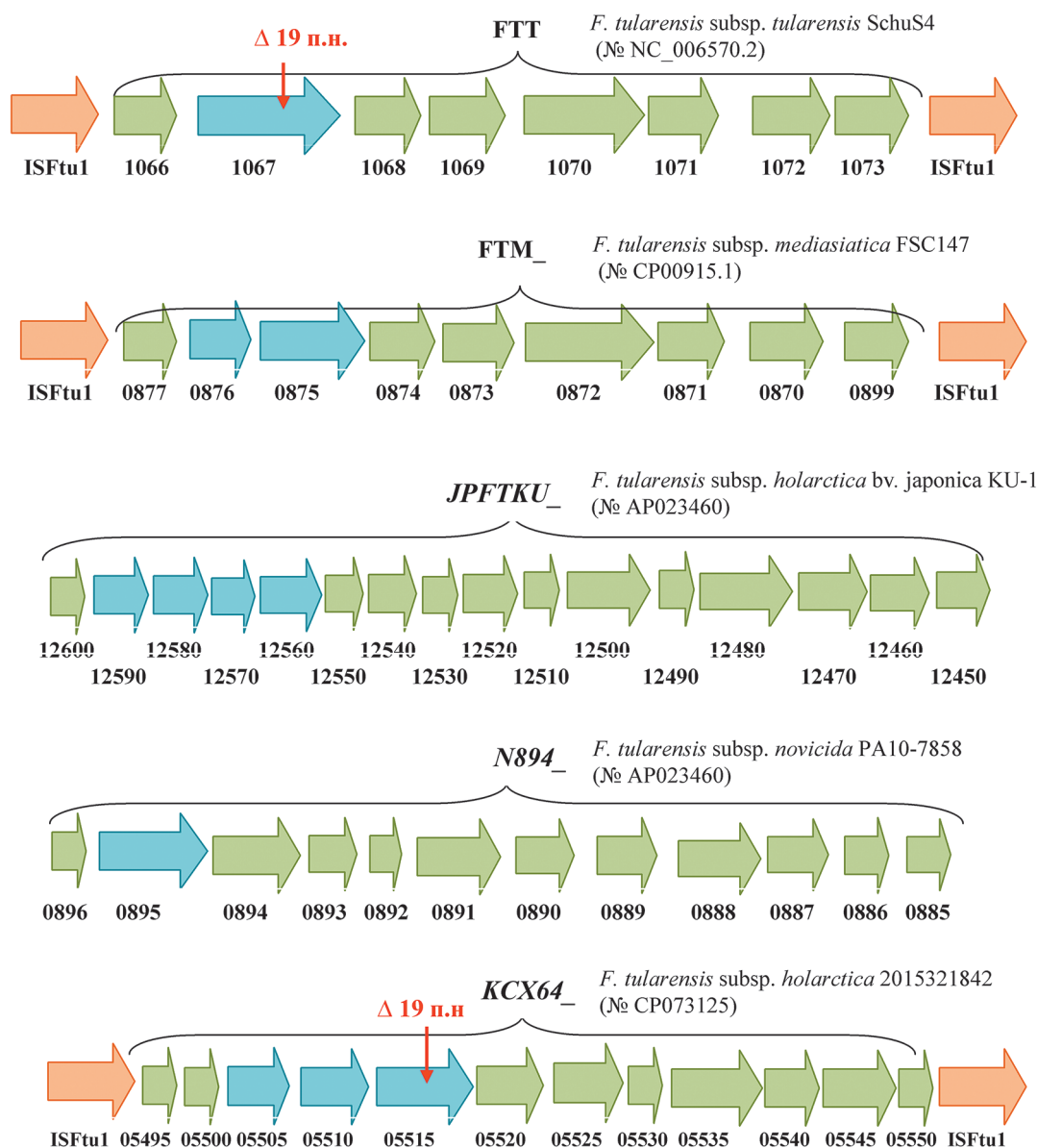


Рис. 1. Структура области дифференциации RD-8 и гомологичных ей участков у штаммов различных подвидов и биоваров: красным Δ отмечена делеция размером 19 п.н., выявленная у штаммов *F. tularensis* subsp. *tularensis* и штамма *F. tularensis* subsp. *holarctica* 2015321842 (№ CP073125); зеленым отмечены открытые рамки считывания; голубым выделен ген *FTT1067* и участки, частично ему гомологичные; оранжевым – ISFtu1

Fig. 1. Structure of the RD-8 differentiation region and its homologous regions in strains of various subspecies and biovars: red Δ marks a 19 bp deletion detected in strains of *F. tularensis* subsp. *tularensis* and strain of *F. tularensis* subsp. *holarctica* 2015321842 (No. CP073125); open reading frames are marked in green; the *FTT1067* gene and regions partially homologous to it are highlighted in blue; ISFtu1 is shown in orange

ба, могут быть гены *FTT0097*, *FTT0432*, *FTT0435*, *FTT0496*, *FTT0525*, *FTT0528*, *FTT0677c*, *FTT0754c*, *FTT0939c*, *FTT1080c*, *FTT1122c*, *FTT1598*, *FTT1666c*, *FTT1667*, *FTT1766*, *FTT1781c*, *FTT1784c*, *FTT1787c*, *FTT1789*, которые, по данным L. Rohmer *et al.* [14] и M.D. Champion *et al.* [13], не функционируют у штаммов подвидов *novicida* и *holarctica*. Среди исследованных генов особый интерес представляет *FTT 1122c*, кодирующий у штаммов подвида *tularensis* гипотетический липопроtein. Проведенный анализ показал, что фрагменты данного гена выявлены в геноме всех подвидов туляремии микроба (рис. 2).

На рис. 2 видно, что участок гена *FTT1122c* (*F. tularensis* Schu S4, GenBank NCBI № NC_006570.2) с 55-го по 198-й нуклеотид гомологичен началу гена *AW21_1735* штамма *F. tularensis* subsp. *holarctica* LVS (№ CP009694.1), *FTM1290* – *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* FSC147 (№ CP00915.1), *AW25_904* – *F. tularensis* subsp. *novicida* U-112. Участок с 199-го по 471-й нуклеотид гомологичен концевому участку гена *AW21_1736* штамма *F. tularensis* subsp. *holarctica* LVS, гену *FTM1289* *F. tularensis* subsp. *mediasiatica* FSC147. Выбранный для анализа штамм подвида *novicida* U-112 не содержал концевую часть гена *FTT1122c*, у него присутствовал фрагмент,

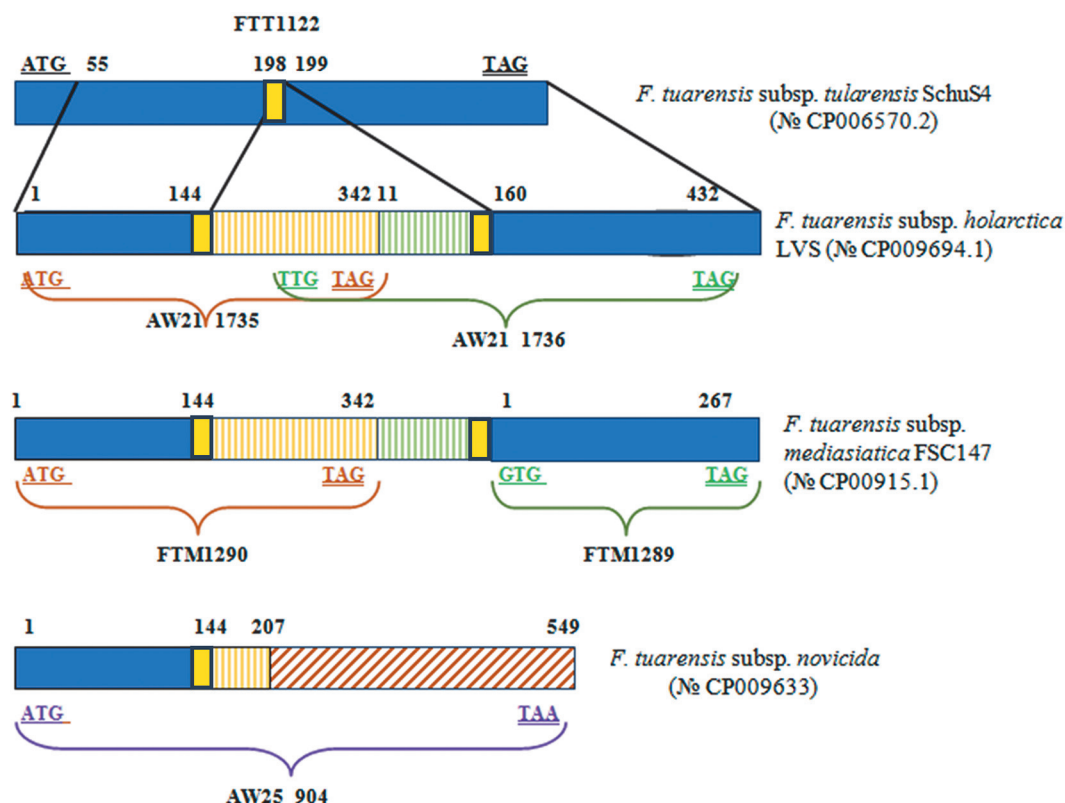


Рис. 2. Анализ гомологии локуса *FTT1122c* у штаммов различных подвидов *F. tularensis*:

старт-кодены подчеркнуты одной чертой; стоп-кодены – двумя чертами; синим отмечены участки, гомологичные гену *FTT1122c*; желтой и зеленой вертикальной штриховкой отмечены области, идентичные у подвидов *holarctica*, *mediasiatica*, *novicida*; коричневой косой штриховкой отмечен уникальный участок для *F. tularensis* subsp. *novicida*; области, отмеченные желтой и зеленой вертикальной штриховкой, составляют область дифференциации, обозначенную как RD_{hm}; желтым прямоугольником обозначены прямые повторы

Fig. 2. Analysis of the homology of the *FTT1122c* locus in strains of various subspecies of *F. tularensis*:

start codons are underlined with one line; stop codons – with two lines; blue marks the regions homologous to the *FTT1122c* gene; yellow and green vertical lines mark areas that identical in subspecies *holarctica*, *mediasiatica*, *novicida*; brown hatching outlines a unique for *F. tularensis* subsp. *novicida* site; the areas colored with yellow and green vertical lines make up the differentiation region designated as RD_{hm}; direct repeats are marked with yellow rectangle

идентичный локусу гена с 144-го по 207-й нуклеотид, характерный для подвидов *holarctica* и *mediasiatica*. Последовательность гена *AW25_904* штамма *F. tularensis novicida* U-112, негомологичная гену *FTT1122c* *F. tularensis* Schu S4, значительно отличалась от аналогичных генов всех других подвидов. Участок, отсутствующий в гене *FTT1122c*, но выявляющийся у подвидов *holarctica* и *mediasiatica*, фланкирован прямыми 10-нуклеотидными повторами TGTGGAGGAT. Такая структура указывает на принадлежность данного участка генома к области дифференциации RD. Эту область размером 346 п.н. мы обозначили RD_{hm}.

У штаммов подвидов *tularensis* и *novicida* отсутствует один из повторов, однако в первом случае утрата повтора могла произойти в результате делетирования RD, во втором случае – в результате встраивания высокоспецифичного для *novicida* участка. Возможность генетических перестроек в этой области обусловлена располагающейся рядом с указанными генами транспозазой. Полученные данные в полной мере подтверждают, что локус *FTT1122c* и продукт, который он кодирует, интактен только у штаммов подвида *tularensis*. У остальных подвидов, несмотря на наличие схожих участков, будут экспрессировать-

ся совершенно другие белки. Проведенный анализ выявил структурные особенности гена *FTT1122c* у туляремиального микроба подвида *novicida*, которые позволяют использовать его в качестве ДНК мишени, специфичной для этого подвида.

Панее С.Р. Molins-Schneekloth *et al.* [2] выявили отличия по составу областей дифференциации RD у субпопуляций *F. tularensis* subsp. *tularensis* AI и AII и рекомендовали использовать для их дифференциации области RD-3, RD-6, RD-10. Мы для этих целей остановили свой выбор на гене *FTW_2084*, содержащем RD-12 размером 179 п.н. и кодирующем хитиназу. Эта область, по данным этих авторов, встречается только у *F. tularensis* subsp. *tularensis* AII и *F. tularensis* subsp. *novicida*. Для выбора перспективного участка мы проанализировали участки, гомологичные локусу *FTW_2084* у штаммов других подвидов, представленных в базе данных GenBank NCBI (рис. 3).

Установлено, что в состав этого гена входят VNTR-повторы – FT-M20, определенные ранее A. Johansson *et al.* [18]. Более того, у штаммов *F. tularensis tularensis* AII имеется вставка нуклеотида G в позиции 575, что приводит к образованию стоп-кодона TGA и нарушению продукции у дан-

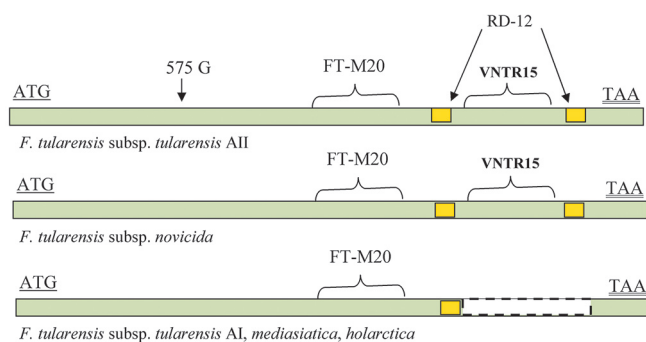


Рис. 3. Структура локуса *FTW_2084* и гомологичных ему областей у штаммов туляремии микроба различных биоваров:

прямые повторы, фланкирующие область дифференциации, выделены желтым; пунктиром обозначена делеция RD-12 области, содержащей VNTR15, у штаммов *F. tularensis* subsp. *tularensis* AI, *mediasiatica*, *holarctica*; старт-кодон подчеркнут одной чертой; стоп-кодон – двумя чертами

Fig. 3. Structure of the *FTW_2084* locus and its homologous regions in strains of tularemia microbe of various biovars:

direct repeats flanking the region of differentiation are highlighted in yellow; the dotted line shows the deletion of the RD-12 region containing VNTR15 in strains of *F. tularensis* subsp. *tularensis* AI, *mediasiatica*, *holarctica*; start codon is underlined with one line; stop codon – with two lines

ной группы патогена белка с функцией хитиназы. Отсутствие функциональной активности этого гена была ранее показана J.C. Chanler *et al.* [19]. Нами обнаружено, как и ожидалось, что у штаммов *F. tularensis tularensis* AII и *F. tularensis novicida* имеется область дифференциации RD-12, фланкированная прямыми 20-нуклеотидными повторами GCTCAATGGTGGACACAAGG, однако ее размер отличается у разных штаммов.

Детальное изучение области дифференциации RD-12 у штаммов туляремии микроба, последовательности которых депонированы в базе данных GenBank NCBI, и референс-штаммов, подобранных нами ранее для каждого подвида возбудителя [20] из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб», показало наличие в данной области VNTR-повторов размером 15 п.н. GGTA(A/T/C) AATGACCAA (VNTR15). Наличие разного числа таких повторов и определило разницу в размере области RD-12 у исследованных штаммов: от 178 п.н. (2 повтора) до 238 п.н. (6 повторов).

Полученные результаты не в полной мере соответствуют данным A. Johansson *et al.* [18], которые показали, что у штаммов *F. tularensis* subsp. *tularensis* AII – 22–25 повторов FT-M20, а *F. tularensis* subsp. *novicida* – 31–39 повторов. В ходе проведенного нами анализа области RD-12 у штаммов этих групп обнаружено, что количество повторов FT-M20 составляет 4–7 и 5–15 для штаммов *F. tularensis* subsp. *tularensis* AII и *F. tularensis* subsp. *novicida* соответственно. Различия в размере амплифицируемого фрагмента гена с использованием предложенных авторами праймеров определяются не только количеством этих повторов, но и числом выявленных нами VNTR15 (2–6) в области RD-12. Эти данные не умаляют дискриминирующие воз-

можности локуса *FTW_2084*, однако включение в анализ VNTR15 повышает адекватность и достоверность результатов исследования.

Интересно, что область дифференциации с аналогичными tandemными повторами в гене хитиназы I обнаружена также у штаммов *F. hispaniense* и *F. opportunistica*. В первом случае мотив VNTR15 отсутствует, но есть своеобразный участок ATTAATAATGACCAAGGTAAT (по нуклеотидной последовательности *F. hispaniense* FSC454, GenBank NCBI № CP018093.1). У *F. opportunistica* в одном из фланкирующих повторов наблюдается замена A2415G (по нуклеотидной последовательности штамма PA05-1188, GenBank NCBI № CP022377.1), имеются четыре типичных VNTR15 и один несовершенный повтор CAAAACAATGACCAA, а также делеция TGA после 2252-го нуклеотида. Представляет интерес дальнейшее изучение функциональной активности гена хитиназы I, выявленного у еще двух видов францисселл, вызывающих заболевание у человека.

Установленная структура локуса *FTW_2084* в полной мере подтвердила перспективность его использования для дифференцирования *F. tularensis* subsp. *tularensis* AI и AII и *F. tularensis* subsp. *novicida*.

Подбор специфичных праймеров и зондов для мультилокусной амплификации выбранных локусов и оптимизация условий реакции. На основании нуклеотидной последовательности выбранных генов и локусов подобраны олигонуклеотидные праймеры и зонды формата TaqMan. Для возможности осуществления мультилокусной ПЦР в состав зондов введены различные флуоресцентные метки (табл. 1). Для дифференцирования голарктического подвида дополнительно подобрали праймеры и зонд на специфичную для данного подвида область, содержащую ISFtu2: F: 5'-TTCACCATAATTAGGTTCTG-3', R: 5'-GCTTCATCATTTGGTATGTAT-3', P: 5'-R6G-TTCATTTGCTAAACCATTTGA-BHQ1-3'. Для оптимизации условий амплификации использовали подобранную ранее панель штаммов *F. tularensis* различных подвигов: *holarctica* биовары Ery^S – KM-3, Ery^R – KM-8, *japonica* – KM-5; *mediasiatica* – KM-4; *tularensis* AII – KM-6; *tularensis* AI – KM-7 [20].

При проведении монолокусных реакций во всех случаях наблюдалось специфичное свечение по соответствующим каналам: FAM (*FTT1122*), JOE (*FTT1670*), ROX (*FTT1067*), RED (*FTW_2084*). При амплификации ISFtu2 накопление флуоресценции было слабым, смесь соответствующих праймеров и зонда плохо хранилась при температуре 6–8 °C, поэтому в дальнейшей работе их не использовали.

В ходе ряда экспериментов определены оптимальные условия реакции: праймеры и зонды в концентрации 8 пМоль и 4 пМоль соответственно; ионы Mg²⁺ – 2,5 мМоль; дНТФ – 0,2 мМоль; фермент Taq-ДНК-полимеразы с «горячим стартом» – 5 ед. Программа амплификации включала предварительную денатурацию при температуре 95 °C в течение

Таблица 1 / Table 1

Нуклеотидная последовательность олигонуклеотидов, подобранных в данной работе для внутривидовой дифференциации туляремии микроба, и амплификация ДНК-мишеней с их участием у штаммов различных групп

Nucleotide sequence of oligonucleotides selected in this work for intraspecific differentiation of tularemia microbe, and amplification of target DNA with their involvement in strains of various groups

Локус Locus	Нуклеотидная последовательность праймеров и зондов, 5'-3' Nucleotide sequence of primers and probes, 5'-3'	Наличие амплификации* The presence of amplification*					
		FTT AI	FTT AII	FTM	FTH Ery	FTH jap	FTN
<i>FTT1122</i>	F: ATGCTGCTAAAGCACATGGA R: GCGCAGAGTCTCTACCTGAA P: FAM-CCGCTTCCGTCAGCAGCAAA-RTQ1						
<i>FTT1670</i>	F: ATCCAAGCAATACCTTTAGT R: TCACTAATGCTTGTGGTACT P: R6G-TCCAGCGTATCATATGCTAA- BHQ1						
<i>FTT1067</i>	F: AGCAAATTCTAATTCTCTATCTAA R: GGCTATATAATTGATGATGTCT P: ROX-TCATCACCCAATCTAATGAACCTACC-BHQ2						**
<i>FTW_2084</i>	F: CAATGACCAAGGTAATAATG R: ATACAGTTTGAGGATTCCAT P: Cy5-ACCAAAGTGGTGATAATTCTTC-BHQ2						

Примечание: * FTT – *F. tularensis* subsp. *tularensis*, FTM – *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*, FTH Ery – *F. tularensis* subsp. *holarctica* bv. Ery^{SR}, FTH jap – *F. tularensis* subsp. *holarctica* bv. *japonica*, FTN – *F. tularensis* subsp. *novicida*; ** по данным *in silico* в редких случаях возможна амплификация *FTT1067* локуса у штаммов *F. tularensis* subsp. *novicida*.

Note: * FTT – *F. tularensis* subsp. *tularensis*, FTM – *F. tularensis* subsp. *mediasiatica*, FTH Ery – *F. tularensis* subsp. *holarctica* bv. Ery^{SR}, FTH jap – *F. tularensis* subsp. *holarctica* bv. *japonica*, FTN – *F. tularensis* subsp. *novicida*; ** according to *in silico* data, in rare cases, amplification of the *FTT1067* locus in strains of *F. tularensis* subsp. *novicida* is possible.

5 мин; 10 циклов 95 °C – 10 с, 59 °C – 30 с, 72 °C – 20 с; 35 циклов 95 °C – 10 с, 56 °C – 30 с (учет флуоресценции), 72 °C – 20 с. Программа была адаптирована для приборов RotorGene Q и CFX96. В случае использования термоциклера RotorGene Q для красителей Green и Orange границы значений по усилению сигнала 5 и 10, Yellow и Red – 15 и 20.

При использовании амплификатора RotorGene Q показатели для учета результатов составили: устранение выбросов – 5 %; Threshold/Порог по всем каналам – 0,05; коррекция уклона – используется. Для прибора CFX96 определение пороговой линии осуществляется в автоматическом режиме. Граничное значение Ct при использовании обоих видов термоциклеров составило 26.

Проведение реакции в мультилокусном формате в соответствии с подобранными условиями в полной мере обеспечивало внутривидовую дифференциацию взятых для исследования референсных для каждого подвида штаммов туляремии микроба: subsp. *tularensis* AI – *FTT1122c*+, *FTT1670*+, *FTT1067*-, *FTW_2084*-; subsp. *tularensis* AII – *FTT1122c*+, *FTT1670*+, *FTT1067*-, *FTW_2084*±; subsp. *mediasiatica* – *FTT1122c*+, *FTT1670*+, *FTT1067*+, *FTW_2084*-; subsp. *holarctica* биовары Ery^{SR} – *FTT1122c*+, *FTT1670*-, *FTT1067*-, *FTW_2084*-; subsp. *holarctica* биовар *japonica* – *FTT1122c*+, *FTT1670*-, *FTT1067*+, *FTW_2084*-; subsp. *novicida* – *FTT1122c*-, *FTT1670*+, *FTT1067*±, *FTW_2084*±.

Таким образом, нами была разработана мультилокусная ПЦР «*F. tularensis* 4с», позволяющая на основании амплификации четырех локусов *FTT1670*, *FTT1122c*, *FTT1067*, *FTW_2084* с учетом результатов

в режиме реального времени определять все подвиды туляремии микроба, биовар *japonica* голарктического подвида, субпопуляции AI, AII подвида *tularensis*.

Чувствительность и специфичность разработанной мультилокусной ПЦР «*F. tularensis* 4с». Для определения чувствительности и специфичности предложенного подхода исследовали 48 штаммов возбудителя туляремии различных подвидов, биоваров и субпопуляций. Для штаммов предварительно была определена подвидовая принадлежность на основании анализа вариабельности RD-1 области методом ПЦР с электрофоретической детекцией и гена *sdhA* методом фрагментного секвенирования по Сэнгеру. Первый методический подход рекомендован ВОЗ для внутривидовой дифференциации штаммов возбудителя туляремии [5]. Во втором случае использовали прием, апробированный нами ранее [20] при подборе референсных штаммов, который основан на выявлении полиморфных нуклеотидов в гене *sdhA*, кодирующем синтез сукцинатдегидрогеназы и имеющем отличия у представителей рода *Francisella* [21, 22].

При использовании разработанной мультилокусной ПЦР «*F. tularensis* 4с» и референсных подходов для исследования указанных штаммов, вне зависимости от сроков и места выделения, во всех случаях отмечено совпадение результатов определения принадлежности к подвидам, биовару *japonica* голарктического подвида и субпопуляциям AI, AII подвида *tularensis* (табл. 2). Полученные результаты указывают на высокую специфичность предложенной мультилокусной ПЦР.

Таблица 2 / Table 2

Результаты определения специфичности разработанной мультилокусной ПЦР «*F. tularensis* 4с»Results of determination of the specificity of the developed multilocus PCR “*F. tularensis* 4с”

Подвиды <i>F. tularensis</i> , n – количество штаммов Subspecies of <i>F. tularensis</i> , n – number of strains	Наименование штаммов Strain	Определение подвидовой принадлежности с использованием подходов Determination of subspecies using approaches			Результаты идентификации Results of identification
		Анализ RD-1 (ВОЗ) RD-1 analysis (WHO)	Мультилокусная ПЦР Multilocus PCR “ <i>F. tularensis</i> -4с”	Анализ гена <i>sdhA</i> Analysis of <i>sdhA</i> gene	
subsp. <i>tularensis</i> AI n=3	KM-7 (O-328) Nevada № 14 O-402	<i>tularensis</i>	<i>tularensis</i> AI	<i>tularensis</i> AI	<i>tularensis</i> AI
subsp. <i>tularensis</i> AI n=4	KM-6 (E-261), O/284, B-399 A.Coli, O-419	<i>tularensis</i>	<i>tularensis</i> AII	<i>holarctica</i> Ery ^{S/R}	<i>tularensis</i> AII
subsp. <i>mediasiatica</i> n=3	KM-4 (A-61(117)), A-142(112), A-148(120)	<i>mediasiatica</i>	<i>mediasiatica</i>	<i>mediasiatica</i>	<i>mediasiatica</i>
subsp. <i>holarctica</i> biovar Ery ^R n=19	KM-8 (M-498), 9, 84, 7, 359, 480, 219 “hare”, M-69, M-101, M-104, M-157, A-108, A-259, A-264, C-226, C-304, C-103, C-104, C-107	<i>holarctica</i> Ery ^{S/R}	<i>holarctica</i> Ery ^{S/R}	<i>holarctica</i> Ery ^{S/R}	<i>holarctica</i> Ery ^{S/R}
subsp. <i>holarctica</i> biovar Ery ^S n=13	KM-3 (21-JI), 6984, 7000, K-910, B 25/12, B-300, M-184, M-80, M-81, И-328, И-346, И-337, И-339	<i>holarctica</i> Ery ^{S/R}	<i>holarctica</i> Ery ^{S/R}	<i>holarctica</i> Ery ^{S/R}	<i>holarctica</i> Ery ^{S/R}
subsp. <i>holarctica</i> biovar japonica n=4	KM-5 (Kosho) Ichijo Miura Yasoe	<i>holarctica</i> japonica	<i>holarctica</i> japonica	<i>holarctica</i> japonica	<i>holarctica</i> japonica
subsp. <i>novicida</i> n=2	U-112 Like F6168	н/и n/i	<i>novicida</i>	<i>novicida</i>	<i>novicida</i>

Примечание: н/и – не идентифицируется.

Note: n/i – not identified.

Чувствительность разработанной системы «*F. tularensis* 4с» составила $1 \cdot 10^5$ м.к./мл. При такой концентрации во всех случаях вне зависимости от внутривидовой принадлежности патогена наблюдалось образование флуоресцентных сигналов по соответствующим каналам. Продолжительность исследования составила 2,5–3,0 ч в зависимости от количества проб.

Таким образом, на основании проведенного анализа получены новые данные о структуре и встречаемости областей дифференциации RD-8, RD-12, RD-28, гена *FTT122c* и гомологичных ему последовательностей у штаммов туляремии микроба различных подвидов, биоваров и субпопуляций. Выявлена новая RD_{hm} размером 346 п.н., характерная для штаммов патогена subsp. *mediasiatica*, *holarctica*, которая делетирована у subsp. *tularensis* и отсутствует у subsp. *novicida*. Полученные результаты позволили подобрать локусы, перспективные для использования при внутривидовой дифференциации возбудителя туляремии методом ПЦР: *FTT1670*, *FTT122c*, *FTT1067*, *FTW_2084*, – и разработать на их основе мультилокусную ПЦР «*F. tularensis* 4с», обеспечи-

вающую определение всех подвидов туляремии микроба: *tularensis*, *mediasiatica*, *holarctica*, *novicida*, отдельно биовара japonica голарктического подвида и субпопуляции AI, AII подвида *tularensis*. При исследовании штаммов туляремии микроба различного происхождения из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» подтверждена высокая специфичность предложенной мультилокусной ПЦР.

Выявленные различия в структуре области дифференциации RD-12 в гене *chiA*, кодирующем синтез хитиназы, определяются наличием разного количества VNTR-повторов размером 15 п.н. Включение таких повторов в последовательность может быть обусловлено необходимостью персистенции возбудителя в объектах окружающей среды, поскольку наибольшее количество VNTR15 выявлено у штаммов *F. tularensis* subsp. *novicida*, циркулирующих в природных биотопах. Возможно, такая структура гена *chiA* играет важную роль в преодолении защитных систем человека другими франциселлами – *F. hispaniensis* и *F. opportunistica*, которые со-

держат в этом гене аналогичные полные и неполные VNTR15.

Предполагаемое делитирование у *F. tularensis* subsp. *tularensis* области дифференциации RD_{hm} привело к образованию локуса *FTT1122*, отвечающего за синтез липопротеина, тогда как у штаммов патогена subsp. *mediasiatica*, *holarctica* гомологичная область, содержащая RD_{hm}, представлена двумя генами, продукты которых имеют совершенно другие свойства. Такие генетические перестройки могут быть связаны с персистенцией подвидов туляремии микроба на различных территориях, носителях и переносчиках.

Проведенные исследования расширяют и дополняют сведения о внутривидовой генетической неоднородности туляремии микроба, что имеет большое значение в понимании процессов приспособления возбудителя к циркуляции в макроорганизме и объектах окружающей среды, направлений эволюции и образования новых видов франциселл.

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

Список литературы

1. List of Procarotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). [Электронный ресурс]. URL: <http://www.bacterio.net/francisella.html> (дата обращения 15.01.2023).
2. Molins-Schneekloth C.R., Belisle J.T., Petersen J.M. Genomic markers for differentiation of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* AI and AII strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008; 74(1):336–41. DOI: 10.1128/AEM.01522-07.
3. Gunnell M.K., Lovelace C.D., Satterfield B.A., Moore E.A., O'Neill K.L., Robison R.A. A multiplex real-time PCR assay for the detection and differentiation of *Francisella tularensis* subspecies. *J. Med. Microbiol.* 2012; 61(Pt. 1):1525–31. DOI: 10.1099/jmm.0.046631-0.
4. Tomaso H., Scholz H.C., Neubauer H., Al Dahouk S., Seibold E., Landt O., Forsman M., Spletstoeser W.D. Real-time PCR using hybridization probes for the rapid and specific identification of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis*. *Mol. Cell. Probes.* 2007; 21(1):12–6. DOI: 10.1016/j.mcp.2006.06.001.
5. WHO. Guidelines on Tularemia. WHO Press; 2007. 115 p.
6. Woubit A., Yehualaeshet T., Habtemariam T., Samuel T. Novel genomic tools for specific and real-time detection of biothreat and frequently encountered food-borne pathogens. *J. Food Prot.* 2012; 75(4):660–70. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-11-480.
7. Broekhuijsen M., Larsson P., Johansson A., Byström M., Eriksson U., Larsson E., Prior R.G., Sjöstedt A., Titball R.W., Forsman M. Genome-wide DNA microarray analysis of *Francisella tularensis* strains demonstrates extensive genetic conservation within the species but identifies regions that are unique to the highly virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(7):2924–31. DOI: 10.1128/JCM.41.7.2924-2931.2003.
8. Осина Н.А., Мошкова М.С., Уткин Д.В., Ляшова О.Ю., Куличенко А.Н. Идентификация подвидов туляремии микроба методом мультиплексной полимеразной цепной реакции. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2007; 1:92–3.
9. Вахрамеева Г.М., Лапин А.А., Павлов В.М., Мокриевич А.Н., Миронова Р.И., Дятлов И.А. ПЦР-дифференциация подвидов *Francisella tularensis* с помощью одного праймера. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2011; 1:46–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-46-48.
10. Larson M.A., Sayood K., Bartling A.M., Meyer J.R., Starr C., Baldwin J., Dempsey M.P. Differentiation of *Francisella tularensis* subspecies and subtypes. *J. Clin. Microbiol.* 2020. 58(4):e01495-19. DOI: 10.1128/JCM.01495-19.
11. Birdsell D.N., Vogler A.J., Buchhagen J., Clare A., Kaufman E., Naumann A., Driebe E., Wagner D.M., Keim P.S. TagMan real-time PCR assays for single-nucleotide polymorphisms which identify *Francisella tularensis* and its subspecies and subpopulations. *PLoS One.* 2014; 9(9):e107964. DOI: 10.1371/journal.pone.0107964.
12. Сорокин В.М., Водопьянов А.С., Цимбалистова М.В., Павлович Н.В. Дифференциация подвидов *Francisella tularensis* методом INDEL-типирования. *Журнал микробиологии, эпидемио-*

- логии и иммунологии.* 2022; 99(2):193–202. DOI: 10.36233/0372-9311-189.
13. Champion M.D., Zeng Q., Nix E.B., Nano F.E., Keim P., Kodira C.D., Borowsky M., Young S., Koehrsen M., Engels R., Pearson M., Howarth C., Larson L., White J., Alvarado L., Forsman M., Bearden S.W., Sjöstedt A., Titball R., Michell S.L., Birren B., Galagan J. Comparative genomic characterization of *Francisella tularensis* strains belonging to low and high virulence subspecies. *PLoS Pathog.* 2009; 5(5):e1000459. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000459.
 14. Rohmer L., Fong C., Abmayr S., Wasnick M., Larson Freeman T.J., Radey M., Guina T., Svensson K., Hayden H.S., Jacobs M., Gallagher L.A., Manoil C., Ernst R.K., Drees B., Buckley D., Haugen E., Bovee D., Zhou Y., Chang J., Levy R., Lim R., Gillett W., Guentherer D., Kang A., Shaffer S.A., Taylor G., Chen J., Gallis B., D'Argenio D.A., Forsman M., Olson M.V., Goodlett D.R., Kaul R., Miller S.I., Brittner M.J. Comparison of *Francisella tularensis* genomes reveals evolutionary events associated with the emergence of human pathogenic strains. *Genome Biol.* 2007; 8(6):R102. DOI: 10.1186/gb-2007-8-6-r102.
 15. LeButt H. The Construction and Use of a *Francisella tularensis* DNA Microarray. PhD thesis The Open University. 2008. DOI: 10.21954/ou.ro.0000f2d6f.
 16. Sarva S.T., Waldo R.H., Belland R.J., Klose K.E. Comparative transcriptional analyses of *Francisella tularensis* and *Francisella novicida*. *PLoS One.* 2016; 11(8):e0158631. DOI: 10.1371/journal.pone.0158631.
 17. Samrakandi M.M., Zhang C., Zhang M., Niefeldt J., Kim J., Iwen P.C., Olson M.E., Fey P.D., Duhamel G.E., Hinrichs S.H., Cirillo J.D., Benson A.K. Genome diversity among regional populations of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis* and *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* isolated from the US. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004; 237(1):9–17. DOI: 10.1016/j.femsle.2004.06.008.
 18. Johansson A., Farlow J., Larsson P., Dukerich M., Chambers E., Byström M., Fox J., Chu M., Forsman M., Sjöstedt A., Keim P. Worldwide genetic relationships among *Francisella tularensis* isolates determined by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. *J. Bacteriol.* 2004; 186(17):5808–18. DOI: 10.1128/JB.186.17.5808–5818.2004.
 19. Chandler J.C., Molins C.R., Petersen J.M., Belisle J.T. Differential chitinase activity and production within *Francisella* species, subspecies, and subpopulations. *J. Bacteriol.* 2011; 193(13):3265–75. DOI: 10.1128/JB.00093-11.
 20. Осина Н.А., Уткин Д.В., Сеничкина А.М., Бугоркова Т.В., Кутырев В.В. Набор штаммов бактерий вида *Francisella tularensis* для получения комплекта контрольных ДНК препаратов, комплект ДНК препаратов для генно-диагностических исследований. Патент РФ № 2443772, опубл. 27.02.2012. Бюл. № 6.
 21. Barns S.M., Grow C.C., Okinaka R.T., Keim P., Kuske C.R. Detection of diverse new *Francisella*-like bacteria in environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005; 71(9):5494–500. DOI: 10.1128/AEM.71.9.5494-5500.2005.
 22. Berrada Z.L., Telford S.R. Diversity of *Francisella* species in environmental samples from Martha's Vineyard, Massachusetts. *Microb. Ecol.* 2010; 59(2):277–83. DOI: 10.1007/s00248-009-9568-y.

References

1. List of Procarotic names with Standing in Nomenclature (LPSN). (Cited 15 Jan 2023). [Internet]. Available from: <http://www.bacterio.net/francisella.html>
2. Molins-Schneekloth C.R., Belisle J.T., Petersen J.M. Genomic markers for differentiation of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* AI and AII strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008; 74(1):336–41. DOI: 10.1128/AEM.01522-07.
3. Gunnell M.K., Lovelace C.D., Satterfield B.A., Moore E.A., O'Neill K.L., Robison R.A. A multiplex real-time PCR assay for the detection and differentiation of *Francisella tularensis* subspecies. *J. Med. Microbiol.* 2012; 61(Pt. 1):1525–31. DOI: 10.1099/jmm.0.046631-0.
4. Tomaso H., Scholz H.C., Neubauer H., Al Dahouk S., Seibold E., Landt O., Forsman M., Spletstoeser W.D. Real-time PCR using hybridization probes for the rapid and specific identification of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis*. *Mol. Cell. Probes.* 2007; 21(1):12–6. DOI: 10.1016/j.mcp.2006.06.001.
5. WHO. Guidelines on Tularemia. WHO Press; 2007. 115 p.
6. Woubit A., Yehualaeshet T., Habtemariam T., Samuel T. Novel genomic tools for specific and real-time detection of biothreat and frequently encountered food-borne pathogens. *J. Food Prot.* 2012; 75(4):660–70. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-11-480.
7. Broekhuijsen M., Larsson P., Johansson A., Byström M., Eriksson U., Larsson E., Prior R.G., Sjöstedt A., Titball R.W., Forsman M. Genome-wide DNA microarray analysis of *Francisella tularensis* strains demonstrates extensive genetic conservation within the species but identifies regions that are unique to the highly virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(7):2924–31. DOI: 10.1128/JCM.41.7.2924-2931.2003.

8. Osina N.A., Moshkova M.S., Utkin D.V., Lyashova O.Yu., Kulichenko A.N. [Identification of subspecies of the tularemia microbe by multiplex polymerase chain reaction]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2007; (1):92–3.
9. Vakhrameeva G.M., Lapin A.A., Pavlov V.M., Mokrievich A.N., Mironova R.I., Dyatlov I.A. [PCR differentiation of *Francisella tularensis* subspecies using one primer]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2011; 1(107):46–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-46-48.
10. Larson M.A., Sayood K., Bartling A.M., Meyer J.R., Starr C., Baldwin J., Dempsey M.P. Differentiation of *Francisella tularensis* subspecies and subtypes. *J. Clin. Microbiol.* 2020. 58(4):e01495-19. DOI: 10.1128/JCM.01495-19.
11. Birdsell D.N., Vogler A.J., Buchhagen J., Clare A., Kaufman E., Naumann A., Driebe E., Wagner D.M., Keim P.S. TaqMan real-time PCR assays for single-nucleotide polymorphisms which identify *Francisella tularensis* and its subspecies and subpopulations. *PLoS One.* 2014; 9(9):e107964. DOI: 10.1371/journal.pone.0107964.
12. Sorokin V.M., Vodop'yanov A.S., Tsimbalistova M.V., Pavlovich N.V. [Differentiation of *Francisella tularensis* subspecies using INDEL typing]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology]. 2022; 99(2):193–202. DOI: 10.36233/0372-9311-189.
13. Champion M.D., Zeng Q., Nix E.B., Nano F.E., Keim P., Kodira C.D., Borowsky M., Young S., Koehrsen M., Engels R., Pearson M., Howarth C., Larson L., White J., Alvarado L., Forsman M., Bearden S.W., Sjöstedt A., Titball R., Michell S.L., Birren B., Galagan J. Comparative genomic characterization of *Francisella tularensis* strains belonging to low and high virulence subspecies. *PLoS Pathog.* 2009; 5(5):e1000459. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000459.
14. Rohmer L., Fong C., Abmayr S., Wasnick M., Larson Freeman T.J., Radey M., Guina T., Svensson K., Hayden H.S., Jacobs M., Gallagher L.A., Manoil C., Ernst R.K., Drees B., Buckley D., Haugen E., Bovee D., Zhou Y., Chang J., Levy R., Lim R., Gillett W., Guentherer D., Kang A., Shaffer S.A., Taylor G., Chen J., Gallis B., D'Argenio D.A., Forsman M., Olson M.V., Goodlett D.R., Kaul R., Miller S.I., Brittner M.J. Comparison of *Francisella tularensis* genomes reveals evolutionary events associated with the emergence of human pathogenic strains. *Genome Biol.* 2007; 8(6):R102. DOI: 10.1186/gb-2007-8-6-r102.
15. LeButt H. The Construction and Use of a *Francisella tularensis* DNA Microarray. PhD thesis The Open University. 2008. DOI: 10.21954/ou.ro.0000fd6f.
16. Sarva S.T., Waldo R.H., Belland R.J., Klose K.E. Comparative transcriptional analyses of *Francisella tularensis* and *Francisella novicida*. *PLoS One.* 2016; 11(8):e0158631. DOI: 10.1371/journal.pone.0158631.
17. Samrakandi M.M., Zhang C., Zhang M., Nietfeldt J., Kim J., Iwen P.C., Olson M.E., Fey P.D., Duhamel G.E., Hinrichs S.H., Cirillo J.D., Benson A.K. Genome diversity among regional populations of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis* and *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* isolated from the US. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004; 237(1):9–17. DOI: 10.1016/j.femsle.2004.06.008.
18. Johansson A., Farlow J., Larsson P., Dukerich M., Chambers E., Byström M., Fox J., Chu M., Forsman M., Sjöstedt A., Keim P. Worldwide genetic relationships among *Francisella tularensis* isolates determined by multiple-locus variable-number tandem repeat analysis. *J. Bacteriol.* 2004; 186(17):5808–18. DOI: 10.1128/JB.186.17.5808–5818.2004.
19. Chandler J.C., Molins C.R., Petersen J.M., Belisle J.T. Differential chitinase activity and production within *Francisella* species, subspecies, and subpopulations. *J. Bacteriol.* 2011; 193(13):3265–75. DOI: 10.1128/JB.00093-11.
20. Osina N.A., Utkin D.V., Senichkina A.M., Bugorkova T.V., Kuttyrev V.V. [A panel of bacterial strains of the species *Francisella tularensis* for obtaining a set of control DNA preparations, a set of DNA preparations for genetic diagnostic studies]. RF patent No. 2443772, publ. 02/27/2012. Bull. No. 6.
21. Barns S.M., Grow C.C., Okinaka R.T., Keim P., Kuske C.R. Detection of diverse new *Francisella*-like bacteria in environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005; 71(9):5494–500. DOI: 10.1128/AEM.71.9.5494-5500.2005.
22. Berrada Z.L., Telford S.R. Diversity of *Francisella* species in environmental samples from Martha's Vineyard, Massachusetts. *Microb. Ecol.* 2010; 59(2):277–83. DOI: 10.1007/s00248-009-9568-y.

Authors:

Osina N.A., Sitmbetov D.A., Bulgakova E.G., Chekmareva S.S., Sazanova E.V., Senichkina A.M., Lyashova O.Yu., Osina A.V., Shcherbakova S.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Осина Н.А., Ситмбетов Д.А., Булгакова Е.Г., Чекмарева С.С., Сазанова Е.В., Сеничкина А.М., Ляшова О.Ю., Осина А.В., Щербакова С.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-142-147

УДК 579.881.13

Ю.А. Панферова¹, Н.К. Токаревич¹, О.В. Блинова¹, А.А. Нафеев², Э.И. Сibaева²**Типирование некультивируемых изолятов *Coxiella burnetii* и *Coxiella*-подобных микроорганизмов, ассоциированных с клещами, с применением анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК**

¹ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ²ФГБУ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области», Ульяновск, Российская Федерация

Возбудитель Ку-лихорадки – внутриклеточный патоген *Coxiella burnetii* – распространен практически по всему миру; в его циркуляции участвует множество видов кровососущих клещей, опасных для животных и человека. С помощью молекулярно-генетических методов обнаружены близкородственные виды микроорганизмов рода *Coxiella* sp., ряд которых является эндосимбионтами клещей, а некоторые могут выживать в организме человека, вызывая инфекционный процесс. Существование видов, гены которых по нуклеотидной последовательности сходны с генами *C. burnetii*, затрудняет генодиагностику патогена у членистоногих переносчиков. **Цель** данной работы – изучение возможности применения ПЦР для молекулярной диагностики и секвенирования протяженного фрагмента гена 16S рРНК для дифференциации *C. burnetii* от *Coxiella*-подобных микроорганизмов. **Материалы и методы.** Индивидуальные пробы кровососущих клещей исследовали для обнаружения бактерий рода *Coxiella* sp. с помощью стандартной ПЦР. Для положительных образцов получали протяженные фрагменты гена 16S рРНК и исследовали его с помощью секвенирования и множественного выравнивания с гомологичными последовательностями. **Результаты и обсуждение.** Из 96 исследованных клещей, собранных на территории Ульяновской области, один был положителен на присутствие ДНК *C. burnetii* и один – на присутствие ДНК *Coxiella* sp. Для изолята *C. burnetii* наибольшее сходство выявлено с западноевропейскими штаммами, для *Coxiella*-подобного микроорганизма – с близкородственными бактериями из клещей того же вида. Отмечены уникальные полиморфизмы для обнаруженных микроорганизмов. Установлено, что родоспецифичные праймеры к фрагменту гена 16S рРНК способны амплифицировать не только бактерии рода *Coxiella* sp., но и генетически дистанцированные виды. Анализ последовательности протяженного фрагмента гена 16S рРНК позволяет дифференцировать *C. burnetii* от *Coxiella*-подобных микроорганизмов; некоторые полиморфизмы гена, по-видимому, возникли в процессе микроэволюции в различных географических регионах. В европейской части Российской Федерации *Coxiella*-подобные бактерии обнаружены впервые.

Ключевые слова: *Coxiella burnetii*, *Coxiella*-подобные микроорганизмы, кровососущие клещи, ПЦР, ген 16S рРНК, полиморфизмы.

Корреспондирующий автор: Токаревич Николай Константинович, e-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Для цитирования: Панферова Ю.А., Токаревич Н.К., Блинова О.В., Нафеев А.А., Сibaева Э.И. Типирование некультивируемых изолятов *Coxiella burnetii* и *Coxiella*-подобных микроорганизмов, ассоциированных с клещами, с применением анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 1:142–147. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-142-147

Поступила 06.08.2022. Принята к публ. 29.12.2022.

Yu.A. Panferova¹, N.K. Tokarevich¹, O.V. Blinova¹, A.A. Nafeev², E.I. Sibava²**Typing of Uncultured Isolates of *Coxiella burnetii* and *Coxiella*-Like Microorganisms Associated with Ticks Using 16S rRNA Gene Nucleotide Sequence Analysis**

¹Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation;

²Center of Hygiene and Epidemiology in the Ulyanovsk Region, Ulyanovsk, Russian Federation

Abstract. The causative agent of Q fever, the intracellular pathogen *Coxiella burnetii*, is found almost worldwide; many types of blood-sucking ticks that are dangerous to animals and humans are involved in the circulation of the pathogen. Using molecular-genetic methods, closely related species of microorganisms of the genus *Coxiella* sp. have been discovered, some of which are endo-symbionts of ticks, and some can survive in the human body, causing an infectious process. The existence of species whose genes are similar in nucleotide sequence to those of *C. burnetii* makes it difficult to diagnose the pathogen in arthropod vectors. The aim of this work was to consider the use of PCR and sequencing of an extended 16S rRNA gene fragment for molecular diagnostics and differentiation of *C. burnetii* from *Coxiella*-like microorganisms. **Materials and methods.** Individual samples of blood-sucking ticks were examined to detect bacteria of the genus *Coxiella* sp. applying standard PCR. For positive samples, an extended fragment of the 16S rRNA gene was obtained and examined by sequencing and multiple alignment with homologous sequences. **Results and discussion.** Of the 96 examined ticks collected in the Ulyanovsk Region, one was positive for the presence of *C. burnetii* DNA and one – for the presence of *Coxiella* sp. The greatest similarity for the *C. burnetii* isolate was noted in comparison with Western European strains, for the *Coxiella*-like microorganism - with closely related bacteria from ticks of the same species. Unique polymorphisms for the detected microorganisms were identified. It has been established that genus-specific primers to the 16S rRNA gene fragment are able to amplify not only bacteria of the genus *Coxiella* sp., but also genetically distant species. Analysis of the sequence of the extended 16S rRNA gene fragment makes it possible to differentiate *C. burnetii* from *Coxiella*-like microorganisms; some gene polymorphisms appear to have arisen through microevolution

in different geographic regions. In the European part of the Russian Federation, *Coxiella*-like bacteria have been uncovered for the first time.

Key words: *Coxiella burnetii*, *Coxiella*-like microorganisms, blood-sucking ticks, PCR, *16S* rRNA gene, polymorphisms.

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

Corresponding author: Nikolay K. Tokarevich, e-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Citation: Panferova Yu.A., Tokarevich N.K., Blinova O.V., Nafeev A.A., Sibaeva E.I. Typing of Uncultured Isolates of *Coxiella burnetii* and *Coxiella*-Like Microorganisms Associated with Ticks Using *16S* rRNA Gene Nucleotide Sequence Analysis. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 1:142–147. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-142-147

Received 06.08.2022. Accepted 29.12.2022.

Panferova Yu.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5211-5086>
Tokarevich N.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6433-3486>

Nafeev A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3113-6018>

Coxiella burnetii – возбудитель Ку-лихорадки у человека и коксиеллеза у животных. Это внутриклеточный патоген, относящийся к генетически обособленному роду, входящему в класс гамма-протеобактерий, порядок *Legionellales*, семейство *Coxiellaceae* и род *Coxiella*. Многие виды теплокровных и членистоногих хозяев участвуют в циркуляции бактерии в очагах инфекции по всему миру. Среди них иксодовые клещи, представленные в умеренной зоне Северного полушария видами родов *Ixodes* sp., *Dermacentor* sp., *Rhipicephalus* sp., *Hyalomma* sp. и некоторыми другими [1]. В начале 2000-х гг. применение методов молекулярной биологии, основанных на анализе последовательности гена *16S* рРНК и ряда других генов, позволило впервые обнаружить микроорганизмы, генетически дистанцированные от вида *C. burnetii*, но принадлежащие к тому же роду [2, 3]. Эти исследования легли в основу совершенно нового подхода к систематике *C. burnetii*: теперь бактерия рассматривалась не как представитель монофилетического вида, а как один из близкородственных организмов рода *Coxiella* sp.; степень патогенности некоторых «новых» видов-кандидатов внутри этого рода для теплокровных животных до сих пор плохо изучена. В последнее десятилетие во многих регионах, в том числе в Северной Евразии, *Coxiella*-подобные организмы обнаруживаются у клещей разных таксономических групп, и если часть из них являются истинными эндосимбионтами клещей, неспособными заражать животных и человека, то ряд других могут быть патогенными [4, 5].

Идентификация «новых» видов-кандидатов рода *Coxiella* sp. значительно усложнила молекулярную диагностику *C. burnetii* в членистоногих переносчиках, поскольку многие из ранее предложенных методов ПЦР и используемых генетических маркеров не были строго видоспецифичными при амплификации ДНК этих близкородственных видов [6]. Разработан ряд протоколов для подтверждения видовой принадлежности обнаруженного микроорганизма методом секвенирования генов «домашнего хозяйства» [7], однако позже установлено, что этим способом также можно обнаруживать генетически отдаленные микроорганизмы, ассоциированные с клещами [8]. Тем не менее анализ нуклеотидной последовательности полного или протяженного (включая несколько вариабельных регионов) гена *16S* рРНК позволяет

дифференцировать не только *C. burnetii* от *Coxiella*-подобных бактерий, но и штаммы коксиелл различного географического происхождения [9, 10]. Таким образом, секвенирование фрагментов гена *16S* рРНК, вероятно, может служить достаточно надежным маркером для дифференциации некультивируемых изолятов рода *Coxiella* sp., принадлежащих к разным видам.

Цель исследования – молекулярный скрининг и анализ последовательности протяженного фрагмента гена *16S* рРНК для дифференциации *C. burnetii* и *Coxiella*-подобных бактерий, ассоциированных с клещами, собранными на территории европейской части Российской Федерации, и их сравнение с нуклеотидными последовательностями *Coxiella* sp. различного географического происхождения, доступными в международной базе данных NCBI.

Материалы и методы

Кровососущих клещей собирали на флаг стандартным методом в лесных и лесолуговых местобитаниях Ульяновской области и помещали в индивидуальные пробирки. Вид клеща определяли по его морфологическим признакам [11].

После определения вида клещей дважды промыли в 75 % этаноле, затем стерильной водой, высушивали при комнатной температуре, индивидуально гомогенизировали в стерильном фосфатно-солевом буфере (300 мкл), выделяли ДНК с помощью набора Diatom DNA prep 100 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Выявление микроорганизмов рода *Coxiella* sp. с помощью стандартной ПЦР проводили с праймерами Cox1 F: GGACTGAGACACGGCCCCAGAC, Cox1 R: CTGCTGGCACAGAGTTAGCCAG.

Для проведения реакции брали 5 мкл элюированной ДНК-матрицы, по 0,5 мкМ каждого праймера, деионизированную воду и 5-кратный мастермикс Screen PCR mix HotStart (ЗАО «Евроген», Россия) в конечном объеме 25 мкл. В качестве положительного и отрицательного контроля использовали ДНК штамма Henzerling *C. burnetii* и деионизированную воду соответственно. Режим термоциклирования был следующим: первичная денатурация – 5 мин при температуре 94 °C; 40 циклов денатурация – 30 с при 94 °C, отжиг – 30 с при 60 °C, элонгация – 60 с

при 72 °С. Амплификацию проводили в термоциклере Veriti (Thermo Scientific, США).

Продукты ПЦР электрофоретически разделяли в 2 % агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, в 1хТАЕ-буфере в течение 30 мин при 120 В. Визуализацию проводили с помощью УФ-трансиллюминатора, в сравнении с маркером молекулярной массы 100–1000 п.н. (ЗАО «Евроген», Россия).

Для всех положительных образцов протяженный (1450 п.н.) фрагмент гена *16S* рПНК амплифицировали по методу T. Masuzawa *et al.* [12] со следующими модификациями: 5 мкл элюированной ДНК-матрицы, 0,5 мкМ каждого праймера, деионизированную воду и 5-кратный мастермик Screen PCR mix HotStart (ЗАО «Евроген», Россия) вносили в реакционную смесь в конечном объеме 25 мкл. Режим термоциклирования был следующим: первичная денатурация – 5 мин при 94 °С; 40 циклов денатурация – 30 с при 94 °С, отжиг – 40 с при 52 °С, элонгация – 120 с при 72 °С, финальная элонгация – 5 мин при 72 °С.

Продукты ПЦР электрофоретически разделяли в 2 % агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, в 1хТАЕ-буфере в течение 50 мин при 120 В. Визуализацию проводили с помощью УФ-трансиллюминатора. Ампликоны очищали с помощью набора PCR Clean Up (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Секвенирование с прямого и обратного праймеров проводили с помощью BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Scientific, США) согласно рекомендациям производителя с использованием генетического анализатора MegaBase1000 (Amersham, США).

Полученные последовательности выравнивали с помощью онлайн-сервиса BLAST по алгоритму megablast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, датасет от 10.03.2021), а также с помощью программы Ugene 1.31 с использованием алгоритма MUSCLE (с представителями рода *Coxiella* sp., отобранными из базы данных NCBI GenBank) [13].

Полную последовательность гена *16S* рПНК штамма Henzerling *C. burnetii* (референс-номер NCBI: CP014559.1) использовали для сравнения и расчета положений сайтов полиморфизмов.

Полученные последовательности депонированы в базу данных нуклеотидов NCBI (MZ047981, MZ048012).

Результаты и обсуждение

Исследовано 96 иксовых клещей, относящихся к видам *Ixodes persulcatus*, *Dermacentor marginatus*, *D. reticulatus*. По данным анализа *in silico*, длина продукта ПЦР варьирует в пределах 203–207 п.н. для микроорганизмов рода *Coxiella* sp. с использованием праймеров Cox1 F – Cox1 R (blast.ncbi.nlm.nih.gov, алгоритм blastn). С помощью ПЦР с этими родоспе-

цифичными праймерами получено пять положительных образцов, для которых проведена ПЦР с целью выявления протяженной нуклеотидной последовательности гена *16S* рПНК. Полученные ампликоны секвенировали в двух направлениях и проводили анализ гомологии с ранее опубликованными последовательностями штаммов и изолятов *C. burnetii* и *Coxiella*-подобных микроорганизмов.

При анализе нуклеотидных последовательностей установлено, что один из исследованных образцов содержал ДНК *C. burnetii*, а другой – ДНК *Coxiella*-подобного микроорганизма. В трех образцах обнаружена ДНК генетически отдаленных микроорганизмов: *Pseudomonas* sp. в двух пробах, *Stenotrophomonas* sp. в одном образце. И *Coxiella burnetii*, и *Coxiella* sp. обнаружены у клещей вида *D. marginatus*.

Для положительного на наличие *C. burnetii* образца гомология по гену *16S* рПНК при сравнении с другими штаммами составила 99,16–99,83 %, а максимальная степень сходства отмечена с западноевропейскими штаммами (Henzerling и Heizberg, происходящими из Италии и Греции соответственно). Выявлены специфические SNP (однонуклеотидные полиморфизмы) по сравнению с азиатским (Schperling) и североамериканским (Nine Mile I 493) штаммами, но общие для выявленного и западноевропейского (референс-штамм – Henzerling RSA 331) штаммов: 638C>T. Обнаружены уникальные полиморфизмы SNP, характерные для изолята из Ульяновской области (по сравнению со штаммами Henzerling, Nine Mile I, Schperling): 974A>G, 996A>G. В связи с этим можно предположить, что некоторые полиморфизмы в последовательности гена *16S* рПНК могут возникать спонтанно в ходе микроэволюции в разных географических регионах (рис. 1).

Степень сходства последовательности у *Coxiella*-подобного микроорганизма с *C. burnetii* по протяженной последовательности гена *16S* рПНК составила менее 96 %. При проведении анализа последовательностей генов других *Coxiella*-подобных бактерий, ассоциированных с клещами, этот образец кластеризовался с бактериями, обнаруженными в клещах *D. marginatus* в Западной Европе (гомология последовательностей – 99,33 %).

При анализе нуклеотидных последовательностей методом множественного выравнивания обнаружены полиморфизмы, характерные либо для видов-кандидатов *Coxiella*-подобных микроорганизмов, ассоциированных с конкретным видом клещей, либо уникальные SNP для изолята, обнаруженного в Ульяновской области. В целом группа *Coxiella*-подобных микроорганизмов, выделенных из *D. marginatus*, кластеризовалась с изолятами из других видов клещей, отнесенных к роду *Dermacentor*: *D. silvarium*, *D. everestianus* (гомология нуклеотидной последовательности гена *16S* рПНК – 98,23–98,99 %). Между тем существуют уникаль-

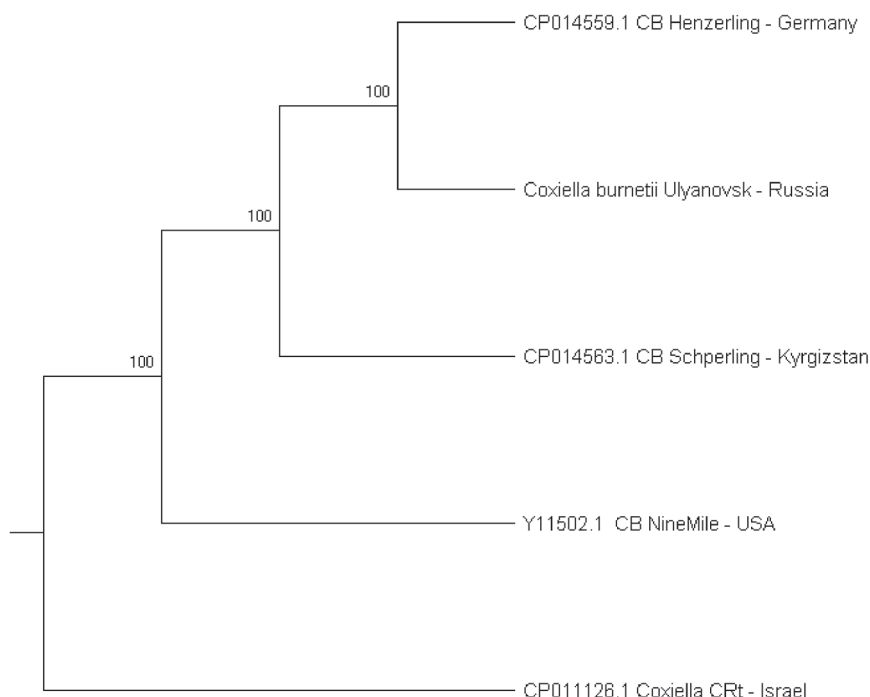


Рис. 1. Дендрограмма генетического родства штаммов и изолятов *C. burnetii*:

CB – *Coxiella burnetii*; CRt – *Coxiella*-подобный микроорганизм из клещей *Rhipicephalus turanicus*

Fig. 1. Dendrogram of genetic affinity of the strains and isolates of *C. burnetii*:

CB – *Coxiella burnetii*; CRt – *Coxiella*-like microorganism from *Rhipicephalus turanicus* ticks

ные SNP, характерные для выявленного изолята, отличающие его от других, ассоциированных с *D. marginatus*: 627G>A, 896G>C, 1033G>T, 1128G>T, 1178G>C. Общим признаком последовательности гена изолятов, ассоциированных с *D. marginatus*, были SNP 48A>G, 236G>A, 925G>A. Следующими по степени сходства были изоляты вида-кандидата *C. mudrowiae* из клещей *Rhipicephalus* sp. (штамм CRt, 95,71 %). Степень гомологии последовательности гена *16S* рРНК выявленных бактерий со штаммами *C. burnetii* составила 94,78–95,62 % (рис. 2).

В настоящее время пересматривается номенклатура в пределах рода *Coxiella* sp., а также в целом в пределах семейства *Coxiellaceae*. Описаны новые виды и роды [14–17]; собраны данные о *Coxiella*-подобных микроорганизмах, ассоциированных с клещами, в ряде случаев это истинные эндосимбионты, которые не могут выживать в клетках теплокровных организмов, что, напротив, характерно для патогенного вида *C. burnetii* [9, 15].

Анализ нуклеотидной последовательности фрагментов гена *16S* рРНК и генов «домашнего хозяйства» в настоящее время является основным методом исследования таксономии некультивируемых и трудно культивируемых *Coxiella*-подобных микроорганизмов, ассоциированных с клещами, и их дифференциации от истинного патогена *C. burnetii*. В то же время существует несколько клад, объединяющих виды-кандидаты с разной степенью сходства [18].

Для стандартной ПЦР-амплификации ДНК микроорганизмов рода *Coxiella* sp. не разработано высокоспецифичного метода. Как и в нашем случае с использованием стандартной ПЦР с оригинальными праймерами, предложенные методы, основанные на гнездовой ПЦР, позволяют выявлять близкородствен-

ные бактерии в клещах [8]. Используемая нами методика с применением родоспецифичных праймеров *Cox1* – *Cox2* также требует подтверждения результатов ПЦР секвенированием, так как специфичность праймеров не составляет 100 %. В то же время секвенирование протяженного фрагмента гена *16S* рРНК позволяет с высокой степенью дискриминации определять видовую специфичность некультивируемого изолята, выявленного при молекулярном скрининге. Помимо идентификации изолята как вида или вида-кандидата, метод позволяет идентифицировать некоторые уникальные полиморфизмы, которые, по-видимому, связаны не только с видом бактерий, но и с географическим происхождением изолята.

В настоящее время без дополнительных исследований трудно установить, являются ли бактерии *Coxiella* sp., ассоциированные с клещами *Dermacentor* sp., истинными эндосимбионтами или патогенами теплокровных животных. Однако можно утверждать, что они существуют как виды-кандидаты, генетически дистанцированные от *C. burnetii*. Так, на основании молекулярного скрининга и анализа нуклеотидных последовательностей гена *16S* рРНК изучены некультивируемые изоляты, родственные *C. burnetii* и *Coxiella* sp. *Coxiella*-подобные микроорганизмы впервые обнаружены на территории европейской части России; ранее подобные микроорганизмы находили только на территории Дальнего Востока [2, 19]. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что при определении таксономического положения на основе сравнения нуклеотидных последовательностей гена *16S* рРНК следует учитывать процент гомологии гена и соотношение полиморфизмов в группе близкородственных бактерий.

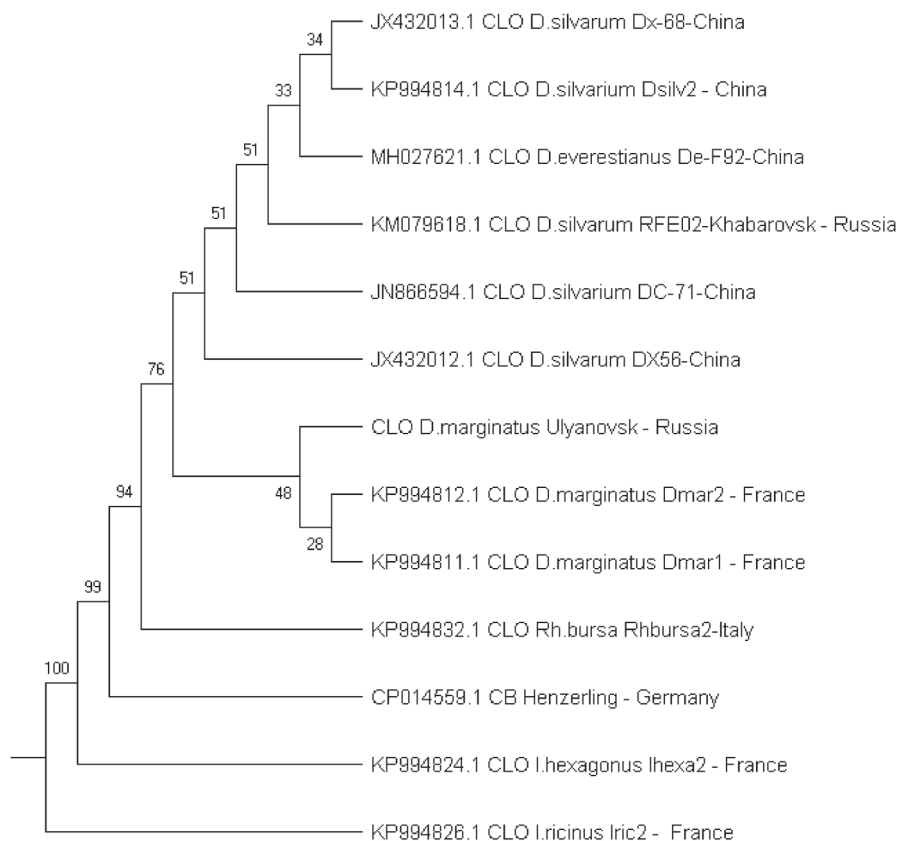


Рис. 2. Дендрограмма генетического родства штаммов и изолятов *Coxiella*-подобных микроорганизмов:

CB – *Coxiella burnetii*; CLO – *Coxiella*-подобный микроорганизм

Fig. 2. Dendrogram of genetic affinity of the strains and isolates of *Coxiella*-like microorganisms:

CB – *Coxiella burnetii*; CLO – *Coxiella*-like microorganism

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

Список литературы

- Spitalska E., Kocianova E. Tick-borne microorganisms in southwestern Slovakia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2003; 990:196–200. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07362.x.
- Mediannikov O., Ivanov L., Nishikawa M., Saito R., Sidelnikov Y.N., Zdanovskaya N.I., Tarasevich I.V., Suzuki H. Molecular evidence of *Coxiella*-like microorganism harbored by *Haemaphysalis concinna* ticks in the Russian Far East. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2003; 990:226–8. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07367.x.
- Lee J.H., Park H.S., Jang W.J., Koh S.E., Park T.K., Kang S.S., Kim B.J., Kook Y.H., Park K.H., Lee S.H. Identification of the *Coxiella* sp. detected from *Haemaphysalis longicornis* ticks in Korea. *Microbiol. Immunol.* 2004; 48(2):125–30. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2004.tb03498.x.
- Zhong J. *Coxiella*-like endosymbionts. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 984:365–79. DOI: 10.1007/978-94-007-4315-1_18.
- Guimard T., Amrane S., Prudent E., El Karkouri K., Raoult D., Angelakis E. Case report: Scalp eschar and neck lymphadenopathy associated with bacteremia due to *Coxiella*-like bacteria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2017; 97(5):1319–22. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0251.
- Duron O. The *IS1111* insertion sequence used for detection of *Coxiella burnetii* is widespread in *Coxiella*-like endosymbionts of ticks. *FEMS Microbiol. Lett.* 2015; 362(17):fnnv132. DOI: 10.1093/femsle/fnnv132.
- Duron O., Jourdain E., McCoy K.D. Diversity and global distribution of the *Coxiella* intracellular bacterium in seabird ticks. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014; 5(5):557–63. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2014.04.003.
- Špitalská E., Sparagano O., Stanko M., Schwarzová K., Špitalský Z., Škultéty L., Havlíková S.F. Diversity of *Coxiella*-like and *Francisella*-like endosymbionts, and *Rickettsia* spp., *Coxiella burnetii* as pathogens in the tick populations of Slovakia, Central Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018; 9(5):1207–11. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.05.002.
- Machado-Ferreira E., Vizzoni V.F., Balsemão-Pires E., Moerbeck L., Gazeta G.S., Piesman J., Voloch C.M., Soares C.A. *Coxiella* symbionts are widespread into hard ticks. *Parasitol. Res.* 2016; 115(12):4691–9. DOI: 10.1007/s00436-016-5230-z.
- McLaughlin H.P., Cherney B., Hakovirta J.R., Priestley R.A., Conley A., Carter A., Hodge D., Pillai S.P., Weigel L.M., Kersh G.J., Sue D. Phylogenetic inference of *Coxiella burnetii* by 16S rRNA gene sequencing. *PLoS One.* 2017; 12(12):e0189910. DOI: 10.1371/journal.pone.0189910.
- Филиппова Н.А. Иксодовые клещи подсемейства Ixodinae. Фауна СССР. Паукообразные. Т. 4. Вып. 4. Л.: Наука; 1977. 396 с.
- Masuzawa T., Sawaki K., Nagaoka H., Akiyama M., Hirai K., Yanagihara Y. Identification of rickettsiae isolated in Japan as *Coxiella burnetii* by 16S rRNA sequencing. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1997; 47(3):883–4. DOI: 10.1099/00207713-47-3-883.
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012; 28(8):1166–7. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091.
- Leclercq A., Kleespies R.G. 16S rRNA-, *GroEL*- and *MucZ*-based assessment of the taxonomic position of '*Rickettsiella melolonthae*' and its implications for the organization of the genus *Rickettsiella*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2008; 58(Pt. 4):749–55. DOI: 10.1099/ijs.0.65359-0.
- Gottlieb Y., Lázár I., Klasson L. Distinctive genome reduction rates revealed by genomic analyses of two *Coxiella*-like endosymbionts in ticks. *Genome Biol. Evol.* 2015; 7(6):1779–96. DOI: 10.1093/gbe/evv108.
- Mehari Y.T., Jason Hayes B., Redding K.S., Mariappan P.V.G., Gunderson J.H., Farone A.L., Farone M.B. Description of '*Candidatus Berkiella aquae*' and '*Candidatus Berkiella cookevillensis*', two intranuclear bacteria of freshwater amoebae. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2016; 66(2):536–41. DOI: 10.1099/ijsem.0.000750.
- Bojko J., Dunn A.M., Stebbing P.D., van Aerle R., Bacela-Spychalska K., Bean T.P., Urrutia A., Stentiford G.D. '*Candidatus Aquirickettsiella gammari*' (Gammaproteobacteria: Legionellales: Coxiellaceae): A bacterial pathogen of the freshwater crustacean *Gammarus fossarum* (Malacostraca: Amphipoda). *J. Invertebr. Pathol.* 2018; 156:41–53. DOI: 10.1016/j.jip.2018.07.010.
- Papa A., Tsioka K., Kontana A., Papadopoulos C., Giadinis N. Bacterial pathogens and endosymbionts in ticks. *Ticks Tick Borne Dis.* 2017; 8(1):31–5. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2016.09.011.
- Лубова В.А., Леонова Г.Н., Шутикова А.Л., Бондаренко Е.И. Индикация возбудителя Ку-лихорадки на юге Дальнего Востока. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2020; 65(11):724–8. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-724-728.

References

1. Spitalska E., Kocianova E. Tick-borne microorganisms in southwestern Slovakia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2003; 990:196–200. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07362.x.
2. Mediannikov O., Ivanov L., Nishikawa M., Saito R., Sidelnikov Y.N., Zdanovskaya N.I., Tarasevich I.V., Suzuki H. Molecular evidence of *Coxiella*-like microorganism harbored by *Haemaphysalis concinna* ticks in the Russian Far East. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2003; 990:226–8. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2003.tb07367.x.
3. Lee J.H., Park H.S., Jang W.J., Koh S.E., Park T.K., Kang S.S., Kim B.J., Kook Y.H., Park K.H., Lee S.H. Identification of the *Coxiella* sp. detected from *Haemaphysalis longicornis* ticks in Korea. *Microbiol. Immunol.* 2004; 48(2):125–30. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2004.tb03498.x.
4. Zhong J. *Coxiella*-like endosymbionts. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 984:365–79. DOI: 10.1007/978-94-007-4315-1_18.
5. Guimard T., Amrane S., Prudent E., El Karkouri K., Raoult D., Angelakis E. Case report: Scalp eschar and neck lymphadenopathy associated with bacteremia due to *Coxiella*-like bacteria. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2017; 97(5):1319–22. DOI: 10.4269/ajtmh.17-0251.
6. Duron O. The *IS1111* insertion sequence used for detection of *Coxiella burnetii* is widespread in *Coxiella*-like endosymbionts of ticks. *FEMS Microbiol. Lett.* 2015; 362(17):fnv132. DOI: 10.1093/femsle/fnv132.
7. Duron O., Jourdain E., McCoy K.D. Diversity and global distribution of the *Coxiella* intracellular bacterium in seabird ticks. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014; 5(5):557–63. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2014.04.003.
8. Špitalská E., Sparagano O., Stanko M., Schwarzová K., Špitalský Z., Skultěty L., Havlíková S.F. Diversity of *Coxiella*-like and *Francisella*-like endosymbionts, and *Rickettsia* spp., *Coxiella burnetii* as pathogens in the tick populations of Slovakia, Central Europe. *Ticks Tick Borne Dis.* 2018; 9(5):1207–11. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2018.05.002.
9. Machado-Ferreira E., Vizzoni V.F., Balsemão-Pires E., Moerbeck L., Gazeta G.S., Piesman J., Voloch C.M., Soares C.A. *Coxiella* symbionts are widespread into hard ticks. *Parasitol. Res.* 2016; 115(12):4691–9. DOI: 10.1007/s00436-016-5230-z.
10. McLaughlin H.P., Cherney B., Hakovirta J.R., Priestley R.A., Conley A., Carter A., Hodge D., Pillai S.P., Weigel L.M., Kersh G.J., Sue D. Phylogenetic inference of *Coxiella burnetii* by 16S rRNA gene sequencing. *PLoS One.* 2017; 12(12):e0189910. DOI: 10.1371/journal.pone.0189910.
11. Filippova N.A. [Ixodid Ticks of the Subfamily Ixodinae. Fauna of the USSR. Arachnids]. Vol. 4. Issue 4. Leningrad: “Science”; 1977. 396 p.
12. Masuzawa T., Sawaki K., Nagaoka H., Akiyama M., Hirai K., Yanagihara Y. Identification of rickettsiae isolated in Japan as *Coxiella burnetii* by 16S rRNA sequencing. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1997; 47(3):883–4. DOI: 10.1099/00207713-47-3-883.
13. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012; 28(8):1166–7. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091.
14. Leclercq A., Kleespies R.G. 16S rRNA-, *GroEL*- and *MucZ*-based assessment of the taxonomic position of ‘*Rickettsiella melolonthae*’ and its implications for the organization of the genus *Rickettsiella*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2008; 58(Pt. 4):749–55. DOI: 10.1099/ijs.0.65359-0.
15. Gottlieb Y., Lalzar I., Klasson L. Distinctive genome reduction rates revealed by genomic analyses of two *Coxiella*-like endosymbionts in ticks. *Genome Biol. Evol.* 2015; 7(6):1779–96. DOI: 10.1093/gbe/evv108.
16. Mehari Y.T., Jason Hayes B., Redding K.S., Mariappan P.V.G., Gunderson J.H., Farone A.L., Farone M.B. Description of ‘*Candidatus Berkiella aquae*’ and ‘*Candidatus Berkiella cookevillensis*’, two intranuclear bacteria of freshwater amoebae. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2016; 66(2):536–41. DOI: 10.1099/ijsem.0.000750.
17. Bojko J., Dunn A.M., Stebbing P.D., van Aerle R., Bacela-Spychalska K., Bean T.P., Urrutia A., Stentiford G.D. ‘*Candidatus Aquirickettsiella gammari*’ (Gammaproteobacteria: Legionellales: Coxiellaceae): A bacterial pathogen of the freshwater crustacean *Gammarus fossarum* (Malacostraca: Amphipoda). *J. Invertebr. Pathol.* 2018; 156:41–53. DOI: 10.1016/j.jip.2018.07.010.
18. Papa A., Tsioka K., Kontana A., Papadopoulos C., Giadinis N. Bacterial pathogens and endosymbionts in ticks. *Ticks Tick Borne Dis.* 2017; 8(1):31–5. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2016.09.011.
19. Lubova V.A., Leonova G.N., Shutikova A.L., Bondarenko E.I. [Indication of the causative agent of Q fever in the south of the Far East]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Biagnostics]*. 2020; 65(11):724–8. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-724-728.

Authors:

Панферова Ю.А., Токаревич Н.К., Блинова О.В. Pasteur St. Petersburg Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 14, Mira St., Saint Petersburg, 197101, Russian Federation. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru
Нафеев А.А., Сибеева Э.И. Center of Hygiene and Epidemiology in the Ulyanovsk Region. 5, Pushkareva St., Ulyanovsk, 432049, Russian Federation.

Об авторах:

Панферова Ю.А., Токаревич Н.К., Блинова О.В. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru
Нафеев А.А., Сибеева Э.И. Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области. Российская Федерация, 432049, Ульяновск, ул. Пушкирева, 5.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-148-156

УДК 616.98:579.842.23(470+574)

А.М. Сеничкина¹, И.Н. Шарова¹, Ш.В. Магеррамов¹, К.С. Захаров¹, А.А. Кузнецов¹, В.Н. Чекашов¹,
А.М. Поршаков¹, М.Г. Корнеев¹, М.В. Проскурякова¹, Ю.В. Кислицын², А.И. Беляев², И.Б. Ким²,
Л.Б. Нурмагамбетова³, И.Г. Козулина³, А.А. Башмаков³, А.А. Башмакова³, А.А. Ковалевская⁴,
Р.И. Адилов⁴, М.П. Григорьев⁴, Е.В. Куклев¹, А.К. Гражданов¹

Результаты совместного эпизоотологического обследования трансграничных с Российской Федерацией природных очагов чумы и потенциально очаговых территорий Республики Казахстан в 2019–2022 гг.

¹ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;
²Филиал «Талдыкорганская противочумная станция» ННЦООИ, Талдыкорган, Республика Казахстан; ³Филиал «Атырауская противочумная станция» ННЦООИ, Атырау, Республика Казахстан; ⁴ФКУЗ «Астраханская противочумная станция», Астрахань, Российская Федерация

Важным аспектом в обеспечении эпидемиологического благополучия по особо опасным инфекционным болезням на территории природных очагов чумы и потенциально очаговых территорий, находящихся в границах Российской Федерации и Республики Казахстан, является объединение усилий стран при осуществлении эпизоотологического надзора и контроля за чумой и другими опасными природно-очаговыми инфекционными болезнями. **Цель работы** – проведение совместного эпизоотологического обследования трансграничных территорий Волго-Уральского песчаного природного очага чумы и потенциально очаговой по чуме территории Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан за период 2019–2022 гг. **Материалы и методы.** Исследованы образцы полевого материала, полученные в ходе эпизоотологического обследования территорий Республики Казахстан в 2019–2022 гг., с применением бактериологического, молекулярно-генетического и иммуно-серологических методов. **Результаты и обсуждение.** Получены современные данные о пространственно-биоценотической структуре трансграничных территорий Восточного и Западного Казахстана, циркуляции на этих территориях возбудителей опасных природно-очаговых инфекционных болезней. Установлено, что на территории трансграничных очагов Республики Казахстан существуют условия, способствующие возможности возникновения заболеваний людей чумой и другими опасными инфекционными болезнями при обострении эпизоотической обстановки в очагах или заносе возбудителей на их территорию.

Ключевые слова: эпизоотологический мониторинг, чума, природно-очаговые инфекционные болезни.

Корреспондирующий автор: Сеничкина Айспу Мухаматовна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Сеничкина А.М., Шарова И.Н., Магеррамов Ш.В., Захаров К.С., Кузнецов А.А., Чекашов В.Н., Поршаков А.М., Корнеев М.Г., Проскурякова М.В., Кислицын Ю.В., Беляев А.И., Ким И.Б., Нурмагамбетова Л.Б., Козулина И.Г., Башмаков А.А., Башмакова А.А., Ковалевская А.А., Адилов Р.И., Григорьев М.П., Куклев Е.В., Гражданов А.К. Результаты совместного эпизоотологического обследования трансграничных с Российской Федерацией природных очагов чумы и потенциально очаговых территорий Республики Казахстан в 2019–2022 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2023; 1:148–156. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-148-156

Поступила 03.03.2023. Принята к публ. 20.03.2023.

A.M. Senichkina¹, I.N. Sharova¹, Sh.V. Magerramov¹, K.S. Zakharov¹, A.A. Kuznetsov¹,
V.N. Chekashov¹, A.M. Porshakov¹, M.G. Korneev¹, M.V. Proskuryakova¹, Yu.V. Kislitsyn²,
A.I. Belyaev², I.B. Kim², L.B. Nurmagambetova³, I.G. Kozulina³, A.A. Bashmakov³,
A.A. Bashmakova³, A.A. Kovalevskaya⁴, R.I. Adilov⁴, M.P. Grigor'ev⁴, E.V. Kuklev¹,
A.K. Grazhdanov¹

Results of a Joint Epizootiological Survey of Transboundary Natural Plague Foci of the Russian Federation and Potentially Focal Territories of the Republic of Kazakhstan in 2019–2022

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

²Taldykorgan Plague Control Station, Affiliated Branch of the National Scientific Center of Particularly Dangerous Infections (NSCPDI), Taldykorgan, Kazakhstan;

³Atyrau Plague Control Station, Affiliated Branch of the NSCPDI, Atyrau, Kazakhstan;

⁴Astrakhan Plague Control Station, Astrakhan, Russian Federation

Abstract. Consolidation of the efforts in implementation of epidemiological surveillance and control over plague and other dangerous natural-focal infections is an essential aspect in ensuring epidemiological well-being as regards particularly dangerous infectious diseases in the territory of natural plague foci and potentially focal territories located within the borders of the Russian Federation and the Republic of Kazakhstan. **The aim** of the work was to carry out a joint epizootiological survey of the transboundary territories of the Volga-Ural sandy natural plague focus and the territory of the East Kazakhstan region of the Republic of Kazakhstan (RK) potentially focal for plague over the period of 2019–2022. **Materials and methods.** Samples of field materials, collected during the epizootiological survey of the territory of Kazakhstan, were studied using bacteriological, molecular-genetic, and immune-serological methods. **Results and discussion.** We have obtained the current evidence on the spatial-biocenotic structure, the circulation of pathogens of dangerous natural-focal infectious diseases in the transboundary territories of Eastern and Western Kazakhstan. It has been established that the conditions that contribute to the possibility of human infection with plague and other dangerous

infectious diseases in case of the aggravation of epizootic situation in the foci or importation of the pathogens into the territory are in place.

Key words: epizootiological monitoring, plague, natural-focal infectious diseases.

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

Corresponding author: Aislu M. Senichkina, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Senichkina A.M., Sharova I.N., Magerramov Sh.V., Zakharov K.S., Kuznetsov A.A., Chekashov V.N., Porshakov A.M., Korneev M.G., Proskuryakova M.V., Kislitsyn Yu.V., Belyaev A.I., Kim I.B., Nurmagambetova L.B., Kozulina I.G., Bashmakov A.A., Bashmakova A.A., Kovalevskaya A.A., Adilov R.I., Grigor'ev M.P., Kuklev E.V., Grazhdanov A.K. Results of a Joint Epizootiological Survey of Transboundary Natural Plague Foci of the Russian Federation and Potentially Focal Territories of the Republic of Kazakhstan in 2019–2022. *Problemny Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 1:148–156. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-148-156

Received 03.03.2023. Accepted 20.03.2023.

Senichkina A.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1026-2680>
 Sharova I.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0037-3048>
 Magerramov Sh.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2578-1558>
 Zakharov K.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4726-309X>
 Kuznetsov A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0677-4846>
 Chekashov V.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9593-4353>
 Porshakov A.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3363-765X>
 Korneev M.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1867-2684>
 Proskuryakova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7171-855X>
 Kislitsyn Yu.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3129-4972>

Belyaev A.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2618-3362>
 Kim I.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4940-5482>
 Kozulina I.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5172-4012>
 Bashmakova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5151-7593>
 Kovalevskaya A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8953-8813>
 Adilov R.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7340-1794>
 Grigor'ev M.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9620-8516>
 Kuklev E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9425-7194>
 Grazhdanov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0022-9521>

В настоящее время на территории стран Содружества Независимых Государств (СНГ) расположено 45 природных очагов чумы различной биоценотической структуры, в том числе: сусликового (8), песчаночьего (25), сурочьего (5), полевочьего (5), смешанного (2) типов (рис. 1). Общая площадь энзоотичной по чуме территории стран СНГ и ближнего зарубежья составляет 2101288 км². Наибольшие площади природных очагов зарегистрированы в Республике Казахстан—1021350 км², Туркменистане—430961 км², Республике Узбекистан — 335400 км², Российской Федерации — 222377 км². В сумме на эти страны приходится 95,6 % от общей площади энзоотичной по чуме территории стран СНГ. Значительная часть энзоотичной по чуме территории Российской Федерации (РФ) расположена в приграничных районах с Республикой Казахстан (РК), Монголией и Китайской Народной Республикой (КНР). Из пяти трансграничных природных очагов чумы России два имеют общие границы с Казахстаном.

Волго-Уральский песчаный природный очаг чумы, расположенный в границах Российской Федерации и Республики Казахстан, имеет площадь 73504 км². В России очаг административно расположен в Астраханской области, в Казахстане — в Западно-Казахстанской и Атырауской областях. Культуры, выделенные в Волго-Уральском песчаном очаге чумы в 1963–2003 гг., представлены штаммами основного подвида *Yersinia pestis* ssp. *pestis* средневекового биовара и образуют отдельную филогенетическую группу в составе ветви 2.MED1 [1].

Основными носителями в очаге являются полуденная и гребенщикова песчанки — *Meriones meridianus* и *M. tamariscinus*, переносчиками — их блохи *Xenopsylla conformis* и *Nosopsyllus laeviceps*. Наиболее активные эпизоотические проявления чумы в Волго-Уральском песчаном природном очаге регистрируются с 1922 г. На российской части территории этого природного очага активизация эпизоотического процесса последний раз имела место в 2005 г. На территории Казахстана в Волго-Уральском

песчаном очаге последние эпизоотии чумы выявлены в 2007 г., после чего наступил самый длительный в истории очага межэпизоотический период [2]. Первая официально установленная эпидемическая вспышка чумы в Волго-Уральском песчаном очаге зарегистрирована в 1899 г. Крупные эпидемические проявления чумы здесь имели место в первые десятилетия XX в., в последующие годы отмечены небольшие вспышки или спорадические заболевания. Последний случай заболевания человека чумой зарегистрирован в южной части Волго-Уральского песчаного очага в 1997 г. на территории Атырауской области Республики Казахстан [3]. По официальным документам, общее число заболевших чумой в очаге в период 1899–1997 гг. составило 2497 человек, смертность — 90 %. В настоящее время ситуация в очаге стабильная, однако территория природного очага чумы интенсивно используется в хозяйственной деятельности человека (отгонное скотоводство, добыча нефти и газа, строительство дорог, охотпромысел и др.). Это приводит к концентрации временных контингентов населения на энзоотичной по чуме территории, усилению контактов с природно-очаговыми комплексами и значительному увеличению рисков заражения чумой.

Одним из активных трансграничных очагов чумы РФ является Горно-Алтайский высокогорный природный очаг, расположенный в Республике Алтай. С 2012 г. в Кош-Агачском районе, граничащем с Восточно-Казахстанской областью Республики Казахстан, на территории Горно-Алтайского высокогорного очага чумы наряду с циркуляцией алтайского биовара центральноазиатского подвида *Y. pestis* ssp. *central asiatica*, biovar *altaica* регистрируются локальные эпизоотии, вызванные высоковирулентным штаммом основного подвида *Y. pestis* ssp. *pestis* античного биовара филогенетической линии 4.ANT [4]. Основным носителем возбудителя чумы алтайского подвида в очаге является монгольская пищуха (*Ochotona pricei*), основного подвида — серый сурок (*Marmota baibacina*). Более 93 % штаммов *Y. pestis* ssp. *altaica* изолированы от блох восьми массо-

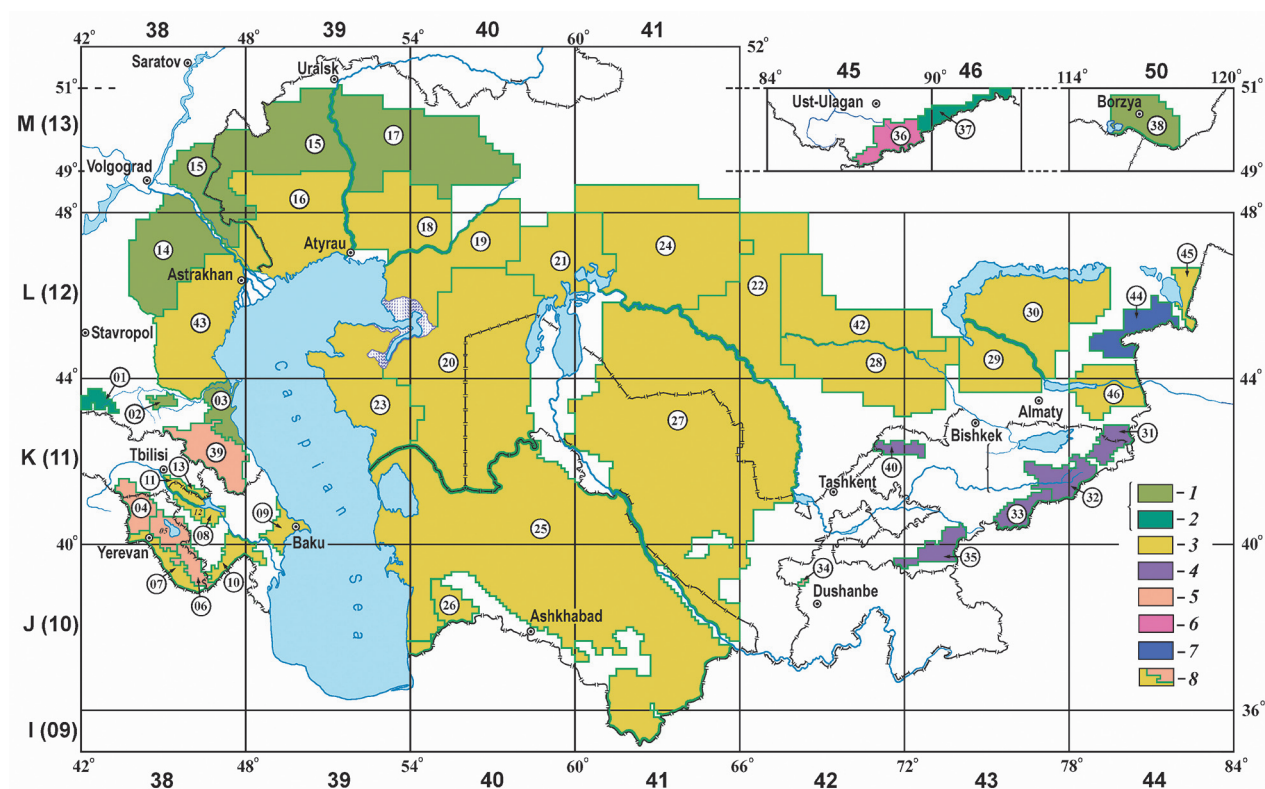


Рис. 1. Природные очаги чумы стран СНГ. Типы очагов:

1 – сусликовый равнинный; 2 – сусликовый горный; 3 – песчаночий; 4 – сурочий; 5 – полеvoчий; 6 – сурочье-пищуховый; 7 – полеvoчье-сусликово-сурочий; 8 – границы природных очагов

Fig. 1. Natural foci of plague in the CIS countries. Foci types:

1 – ground squirrel, lowland; 2 – ground squirrel, mountain; 3 – gerbil; 4 – marmot; 5 – vole; 6 – marmot-pika; 7 – vole-ground squirrel-marmot; 8 – boundaries of natural foci

вых видов: *Paradoxopsyllus scorodumovi*, *Amphalius runatus*, *Ctenophyllus hirticrus*, *Rhadinopsylla dahu-rica*, *Frontopsylla hetera*, *Paramonopsyllus scalonae*, *Amphipsylla primaris*, *Paradoxopsyllus kalabukhovi*. Основным переносчиком при циркуляции чумного микроба основного подвида является специфичная блоха сурков *Oropsylla silantiewi* [3]. В 2014, 2015, 2016 гг. в Кош-Агачском районе зарегистрированы случаи заболевания людей бубонной формой чумы [5]. В 2020 г. штаммы *Y. pestis* ssp. *pestis* выделены на территории плато Укок [4], расположенном на северо-западной окраине очаговости Горного Алтая и непосредственно прилегающем к границе с Казахстаном, что обуславливает необходимость эпизоотологического мониторинга этих трансграничных территорий.

В рамках реализации распоряжения Правительства РФ от 12 октября 2019 г. № 2403-р, договора от 6 февраля 2019 г. № 1 между ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора и Республиканским государственным предприятием (РГП) на праве хозяйственного ведения (ПХВ) «Национальный научный центр особо опасных инфекций имени Масгута Айкимбаева» (ННЦООИ) Министерства здравоохранения Республики Казахстан (МЗ РК) «О сотрудничестве в области реализации Международных медико-санитарных правил (ММСП, 2005 г.) и обеспечения эпизоотологического благополучия по чуме на территории

трансграничных природных очагов чумы Российской Федерации и Республики Казахстан», а также на основании решения Международного рабочего совещания специалистов противочумных учреждений Республики Казахстан и Российской Федерации по координации совместной научно-исследовательской и практической работы по мониторингу территории трансграничных природных очагов чумы и других инфекционных болезней (Республика Казахстан, г. Алматы, 18 ноября 2020 г.) в 2019–2022 гг. проведено совместное эпизоотологическое обследование трансграничного Волго-Уральского песчаного очага чумы, расположенного на территории Республики Казахстан (Западный Казахстан), а в 2021–2022 гг. – потенциально-очаговой территории Южного Алтая (Восточный Казахстан).

Материалы и методы

Сбор материала для исследования (мелкие млекопитающие, эктопаразиты, птицы, костные останки, гнезда грызунов) осуществляли в весенне-летний и осенний сезоны 2019, 2021, 2022 гг. на территории Атырауской области (Курмангазинский, Исатайский районы) и в летний сезон 2021 и 2022 гг. на территории Восточно-Казахстанской области (Катон-Карагайский, Курчумский районы). Лабораторную диагностику выполняли специалисты противоэпи-

демических отрядов и отделений противочумных станций (ПЧС) РК и ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора на базе стационарных и мобильных лабораторий с соблюдением требований биологической безопасности.

Материал исследовали с помощью бактериологического, иммуно-серологических (РНГА/РНАг, РНАт, ИФА), молекулярно-генетического (ПЦР) методов согласно действующим на территории РФ и РК нормативно-методическим документам. Исследования материала осуществляли с целью выявления возбудителей чумы и других инфекционных болезней бактериальной и вирусной природы: туляремии, бруцеллеза, сибирской язвы, лептоспироза, геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ), лихорадки Ку, клещевого энцефалита, болезни Лайма, моноцитарного эрлихиоза человека, гранулоцитарного анаплазмоза человека, псевдотуберкулеза, листериоза, кишечного иерсиниоза, пастереллеза. В работе использовали коммерческие диагностические препараты российского и казахстанского производства, зарегистрированные в установленном порядке.

Результаты и обсуждение

Мониторинг угроз санитарно-эпидемиологического характера трансграничного Волго-Уральского песчаного природного очага на территории Республики Казахстан. В 2019–2022 гг. с целью изучения эпидемического потенциала Волго-Уральского песчаного очага чумы в современных условиях специалистами ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, ФКУЗ «Астраханская противочумная станция» Роспотребнадзора, филиала РГП на ПХВ ННЦООИ МЗ РК «Атырауская противочумная станция» и его Курмангазинского отделения выполнено совместное эпизоотологическое обследование части трансграничного очага чумы, расположенной в границах Республики Казахстан.

Эпизоотологический мониторинг проводили в апреле – июне и октябре – ноябре 2019–2022 гг. в рамках сезонного планового обследования территории Волго-Уральского песчаного очага чумы, обслуживаемой Курмангазинским противочумным отделением Атырауской ПЧС, в соответствии с календарно-территориальным планом работы. Учетные работы по определению численности носителей и переносчиков возбудителя чумы, сбор полевого материала (мелких млекопитающих, блох, клещей) осуществляли на приграничных участках и участках, потенциально опасных по чуме и другим природно-очаговым инфекциям. Работы проведены в 85 секторах, общая площадь эпизоотологического обследования составила около 7,5 тыс. км² (рис. 2).

Для выполнения диагностических исследований добыто: 2550 экз. мелких млекопитающих 12 видов

(песчанки: полуденная, краснохвостая и гребенщикова; мышь домовая и полевая, серый хомячок, полевка обыкновенная, белозубка малая, пегий пutorак, обыкновенная слепушонка, желтый суслик, тушканчик малый); 1 экз. птиц (каменка-плясунья); 4790 экз. блох 9 видов (*X. conformis*, *N. laeviceps*, *C. dolichus*, *A. rossica*, *N. mokrzeckyi*, *R. cedevis*, *C. lamellifer*, *A. schelkovnikovi*, *O. ilovaiskii*); 298 экз. иксодовых (р. *Ixodes*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus*, *Dermacentor*) и гамазовых клещей; костные останки зайца; 2 трупа грызунов.

Исследования осуществляли с использованием классической схемы анализа, включающей: посев на питательные среды, заражение биопробных животных, постановку серологических реакций (РНГА/РНАг). Дополнительно использовали ИФА и ПЦР. Материалом для исследования служили суспензии органов мелких млекопитающих и птиц, суспензии эктопаразитов, смывы с костных остатков и органов грудной полости грызунов. Работу проводили на базе Курмангазинского отделения Атырауской ПЧС.

Численность полуденной песчанки на приграничной территории Казахстана за время совместных исследований колебалась в разные периоды от 1,8 до 7,1 особи/га, гребенщикова песчанки – от 1,7 до 2,7 особи/га. Средняя плотность составила соответственно 4,5 и 2,2 особи/га. Численность гребенщикова песчанки на приграничной территории остается на низком уровне. Общий запас блох на обследуемой территории не превышал 35 экз./га, в среднем составив 15 экз./га, при среднемноголетней численности 25 экз./га.

При исследовании на наличие возбудителя чумы проб полевого материала, собранного за все периоды обследований, с использованием бактериологического, биологического и иммуно-серологических (РНГА/РНАг, ИФА) методов получены отрицательные результаты. Осенью 2021 г. методом ПЦР в девяти образцах суспензий блох *N. laeviceps* и *C. lamellifer*, снятых с полуденных и гребенщиковых песчанок, выявлена ДНК *Y. pestis*. Положительные пробы зарегистрированы на территории шести секторов, из которых на пяти в прошлом протекали активные эпизоотии, а на четырех были выделены культуры *Y. pestis* (1972–1977 гг. – п. Дюсембай; 1977, 1997, 1998 гг. – п. Айгана; 1998, 1999 гг. – п. Копсор; 1997, 1998 гг. и положительные результаты серологических реакций в 2014 г. – п. Бурамбай). Однако в ПЦР для всех положительных проб отмечены высокие значения пороговых циклов (СТ), которые составили от 23,76 до 31,54. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что возникновение активных эпизоотических проявлений на указанных территориях маловероятно, но целесообразно проведение дополнительного обследования и повторного отбора проб в секторах, где выявлены положительные пробы, а также включение этих секторов в план эпизоотологического обследования на следующий сезон.

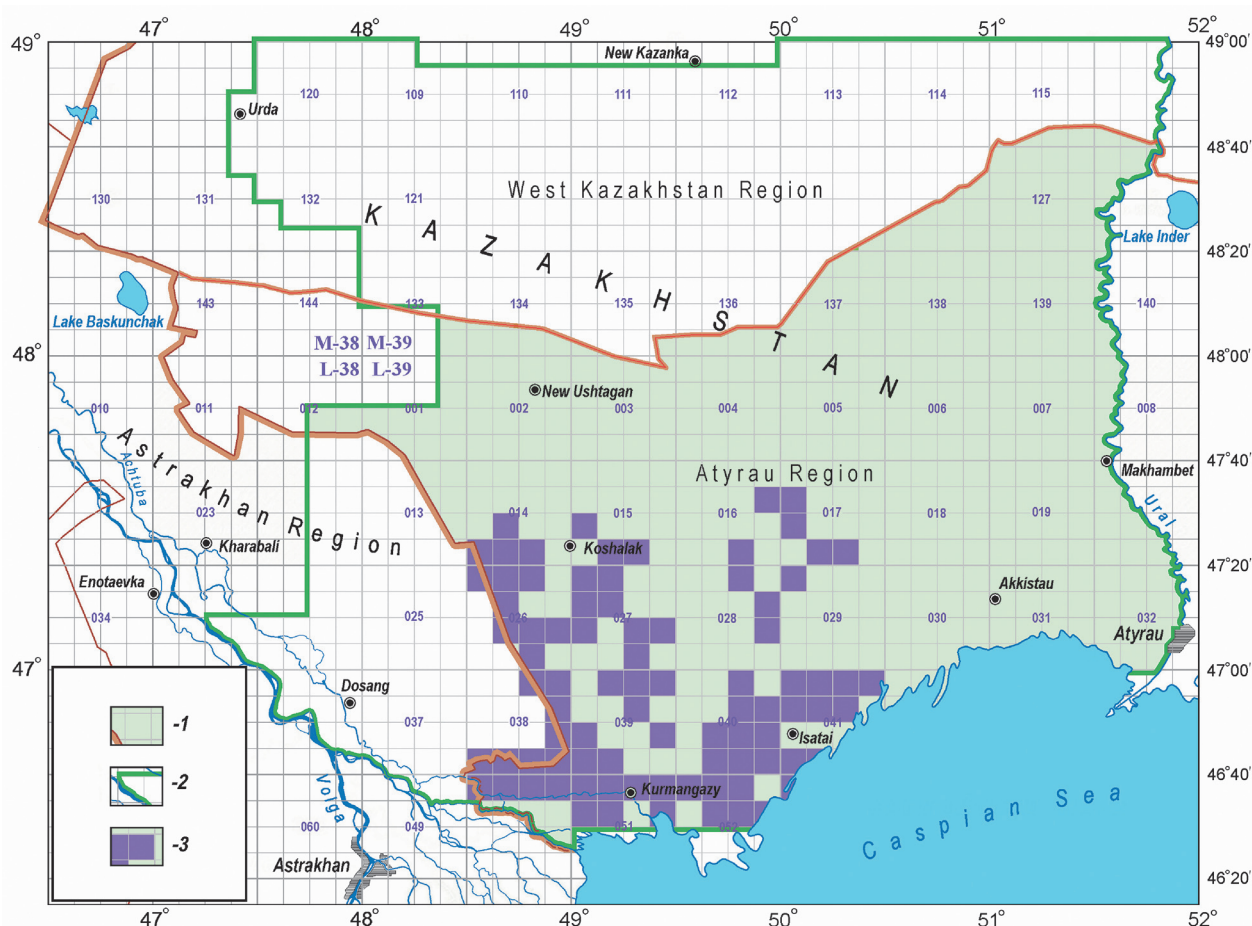


Рис. 2. Схема размещения секторов трансграничного Волго-Уральского песчаного природного очага чумы в границах Республики Казахстан, обследованных в весенние и осенние периоды 2019–2022 гг.:

1 – зона деятельности Атырауской ПЧС; 2 – граница Волго-Уральского песчаного очага чумы; 3 – по плану совместного обследования

Fig. 2. The layout of the sectors of the transboundary Volga-Ural sandy natural plague focus within the borders of the Republic of Kazakhstan, surveyed in the spring and autumn periods of 2019–2022:

1 – the area supervised by the Atyrau Plague Control Station; 2 – the border of the Volga-Ural sandy plague focus; 3 – in compliance with the joint survey plan

При исследовании полевого материала на другие природно-очаговые инфекции методом ИФА в четырех пробах суспензий клещей *Hyalomma scirpense*, снятых с крупного рогатого скота, обнаружены антигены к вирусу Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ). Клещи были собраны на территории Курмагазинского района (дельта Волги, с. Шортанбай), что подтверждает полученные ранее данные, когда в ходе массовых серологических исследований клещей, сывороток от людей и животных маркеры вируса ККГЛ были выявлены на территориях Западно-Казахстанской, Атырауской, Мангистауской, Актыбинской и Алматинской областей, где это заболевание среди людей никогда не проявлялось. Исследования, проведенные в начале 2000-х гг. с использованием современных методов диагностики (ИФА и ПЦР), подтвердили наличие циркуляции вируса ККГЛ на территории этих областей [6, 7].

Неблагополучными по КГЛ в РК являются г. Шымкент, Жамбылская область (г. Тараз, Мойынкумский, Жамбылский, Сарысукский, Таласский районы), вся территория Туркестанской

и Кызылординской областей [8]. По данным Министерства здравоохранения РК, природные очаги чумы и КГЛ занимают 40 % территории страны [9].

На территории РФ эндемичной по КГЛ является Астраханская область. Красноярский район Астраханской области, расположенный на границе с Курмагазинским районом, относится к территории высокого риска заражения КГЛ [10].

Кроме того, в двух пробах клещей *H. scirpense*, собранных на той же территории, методом ПЦР выявлена ДНК возбудителя лихорадки Ку. Это может указывать на возможную циркуляцию *Coxiella burnetii* на территории Курмагазинского района или наличие здесь природного очага этой инфекционной болезни. Природная очаговость лихорадки Ку в Западной Казахстане известна с 1959 г., когда в Западно-Казахстанской области была установлена естественная зараженность возбудителем этой инфекции семи видов мышевидных грызунов. Периодически на территории области регистрировались заболевания лихорадкой Ку, последний подтвержденный случай заболевания человека выявлен в

1988 г. В 2016 и 2018 гг. методом ПЦР выделена ДНК *C. burnetii* от сайгаков, найденных павшими на территории Западно-Казахстанской области [11]. В РФ из 89 субъектов болезнь регистрируется в 50, более 80 % случаев лихорадки Ку отмечается в Астраханской области [12, 13]. В 2022 г. в Астраханской области маркеры *C. burnetii* выявлены в клещах *H. asiaticum*, снятых с верблюдов [14]. Сходство климатических, ландшафтно-географических условий и биоценологических систем обуславливает необходимость мониторинга лихорадки Ку на трансграничной территории Волго-Уральского песчаного очага чумы РК.

Перспективным направлением является мониторинг Астраханской пятнистой лихорадки на территории Западно-Казахстанской области, сопредельной с Астраханской и Атырауской областями. Имеются объективные данные, подтверждающие циркуляцию возбудителя этой инфекционной болезни в Астраханской области [15]. Регистрация спорадических случаев Астраханской пятнистой лихорадки в Атырауской области (без лабораторного подтверждения), зараженности возбудителем клещей *Rhipicephalus pumilio*, основного резервуара и переносчика инфекции, свидетельствует о циркуляции *Rickettsia conorii* на территории области, а наличие экологических условий может способствовать формированию здесь трансграничного природного очага этого риккетсиоза.

В ходе проведения совместного эпизоотологического обследования с целью установления особенностей, определяющих возможность заражения чумой человека на территории Волго-Уральского песчаного очага чумы в современный период в 2021–2022 гг., проведен опрос взрослого населения с использованием специально разработанной анкеты. Для анкетирования выбран Курмангазинский район, в котором опрошено более 150 жителей, в том числе 30 человек на 7 чабанских точках. При первичной обработке анкетных данных и результатов опроса установлено, что жилищные условия на чабанских точках в большинстве случаев не соответствуют строительным и санитарным нормам и правилам, в основном на чабанских точках поселения грызунов находятся в непосредственной близости к жилью (на двух точках отмечалось наличие грызунов в жилище чабанов), в ряде случаев медицинские или противочумные учреждения расположены на расстоянии до 30 км от места проживания чабанов, имеются в личном пользовании верблюды, в летние месяцы на чабанских точках проживают дети дошкольного и младшего школьного возраста, отмечена нестабильная работа сотовой связи.

В настоящее время на территории Курмангазинского района проживает 57501 человек. Распределение населения по территории района неравномерное. Распространено отгонное животноводство: население постоянно меняет сезонные пастбища, перегоняя скот до нескольких сотен километров. поголовье верблюдов составляет около

1,5 тыс. животных. Особенности их выпаса связаны с кочевками скота на десятки километров и периодическим возвращением к водопоям. Контроль над заболеваемостью и падежом верблюдов осуществляется ветеринарной службой, профилактическая вакцинация поголовья верблюдов неполная.

Таким образом, на территории Волго-Уральского песчаного очага чумы существуют условия, обуславливающие возможность возникновения заболеваний людей чумой и другими опасными природно-очаговыми инфекционными болезнями при обострении эпизоотической обстановки в трансграничном очаге или заносе возбудителя на его территорию.

Мониторинг угроз санитарно-эпидемиологического характера потенциально очаговой по чуме территории Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан. В 2021–2022 гг. сотрудниками ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора и филиала «Талдыкорганская противочумная станция» РГП на ПХВ ННЦООИ МЗ РК проведено эколого-эпизоотологическое обследование Катон-Карагайского и Курчумского административных районов Восточно-Казахстанской области РК на участке, граничащем с природными очагами чумы РФ и КНР (рис. 3).

Обследуемые районы Восточно-Казахстанской области представляют собой горную территорию с системой хребтов и речных горных долин, со стороны РФ непосредственно граничат с Горно-Алтайским высокогорным природным очагом чумы (плоскогорье Укок), через территорию КНР (около 40 км) – с Сайлюгемским и Табын-Богдо-Ульским природными очагами Монголии [16], где выявлена циркуляция *Y. pestis*.

Эпизоотологическое обследование территорий Восточно-Казахстанской области проводилось со второй половины июля до середины августа в 2021–2022 гг. Общая площадь обследования составила 4100 км² (41 сектор) (рис. 3).

В 2021–2022 гг. добыто 2565 объектов исследования, из них: мелкие млекопитающие – 869 экз. 19 видов (серый сурок, длиннохвостый суслик, полевка-экономка, обыкновенная полевка, красная полевка, домовая мышь, лесная мышь, восточно-азиатская лесная мышь, водяная полевка, красно-серая полевка, степной хорь, темная полевка, мышь серая, хомяк обыкновенный, бурозубка равнозубая, бурозубка тундрная, белозубка малая, кутора водяная, бурундук азиатский), птицы – 9 экз. 4 видов (каменка обыкновенная, сорокопуд обыкновенный, чекан черноголовый, воробей полевой), блохи – 1398 экз. 22 видов (*C. tesquorum altaicus*, *M. rectangularis*, *A. sibirica*, *F. elatoides*, *F. elata*, *A. penicilliger*, *H. talpae*, *O. silantiewi*, *R. altaica*, *L. nana*, *A. runatus*, *A. kuznetzovi*, *N. pleskei*, *N. mana*, *Ct. assimilis*, *Ct. subarmatus*, *L. bidentata*, *P. irritans*, *C. fetisovi*, *P. soricis*, *M. ingades*, *C. homoea*), клещи – 281 экз. (гамазовые,

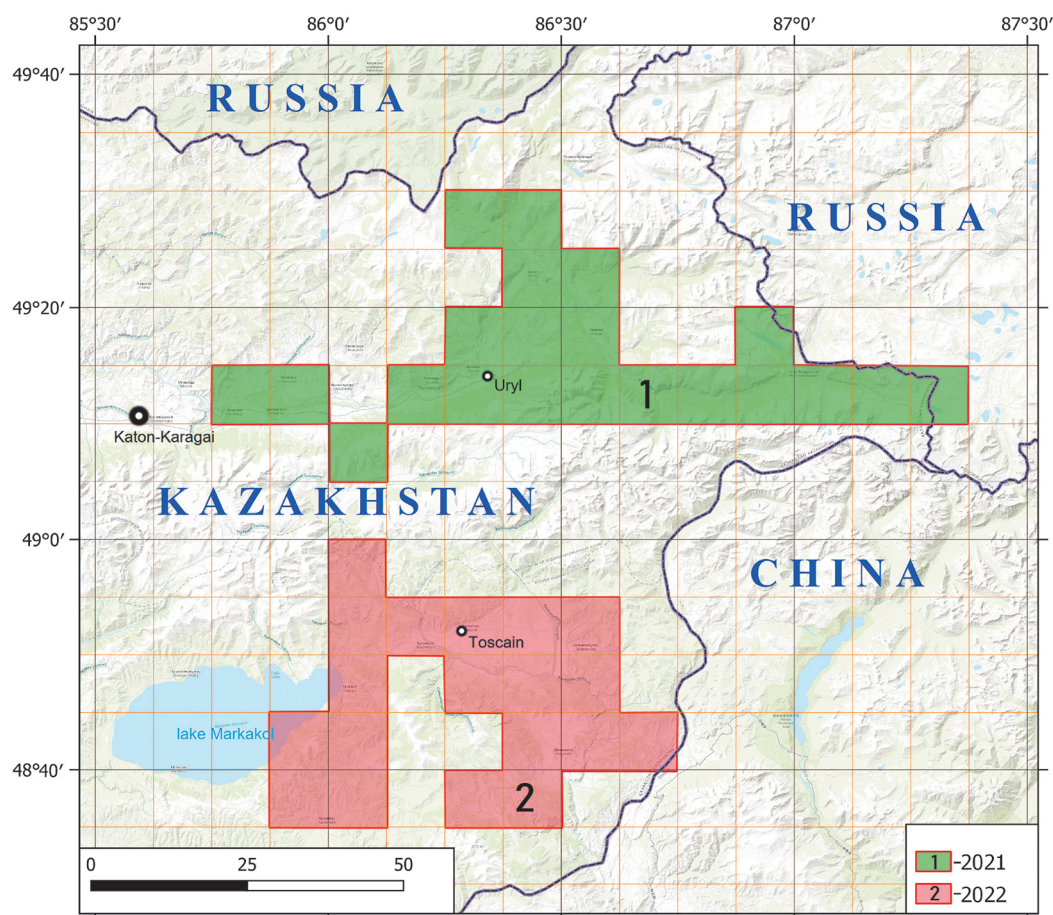


Рис. 3. Расположение участков проведения эпизоотологического обследования на территории Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан:

1 – в 2021 г.; 2 – в 2022 г.

Fig. 3. Location of areas under epizootiological survey on the territory of the East Kazakhstan Region of the Republic of Kazakhstan:

1 – in 2021; 2 – in 2022

p. Dermacentor, *Ixodes*), 2 трупа грызунов, 3 погадки хищных птиц, 2 экз. костных останков грызунов, 1 экз. гнезда грызунов.

При проведении учетных работ по определению численности носителей и переносчиков чумы на территории Восточно-Казахстанской области наблюдали очаговые поселения серого сурка (основного носителя возбудителя чумы в Горно-Алтайском высокогорном очаге). В период проведения обследования зарегистрирована его низкая численность: на 1 км² в среднем приходилось 0,1 жилых бутана, в оптимальных местообитаниях – до 1,2 бут./га. Количество зверьков в одной семье – от 3 до 5. Встречались совместные поселения серого сурка с длиннохвостым сусликом.

Поселения других видов мелких млекопитающих – потенциальных носителей возбудителей природно-очаговых инфекционных болезней отличались мозаичностью. Показатель численности мышевидных грызунов составил в среднем 7,2 % попадания в давилки. Доминировали в уловах полевка-экономка (ИД=51,8 %), обыкновенная (15,0 %) и красная (14,2 %) полевки. В населенных пунктах общий показатель численности составил 5,8 % попадания зверьков в орудия лова, преобладала домовая мышь (ИД=82,6 %).

Блох в жилье человека при учетах методом фланелевых флажков не обнаружено. Наиболее пораженным блохами среди отловленных млекопитающих оказался длиннохвостый суслик, индекс обилия на котором доходил до 23. На этом грызуне паразитировали в основном специфические блохи: *Citellophilus tesquorum altaicus* и *Frontopsylla elatoides*. Общий индекс обилия составил 3,6. Высокое видовое разнообразие блох зарегистрировано на полевке-экономке, красной и красно-серой полевках. Наиболее часто встречаемым видом среди блох являлась *Hystrihopsylla talpae* – отмечена на семи видах грызунов. На серых сурках отмечено два вида блох – *Oropsylla silantiewi* и *Pulex irritans*. Индекс обилия составил 0,12. В целом пораженность блохами установлена для 16 видов млекопитающих.

В результате лабораторных исследований, проведенных в ходе эпизоотологического обследования территории Восточно-Казахстанской области РК в 2021–2022 гг. с использованием комплекса методов, возбудитель чумы не обнаружен.

Однако при исследовании материала от носителей и переносчиков обнаружены маркеры возбудителей других инфекционных болезней бактериальной и вирусной природы. Методом ПЦР в двух объеди-

ненных пробах внутренних органов от домашних и лесных мышей, двух пробах от полевых-экономок и одной пробе от обыкновенной полевки выявлены генетические маркеры 16S рРНК патогенных лептоспир. Полученные результаты и данные Г.Ж. Тагаевой с соавт. [17] о регистрации вспышек данной инфекции в г. Усть-Каменогорске в 1998 г., где заболели лептоспирозом 2305 человек, в Аягоском районе в 2004 г. с выявлением 27 больных свидетельствуют об устойчивой циркуляции возбудителя лептоспироза на территории Восточно-Казахстанской области.

По данным Р.А. Егембердиевой с соавт. [18], на территории Восточного Казахстана имеются природные очаги клещевого боррелиоза. Генетические маркеры возбудителя клещевого боррелиоза (*Borrelia burgdorferi sensu lato*) обнаружены нами в одной объединенной пробе клещей *Ix. persulcates*, снятых с полевки-экономки, и трех пробах клещей *D. marginatus*, снятых с обыкновенной полевки.

В одной объединенной пробе органов от красных полевых выявлена РНК возбудителя ГЛПС (*Puumala orthohantavirus*). Однако данные по заболеваемости ГЛПС в этом регионе отсутствуют.

Серологическим методом обнаружены антитела к возбудителям псевдотуберкулеза (в одной пробе от полевки-экономки), кишечного иерсиниоза (в одной пробе от суслика длиннохвостого), листериоза (в трех пробах от суслика длиннохвостого и одной – от серого сурка). Полученные результаты указывают на циркуляцию возбудителей этих инфекционных болезней на территории Восточно-Казахстанской области.

Таким образом, в ходе совместного эпизоотологического обследования Восточно-Казахстанской области Республики Казахстан специалистами противочумных учреждений России и Казахстана установлено, что здесь имеются условия для реализации заноса *Y. pestis* из природных очагов Монголии, КНР, России.

Также подтверждено наличие циркуляции возбудителей других опасных и природно-очаговых инфекционных болезней: клещевого боррелиоза, лептоспироза, листериоза – и возможной циркуляции: ГЛПС, псевдотуберкулеза, кишечного иерсиниоза.

Результаты работы показали важность и перспективность сотрудничества при обследовании сопредельных территорий природных очагов опасных инфекционных болезней и необходимость дальнейшего взаимовыгодного взаимодействия. Организация единого информационного пространства по вопросам эпизоотологического надзора за чумой, применение единых методических подходов эпизоотологического обследования территорий и алгоритмов лабораторной диагностики опасных инфекционных болезней будет способствовать обеспечению эпизоотологического благополучия по чуме и другим актуальным природно-очаговым инфекциям на территории трансграничных природных очагов Российской Федерации и Республики Казахстан.

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

Список литературы

1. Eroshenko G.A., Popov N.V., Alkhova Zh.V., Balykova A.N., Kukleva L.M., Chervyakova N.S., Maykanov N.S., Sarmul'dina A.Kh., Kuttyrev V.V. Circulation of *Yersinia pestis* in the Volga-Ural sandy focus: spatiotemporal analysis. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; 3:51–7. (In English). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-51-57.
2. Гражданов А.К., Майканов Н.С. Общие сведения о возбудителе чумы и источниках выделения в природных очагах чумы Западно-Казахстанской области. В кн.: Материалы XVI Межгосударственной научно-практической конференции по вопросам санитарной охраны территории и снижения риска распространения чумы (26–27 сентября 2022 г., Санкт-Петербург). Саратов; 2022. С. 36–9.
3. Попова А.Ю., Кутырев В.В. Обеспечение эпизоотологического благополучия в природных очагах чумы на территории стран СНГ и Монголии в современных условиях. Ижевск: ООО «Принт»; 2018. 336 с.
4. Ерошенко Г.А., Балыкова А.Н., Краснов Я.М., Нарышкина Е.А., Рождественский Е.Н., Базарова Г.Х., Денисов А.В., Оглодин Е.Г., Шавина Н.Ю., Марцоха К.С., Кутырев В.В. Сравнительный генетический анализ штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на плато Укок и других территориях Горного Алтая. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:59–69. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-59-69.
5. Корзун В.М., Балахонов С.В., Косилко С.А., Михайлов Е.П., Мищенко А.И., Денисов А.В., Рождественский Е.Н., Чипанин Е.В., Базарова Г.Х., Ярыгина М.Б., Абибулаев Д.Э., Шефер В.В. Особенности эпизоотической и эпидемической активности Горно-Алтайского природного очага чумы в 2012–2016 годах. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2017; 1:36–8.
6. Аймаханов Б.К., Абдел З.Ж., Далибаев Ж.С., Курманов Ж.Б., Дошанов А.К., Сарсенбаева Ш.Т., Бердимурат С.А., Коньраев Б., Абделиев Б.З., Садовская В.П. Обнаружение антигена возбудителя Конго-Крымской геморрагической лихорадки (ККГЛ) в зоне природных очагов чумы Актыбинской области Казахстана за период 2017–2021 годов. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2022; 12:5. DOI: 10.23670/IRJ.2022.126.5.
7. Паспорт регионов Казахстана по особо опасным инфекциям. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане*. 2015; 1(31).
8. Турлиев З.С., Усатаева Г.М. Эпидемиологическая ситуация в Республике Казахстан по Конго-Крымской геморрагической лихорадке. *Вестник КазНМУ*. 2019; 2:20–3.
9. Международное информационное Агентство Kazinform. Природные очаги чумы и Конго-Крымской геморрагической лихорадки занимают 40 % территории Казахстана – Минздрав РК. [Электронный ресурс]. URL: https://www.inform.kz/ru/prirodnye-ochagi-chumy-i-kongo-krymskoy-gemorragicheskoy-lihoradki-zanimayut-40-territorii-kazahstana-minzdrav-rk_a2480417?ysclid=l-fjijwisd0384968803 (дата обращения 27.03.2023).
10. Ковалевская А.А., Василькова О.Л., Агапов Б.Л., Куклев Е.В., Сафронов В.А., Ящечкин Ю.И., Топорков В.П., Шербакова С.А., Никешина Н.Н., Носкова Л.Н., Аршба Т.Е., Руденко Г.Г., Шишлов А.М. Риск-ориентированная характеристика современной эпизоотической обстановки в Астраханской области по Крымской геморрагической лихорадке. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 4:58–62. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-58-62.
11. Майканов Н.С., Гражданов А.К., Бидашко Ф.Г., Кобжасаров Д.А., Габбасов А.А., Рамазанова С.И. Эпизоотологический и эпизоотический мониторинг опасных инфекционных болезней на западе Казахстана. В кн.: Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия в государствах-участниках СНГ: Материалы XIV Межгосударственной научно-практической конференции (20–21 ноября 2018 г.). Саратов; 2018. С. 237–9.
12. Лубова В.А., Леонова Г.Н. Ку-лихорадка – природно-очаговой зооноз. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2020; 19(4):97–101. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-4-97-101.
13. Чеканова Т.А., Петремгвдлшвили К. Лихорадка Ку в Российской Федерации: взгляд на заболеваемость через призму уровня развития лабораторной диагностики. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022; 21(6):5–12. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-6-5-12.
14. Найденова Е.В., Халилов Э.С., Блинова К.Д., Краснов Я.М., Соседова Е.А., Гайнуллин М.Р., Григорьев М.П., Портенко С.А., Адилев Р.И., Бамматов Д.М. Выявление генетических маркеров *Coxiella burnetii* в материале от клещей *H. asiaticum*, снятых с верблюдов в Астраханской области. В кн.: Попова А.Ю.,

Акимкин В.Г., редакторы. Материалы XII съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (Москва, 26–28 октября 2022 г.). М.; 2022. С. 197.

15. Гражданов А.К., Майканов Н.С., Танитовский В.А., Карнауков И.Г., Куклев Е.В., Захаров А.В., Аязбаев Т.З., Ковалевская А.А., Андрущенко А.В. Основные итоги и перспективы исследований Астраханской пятнистой лихорадки в Казахстане. *Особо опасные инфекции и биологическая безопасность*. 2022; 4:66–74.

16. Вержущий Д.Б., Адъясурэн З. Природные очаги чумы в Монголии: аннотированный список. *Байкальский зоологический журнал*. 2019; 2:92–103.

17. Тагаева Г.Ж., Илюбаев Х.Ж., Кирьянова Ю.С., Тарина Ш.Ж., Сагатова М.Е., Шорнаева Г.М., Сейтказина Г.Т. Лептоспироз в Восточно-Казахстанской области: Обзор ситуации. *Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане*. 2019; 2:34–40.

18. Егембердиева Р.А., Дмитровский А.М., Шапиева Ж.Ж., Туребеков А.А., Ералиева Л.Т., Орадова А.Ш., Туребеков Н.А., Тастанова С.С., Зиядина Л.К., Усенов У.Б., Абдиева К.С., Фрай Ш., Эссбауэр С. Нозологическая структура и распространение клещевых инфекций в Казахстане. *Национальные приоритеты России*. 2016; 4:30–3.

References

- Eroshenko G.A., Popov N.V., Alkhova Zh.V., Balykova A.N., Kukleva L.M., Chervyakova N.S., Maykanov N.S., Sarmulidina A.Kh., Kuttyrev V.V. Circulation of *Yersinia pestis* in the Volga-Ural sandy focus: spatiotemporal analysis. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (3):51–7. (In English). DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-51-57.
- Grazhdanov A.K., Maikanov N.S. [General information on the causative agent of plague and sources of isolation in natural foci of plague in the West Kazakhstan region]. In: [Proceedings of the 16th Interstate Scientific and Practical Conference on Sanitary Protection of the Territory and Reducing the Risk of the Spread of Plague] (September 26–27, 2022, St. Petersburg). Saratov; 2022. P. 36–9.
- Popova A.Yu., Kuttyrev V.V., editors. [Ensuring Epidemiological Well-Being in Natural Plague Foci in the Territory of the CIS Countries and Mongolia under Current Conditions]. Izhevsk: Publishing house "Print" LLC; 2018. 336 p.
- Eroshenko G.A., Balykova A.N., Krasnov Y.M., Naryshkina E.A., Rozhdestvensky E.N., Bazarova G.K., Denisov A.V., Oglozin E.G., Shavina N.Yu., Martsokha K.S., Kuttyrev V.V. [Comparative genetic analysis of *Yersinia pestis* strains isolated on the Ukok plateau and other territories of the Altai mountains]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (4):59–69. (In Russ.) DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-59-69.
- Korzun V.M., Balakhonov S.V., Kosilko S.A., Mikhailov E.P., Mishchenko A.I., Denisov A.V., Rozhdestvensky E.N., Chipanin E.V., Bazarova G.Kh., Yarygina M.B., Abibulaev D.E., Shefer V.V. [Peculiarities of epizootic and epidemic activity of the Gorno-Altai natural plague focus in 2012–2016]. *Epidemiologiya i Vaksinooprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2017; (1):36–8.
- Aimakhanov B.K., Abdel Z.Zh., Dalibaev Zh.S., Kurmanov Zh.B., Doshchanov A.K., Sarsenbaeva Sh.T., Berdimurat S.A., Konyrbaev B., Abdeliev B.Z., Sadovskaya V.P. [The detection of the Crimean-Congo hemorrhagic fever (CCHF) antigen in the area of natural plague foci in the Aktobe Region of Kazakhstan during the period of 2017–2021]. *Mezhdunarodny Nauchno-Issledovatel'sky Zhurnal [International Research Journal]*. 2022; (12):5. DOI: 10.23670/IRJ.2022.126.5.
- [Passport of the regions of Kazakhstan for particularly dangerous infections]. *Karantinnye i Zoonoznye Infektsii v Kazakhstane [Quarantine and Zoonotic Infections in Kazakhstan]*. 2015; 1(31).
- Turlyev Z.S., Usataeva G.M. [Epidemiological situation in the Republic of Kazakhstan on the Crimean-Congo hemorrhagic fever]. *Bulletin of Kazakh National Medical University*. 2019; (2):20–3.
- [International Information Agency "Kazinform". Natural foci of plague and Crimean-Congo hemorrhagic fever occupy 40% of the territory of Kazakhstan. Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan]. (Cited 27 March 2023). [Internet]. Available from: https://www.inform.kz/ru/prirodnye-ochagi-chumy-i-kongo-krymskoy-gemorrageskoy-lihoradki-zanimayut-40-territorii-kazakhstana-minzdrav-rk_a2480417?ysclid=lfjijwisd0384968803.
- Kovalevskaya A.A., Vasil'kova O.L., Agapov B.L., Kouklev E.V., Safronov V.A., Yashchkin Yu.I., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Nikeshina N.N., Noskova L.N., Arshba T.E., Rudenko G.G., Shishlonov A.M. [Risk-oriented characteristics

of current epidemiological situation on Crimean hemorrhagic fever in the Astrakhan Region]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (4):58–62. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-58-62.

11. Maikanov N.S., Grazhdanov A.K., Bidashko F.G., Kobzhasarov D.A., Gabbasov A.A., Ramzanova S.I. [Epizootiological and epidemiological monitoring of dangerous infectious diseases in the west of Kazakhstan]. In: [Ensuring Sanitary and Epidemiological Well-Being in the CIS Member States. Proceedings of the 14th Interstate Scientific and Practical Conference (November 20–21, 2018)]. Saratov; 2018. P. 237–9.

12. Lubova V.A., Leonova G.N. [Q fever is a natural-focal zoonosis]. *Epidemiologiya i Vaksinooprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2020; 19(4):97–101. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-4-97-101.

13. Chekanova T.A., Petremgvdilshvili K. [Q fever in the Russian Federation: view on the incidence through the prism of the level of development of laboratory diagnostics]. *Epidemiologiya i Vaksinooprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2022; 21(6):5–12. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-6-5-12.

14. Naidenova E.V., Khalilov E.S., Blinova K.D., Krasnov Ya.M., Sosodova E.A., Gainullin M.R., Grigoriev M.P., Portenko S.A., Adilov R.I., Bamatov D.M. [Identification of genetic markers of *Coxiella burnetii* in the material from *H. asiaticum* ticks removed from camels in the Astrakhan region]. In: Popova A.Yu., Akimkin V.G., editors. [Proceedings of the XII Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists]. Moscow; 2022. P. 197.

15. Grazhdanov A.K., Maikanov N.S., Tanitovsky V.A., Karnaukhov I.G., Kuklev E.V., Zakharov A.V., Ayazbaev T.Z., Kovalevskaya A.A., Andryushchenko A. V. [Main results and prospects of studies of Astrakhan spotted fever in Kazakhstan]. *Osobo Opasnye Infektsii i Biologicheskaya Bezopasnost' [Particularly Dangerous Infections and Biological Safety]*. 2022; (4):66–74.

16. Verzhutsky D.B., Ad'yasuren Z. [Natural plague foci in Mongolia: an annotated list]. *Baykal'sky Zoologicheskyy Zhurnal [Baikal Zoological Journal]*. 2019; (2):92–103.

17. Tagaeva G.Zh., Ilyubaev Kh.Zh., Kir'yanova Yu.S., Tarina Sh.Zh., Sagatova M.E., Shornaeva G.M., Seitkazina G.T. [Leptospirosis in the East Kazakhstan region: Overview of the situation]. *Karantinnye i Zoonoznye Infektsii v Kazakhstane [Quarantine and Zoonotic Infections in Kazakhstan]*. 2019; (2):34–40.

18. Egemberdieva R.A., Dmitrovsky A.M., Shapieva Zh.Zh., Turbekov A.A., Eralieva L.T., Oradova A.Sh., Turbekov N.A., Taстанова S.S., Ziyadina L. K., Usenov U.B., Abdieva K.S., Frai Sh., Essbauer S. [Nosological structure and incidences of tick-borne infections in Kazakhstan]. *Natsional'nye Prioritety Rossii [National Priorities of Russia]*. 2016; (4):30–3.

Authors:

Senichkina A.M., Sharova I.N., Magerramov Sh.V., Zakharov K.S., Kuznetsov A.A., Chekashov V.N., Porshakov A.M., Korneev M.G., Proskuryakova M.V., Kuklev E.V., Grazhdanov A.K. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Kislitsyn Yu.V., Belyaev A.I., Kim I.B. Taldykorgan Plague Control Station, Affiliated Branch of the National Scientific Center of Particularly Dangerous Infections (NSCPDI). Republic of Kazakhstan, Taldykorgan. E-mail: tkorg-aps2@nscedi.kz.

Nurmagamбетова Л.Б., Козуллина И.Г., Башмаков А.А., Башмакова А.А. Атырау Plague Control Station, Affiliated Branch of the NSCPDI. Republic of Kazakhstan, Atyrau. E-mail: atyrau_pchs@mail.ru.

Kovalevskaya A.A., Adilov R.I., Grigor'ev M.P. Astrakhan Plague Control Station. Russian Federation, Astrakhan. E-mail: FKUZ.antichum@yandex.ru.

Об авторах:

Сеничкина А.М., Шарова И.Н., Магерамов Ш.В., Захаров К.С., Кузнецов А.А., Чекашов В.Н., Поршаков А.М., Корнеев М.Г., Прокурякова М.В., Куклев Е.В., Гражданов А.К. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Кислицын Ю.В., Беляев А.И., Ким И.Б. Филиал «Талдыкорганская противочумная станция» ННЦООИ. Республика Казахстан, Талдыкорган. E-mail: tkorg-aps2@nscedi.kz.

Нурмагамбетова Л.Б., Козуллина И.Г., Башмаков А.А., Башмакова А.А. Филиал «Атырауская противочумная станция» ННЦООИ. Республика Казахстан, Атырау. E-mail: atyrau_pchs@mail.ru.

Ковалевская А.А., Адилев Р.И., Григорьев М.П. Астраханская противочумная станция. Российская Федерация, Астрахань. E-mail: FKUZ.antichum@yandex.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-157-163

УДК 616.98:579.852.11:615.371

А.Н. Шевцов, С.А. Пермяков, Н.Г. Хапаев, Р.Ш. Зиганшин

Новый способ вакцинации против сибирской язвы*Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров), Киров, Российская Федерация*

Цель исследования – разработка перорального способа вакцинации против сибирской язвы, так как для проведения широких прививочных кампаний с помощью этого метода не требуется специальных условий, оборудования и аппаратуры. Достаточно минимального количества медицинского персонала для обеспечения контроля за приемом препарата. **Материалы и методы.** В работе использовали отечественные сырье, материалы и реактивы, прошедшие входной контроль и отвечающие требованиям ГОСТов, ОСТов, ТУ и статей Государственной фармакопеи РФ. Испытанию подверглись серии сибирезавенной вакцины на основе *Bacillus anthracis* штамма СТИ-1, приготовленные в НИЦ (г. Киров) ФГБУ 48 ЦНИИ Минобороны России. **Результаты и обсуждение.** Отработаны на животных схемы иммунизации исходя из особенностей антигена. Одним из решающих условий, определяющих эффективность пероральной вакцинации, является правильный выбор вида и формы препарата пероральной сибирезавенной вакцины, вводимой энтерально. Показано, что в энтеральных вакцинах, в отличие от оральных, вакцинный штамм должен быть защищен от губительного действия желудочного содержимого. В исследовании использованы кишечнорастворимые капсулы, покрытые оболочкой, устойчивой к действию желудочного сока. Изложенные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что однократное введение капсул с пероральной сибирезавенной вакциной СТИ защищает не менее 70 % лабораторных животных от высоковирулентного штамма сибирезавенного микроба, и подтверждают безвредность и ареактогенность вакцины. Разработанная лабораторная технология позволяет получать готовый препарат, содержащий одну прививочную дозу пероральной вакцины для лабораторных животных. Таким образом, разработан новый способ вакцинации, необходимо проведение доклинических и клинических исследований и скорейшее внедрение в медицинскую практику перорального способа введения сибирезавенной вакцины как наиболее простого для массовой вакцинации людей.

Ключевые слова: пероральный способ, иммунизация, эффективная иммунизирующая доза.

Корреспондирующий автор: Шевцов Александр Николаевич, e-mail: 23527@mail.ru.

Для цитирования: Шевцов А.Н., Пермяков С.А., Хапаев Н.Г., Зиганшин Р.Ш. Новый способ вакцинации против сибирской язвы. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2023; 1:157–163. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-157-163

Поступила 04.10.2022. Отправлена на доработку 24.10.2022. Принята к публ. 09.11.2022.

A.N. Shevtsov, S.A. Permyakov, N.G. Khapaev, R.Sh. Ziganshin

New Method of Vaccination Against Anthrax*Affiliated Branch of the “48th Central Research Institute” of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Kirov, Russian Federation*

Abstract. The aim of this work was to develop an oral method of vaccination against anthrax, since wide vaccination campaigns using this method require no special conditions, equipment, and instruments. Also, minimum number of medical personnel is sufficient to ensure control over the intake of the drug. **Materials and methods.** Domestic raw materials, consumables and reagents that passed the incoming inspection and met the requirements of State and industry standards, technical specifications, and the articles of the Pharmacopoeia were used for the work. Batches of anthrax vaccines based on *Bacillus anthracis* strain STI-1, manufactured at the Research Center (Kirov) of the “48th Central Research Institute” of the Ministry of Defense of Russia were put to the test. **Results and discussion.** The immunization schemes have been tested on animals, taking into account the features of the antigen. One of the crucial factors that determine the effectiveness of oral vaccination is the correct choice of the type and form of the oral anthrax vaccine administered enterally. It has been shown that in contrast to oral vaccines, the vaccine strain in enteral vaccines must be protected from the harmful effects of stomach contents. Thus, enteric-coated capsules coated with a shell that is resistant to the action of stomach acid were used for the study. The presented experimental data indicate that a single administration of the capsules with oral anthrax vaccine STI protects at least 70 % of laboratory animals from a highly virulent strain of the anthrax microbe and confirm the safety and non-reactogenicity of the drug. The developed laboratory technology makes it possible to obtain a finished product containing one inoculation dose of an oral vaccine for laboratory animals. So, a new method of vaccination has been designed. It is necessary to conduct preclinical and clinical trials to promptly introduce the oral administration of anthrax vaccine into medical practice as the simplest method for mass vaccination of humans.

Key words: oral vaccine, immunization, effective immunizing dose.

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

Corresponding author: Alexander N. Shevtsov, e-mail: 23527@mail.ru.

Citation: Shevtsov A.N., Permyakov S.A., Khapaev N.G., Ziganshin R.Sh. New Method of Vaccination Against Anthrax. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections].* 2023; 1:157–163. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-157-163

Received 04.10.2022. Revised 24.10.2022. Accepted 09.11.2022.

Shevtsov A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7322-5759>
Permyakov S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2004-4727>

Khapaev N.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9201-9803>
Ziganshin R.Sh., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2197-6358>

Важнейшим направлением борьбы с инфекционными заболеваниями в практической медицине в настоящее время остается иммунопрофилактика, считающаяся наиболее эффективным и экономически выгодным способом [1]. В определенных эпидемических ситуациях, помимо полноты охвата коллектива прививками, определяющим фактором эффективности вакцинопрофилактики является скорость осуществления прививочной кампании. Например, блестящий успех в ликвидации завозной вспышки оспы в Москве в 1960 г. в огромной степени был обусловлен тем, что органам здравоохранения удалось привить практически все население Москвы и Московской области в рекордно короткие сроки [2]. Это свидетельствует о том, что противоэпидемическая практика нуждается в методах иммунизации, которые позволяют быстро привить большие контингенты, обеспечивая ускоренное формирование коллективного иммунитета.

Возможность перорального приема – один из ключевых показателей, предъявляемых ВОЗ к современным препаратам для специфической профилактики инфекционных болезней. Разработка массового, безопасного, неинвазивного способа вакцинации против сибирской язвы является актуальным направлением исследований. В нашей стране разработаны следующие методы массовой иммунизации: при помощи безыгольного инъектора, аэрозольный и пероральный.

Целью данного исследования являлась разработка перорального способа вакцинации против сибирской язвы.

В ряде случаев массовая иммунизация исключает возможность проведения прививок в стенах специализированных медицинских учреждений не только в связи с их ограниченной пропускной способностью, но и потому, что необходимость их посещения нарушит ритм жизни коллектива, а в некоторых ситуациях может оказаться попросту нереальной [2]. В связи с этим способы введения вакцинного материала, избираемые для этой цели, должны допускать возможность проведения прививок в приспособленных помещениях либо вообще не предъявлять к месту их осуществления особых требований. Отвлечение персонала медицинской службы на осуществление прививочной кампании, по-видимому, далеко не всегда окажется возможным, кроме того, весьма желательным является также отсутствие необходимости в привлечении к проведению прививок специалистов-медиков высокой квалификации, особенно врачей. Этим требованиям в полной мере соответствует только пероральная иммунизация.

Преимущества пероральной иммунизации как способа массовой профилактики по сравнению с другими способами введения вакцин в организм вполне очевидны. Для проведения широких прививочных кампаний с помощью перорального метода не требуется специальных условий, оборудования и аппаратуры. В данном случае достаточно мини-

мального количества медицинского персонала для обеспечения контроля за приемом вакцинного препарата. Пероральная вакцинация может быть осуществлена не только в медицинских пунктах, но и на дому, в учреждении, на транспорте (теплоход, самолет, поезд), в полевых условиях (на позициях, дежурстве и т.д.). Большое значение для реализации прививок в любых условиях имеет форма препарата пероральной вакцины.

Необходимо отметить, что разработкой пероральных вакцин против сибирской язвы занимаются и за рубежом. Так, в США была проведена оценка иммунной реакции на перорально введенную сельскохозяйственным животным живую энтеральную вакцину на основе штамма 34F2 Sterne [3]. Это исследование имело две цели: разработать модель пероральной вакцины и продемонстрировать продуцирование антител к протективному антигену сибиреязвенного микроба при пероральной вакцинации. В Техасском университете (США) также были проведены исследования и разработана пероральная вакцина для животных на основе ослабленного штамма возбудителя сибирской язвы [4]. Бактерии вакцинного штамма помещали в гелевую оболочку, состоящую из сахаристых веществ водорослей, защищающую клетки от агрессивного воздействия факторов желудочно-кишечного тракта. Полученные результаты показали, что даже при низких и переменных титрах антител по сравнению с подкожной вакцинацией существует потенциальная возможность разработки пероральной живой сибиреязвенной вакцины. Кроме этого, было сообщено о разработке рекомбинантной вакцины перорального введения для специфической профилактики сибирской язвы на основе аттенуированного аденовируса 4-го серотипа – Ad4, синтезирующего рекомбинантный протективный антиген [5].

Материалы и методы

В работе использовали отечественные сырье, материалы и реактивы, прошедшие входной контроль и отвечающие требованиям ГОСТов, ОСТов, ТУ и статей Государственной фармакопеи РФ [6]. Испытанию подверглись серии сибиреязвенной вакцины на основе *Bacillus anthracis* штамма СТИ-1, приготовленные в НИЦ (г. Киров) ФГБУ 48 ЦНИИ Минобороны России в соответствии с ПР 08461522-26-19 «Промышленный регламент на производство вакцины сибиреязвенной живой, лиофилизата для приготовления суспензии для подкожного введения и кожного скарификационного нанесения» и капсулированные по разработанной технологии. Для оценки иммуногенности использовали штаммы *B. anthracis* 71/12 (вторая вакцина Ценковского) и Ч-7. При выполнении исследований задействовано штатное оборудование и приборы аппаратурно-технологической линии по выпуску сибиреязвенной вакцины согласно спецификации

оборудования, изложенной в ПР 08461522-26-19. Для получения нативной споровой культуры штамма *B. anthracis* СТИ-1 использовали ферментер БИОР-0,1 (г. Кириши), концентрированной споровой суспензии – установку тангенциальной фильтрации АСФ-020 (г. Владимир). Лيوфильное высушивание осуществляли на установке АЛСУ-3200 М (г. Йошкар-Ола), капсулирование вакцины осуществляли при помощи капсулятора УКРП-100-МС (Беларусь). Все технологическое оборудование и средства измерения проходили ведомственную поверку с установленной периодичностью. Изучение и оценку биологических и физико-химических характеристик контрольных серий вакцин и их полуфабрикатов проводили в соответствии с требованиями методик по контролю качества (ПР 08461522-26-19 и [6]).

В исследованиях использовались аутобредные морские свинки массой 250–300 г и кролики массой 2,0–2,5 кг, которых содержали в соответствии с нормами и правилами, указанными в [7]. В работе использовались математические и статистические методы исследований [8].

Результаты экспериментальных исследований представлены в виде средних арифметических значений ($\bar{X}$) с определением доверительного интервала при уровне вероятности 95 %.

Результаты и обсуждение

Конструирование пероральных вакцин основывается на принципах и подходах, учитывающих механизм пероральной иммунизации, характер вакцинального процесса, биологические и физико-химические свойства антигена, анатомо-физиологические особенности пищеварительного тракта [9–11].

Для пероральной иммунизации экспериментально отработана схема введения препарата исходя из особенностей антигена (живая вакцина СТИ), а также зависимости от приема пищи. Лабораторных

животных всегда иммунизировали однократно за 3 часа до приема корма.

При конструировании препарата прежде всего учитывали локализацию «входных ворот» антигена (вакцинного штамма), которыми в нашем случае являлся кишечник, имеющий большую поверхность слизистой оболочки и разветвленную сеть лимфатических узлов. Выбрав энтеральную форму препарата, мы провели исследования по определению времени распадаемости капсул в искусственном желудочном соке, с тем чтобы оценить качество примененного покрытия и получить представление о судьбе препарата при его поступлении в желудок и кишечник.

Для решения этого вопроса проведена серия опытов *in vitro*, в которых определяли устойчивость спор вакцинного штамма к слюне, желудочному соку, желчи и трипсину. При выполнении экспериментов использовали человеческую слюну, коммерческий желудочный сок, желчь и кристаллический трипсин, разведенный в дистиллированной воде. Ввиду того, что слюна содержит большое количество посторонней микрофлоры, оценку количества живых спор вакцинного штамма проводили путем посева на диагностическую среду, которая содержала в качестве питательной основы ферментативный гидролизат казеина, фенолфталеинфосфат натрия и полимиксина сульфат (МУК 4.2.2413-08 «4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы»). Колонии штамма *B. anthracis* СТИ-1 при выращивании на этой среде имели серую окраску, а посторонняя микрофлора – белую, кремовую или ярко-розовую. В ходе экспериментов по 1 мл регидратированной культуры вакцинного штамма смешивали с 4 мл каждой из агрессивных сред. Приготовленные образцы инкубировали при температуре 37 °С в течение 4 часов. Результаты экспериментов представлены в табл. 1.

Результаты экспериментов (табл. 1) свидетельствовали о том, что только слюна не обладает инактивирующим действием на споры штамма СТИ-1,

Таблица 1 / Table 1

Устойчивость спор вакцинного штамма СТИ-1 к действию секретов желудочно-кишечного тракта ($\bar{X}$, n=3)

Resistance of the vaccine strain STI-1 spores to the effect of gastrointestinal tract secretions ($\bar{X}$, n=3)

Секрет (фермент) Secretion (enzyme)	Концентрация живых спор на ... час инкубирования, млрд спор/мл Concentration of live spores per ... hour of incubation, billion spores/ml		Доля инактивации, % Rate of inactivation, %
	0	4	
Слюна Saliva	1,0	1,0	0,0
Коммерческий желудочный сок Commercial gastric acid	0,9	0,4	55,5
Раствор трипсина Trypsin solution	1,1	0,5	54,5
Желчь Bile	1,0	0,6	40,0

Примечание: n – количество опытов.

Note: n – number of experiments.

тогда как все остальные вещества существенно снижают их биологическую концентрацию. Тактику пероральной иммунизации при сибиреязвенной инфекции строили с учетом способности вакцинного штамма при введении в желудочно-кишечный тракт противостоять имеющимся там неблагоприятным условиям, сохраняя свою антигенность и способность проникать за пределы этого тракта, размножаться и достигать иммунокомпетентных тканей и клеток [9, 12]. Желудочно-кишечный тракт имеет мощные защитные барьеры, к которым относятся плотный эпителиальный покров (механическая защита), секреция ферментов, соляной кислоты, желчи (физико-химическая защита), скопление лимфоидной ткани и клеточных элементов по ходу и в стенке кишечника (иммунологическая защита) [12]. Именно этим объясняется тот факт, что для эффективной пероральной иммунизации необходима гораздо большая иммунизирующая доза вакцины [5].

Оценку эффективности пероральной вакцинации против сибирской язвы первоначально проводили в опытах на морских свинках (20 животных на каждую дозу), в пищевод которых затруднительно ввести капсулы даже самого меньшего размера. Поэтому лабораторным животным перорально вводили в пищевод с помощью шприца со специальной насадкой различные дозы регидратированной живой сибиреязвенной вакцины СТИ. Первой контрольной группе животных вакцину вводили подкожно в дозе 50 млн спор (одна человеко-доза), а второй контрольной группе вакцину не вводили. На 21-е сутки после иммунизации всех животных заражали тест-штаммом *B. anthracis* 71/12 (вторая вакцина Ценковского) в дозе 30 ЛД₅₀. За животными наблюдали в течение 10 дней. Результаты исследований представлены в табл. 2.

Полученные данные (табл. 2) свидетельствовали о том, что пероральное введение регидратированной живой сибиреязвенной вакцины СТИ (в дозах $100 \cdot 10^6$ и $500 \cdot 10^6$ спор) защищало от гибели не

менее 6 и 15 % морских свинок соответственно. Все животные второй контрольной группы погибли на 4–5-е сутки, а доля выживших животных, вакцинированных подкожно (первая контрольная группа), составила не менее 70 %. Эти результаты полностью согласуются с данными ряда авторов, показавших, что доза антигена в пероральном препарате должна быть значительно выше, чем в аналогичных препаратах для парентерального применения [5, 9, 10].

Дальнейшие исследования были направлены на определение эффективной пероральной иммунизирующей дозы для лабораторных животных. Вакцинацию и заражение морских свинок проводили так же, как в предыдущем эксперименте (20 животных на каждую дозу). Дозу вводимой вакцины определяли высеvom на чашки Петри. Результаты исследований представлены в табл. 3.

Из результатов табл. 3 следует, что регидратированная живая сибиреязвенная вакцина, введенная перорально в дозе 12 млрд живых спор, защищает от гибели не менее 78 % животных. Во всех дальнейших исследованиях эффективная иммунизирующая доза регидратированной живой сибиреязвенной вакцины СТИ определялась высеvom на чашки Петри. Таким образом, определена эффективная иммунизирующая доза регидратированной живой сибиреязвенной вакцины СТИ для морских свинок, равная 12 млрд живых спор, обеспечивающая защиту лабораторных животных на уровне подкожной иммунизации. Исходя из полученных результатов, можно констатировать, что пероральная доза живой сибиреязвенной вакцины СТИ должна быть не менее чем в 200 раз больше подкожной дозы.

На основании экспериментально-теоретических исследований сделан вывод о том, что наиболее приемлемой лекарственной формой для получения энтеральной сибиреязвенной вакцины являются капсулы, которые представляют собой современный вид упаковки порошков. Капсулы – дозированные лекарственные формы, представляющие собой оболочку,

Таблица 2 / Table 2

Эффективность пероральной иммунизации морских свинок споровой суспензией штамма *B. anthracis* СТИ-1 (n=5)

The effectiveness of oral immunization of guinea pigs with a spore suspension of the strain *B. anthracis* STI-1 (n=5)

Иммунизирующая доза, спор Immunizing dose, spores	Способ введения Route of administration	Доля выживших животных, ($\bar{X} \pm I_{95}$), % Proportion of surviving animals, ($\bar{X} \pm I_{95}$), %
50·10 ⁶ по БК 50·10 ⁶ according to BC	Перорально Orally	0
100·10 ⁶ по БК 100·10 ⁶ according to BC	Перорально Orally	8±2
500·10 ⁶ по БК 500·10 ⁶ according to BC	Перорально Orally	17±2
Контроль 1 (50·10 ⁶) по ОК Control 1 (50·10 ⁶) according to TC	Подкожно Subcutaneously	72±2
Контроль 2 Control 2	Не вводили No inoculation	0

Примечание: ОК – общая концентрация спор; БК – биологическая концентрация спор; n – количество опытов.

Note: TC – total concentration of spores; BC – biological concentration of spores; n – number of experiments.

Таблица 3 / Table 3

Определение эффективной иммунизирующей дозы при пероральной вакцинации морских свинок суспензией спор штамма *B. anthracis* СТИ-1 (n=5)

Determination of an effective immunizing dose for oral vaccination of guinea pigs with a spore suspension of the strain *B. anthracis* STI-1 (n=5)

Иммунизирующая доза, спор Immunizing dose, spores	Способ введения Route of administration	Доля выживших животных, ($\bar{X} \pm I_{95}$), % Proportion of surviving animals, ($\bar{X} \pm I_{95}$), %	Среднее время гибели, сутки Average time of death, day
2,0·10 ⁹ по БК 2,0·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	35,0±2,0	3,5
5,5·10 ⁹ по БК 5,5·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	40,0±3,0	4,0
8,0·10 ⁹ по БК 8,0·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	75,0±3,0	4,5
10,8·10 ⁹ по БК 10,8·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	75,0±3,0	5,8
12,0·10 ⁹ по БК 12,0·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	80,0±2,0	6,0
50,0·10 ⁶ по ОК 50,0·10 ⁶ according to TC	Подкожно Subcutaneously	75,0±3,0	4,7
Контроль Control	Не вводили No inoculation	0	3,5

Примечание: ОК – общая концентрация спор; БК – биологическая концентрация спор; n – количество опытов.

Note: TC – total concentration of spores; BC – biological concentration of spores; n – number of experiments.

в основном из желатина, заполненную вакцинным препаратом в количестве, равном индивидуальной дозе, которые имеют несколько преимуществ (маскируют неприятный вкус, запах, позволяют порошкам одновременно быть в компактной, но не спрессованной форме и т.д.). Российская промышленность выпускает твердые желатиновые капсулы разных стандартных типоразмеров.

В дальнейших исследованиях нами использованы кишечнорастворимые капсулы, покрытые оболочкой, устойчивой к действию желудочного сока, или полученные с использованием веществ, устойчивых к воздействию желудочного сока. В результате проведенных экспериментальных исследований установлено, что именно капсулы размером 0 вмещают необходимый объем вакцины СТИ, содержащий 8–12 млрд живых спор.

Отработанный нами процесс капсулирования лиофилизированной сибирезвеной вакцины СТИ включал следующие стадии:

- подготовительная (подготовка рабочего места, расчеты, оформление технологической документации);

- приготовление лиофилизированного порошка;
- расфасовка порошка в капсулы;
- упаковка, маркировка;
- контроль качества готовой продукции.

Капсулы укладывали во флаконы из полиэтилентерефталата. Контроль качества проводили в соответствии с [6].

Дальнейшие исследования были направлены на уточнение данных по определению эффективной иммунизирующей дозы капсулированной вакцины, так как морским свинкам практически невозможно ввести вакцину, заключенную в капсулы, из-за малого

диаметра их пищевода. В качестве наиболее подходящей лабораторной модели выбраны кролики (по 20 животных на каждую дозу). Животных вакцинировали перорально разными дозами вакцины, заключенной в твердые желатиновые кишечнорастворимые капсулы. В качестве положительного контроля использовали кроликов, вакцинированных подкожно вакциной СТИ в дозе 50 млн спор. Отрицательным контролем служили животные, которым вакцина не вводилась. Через 21 сутки после вакцинации всех животных заражали подкожно культурой высоковирулентного тест-штамма *B. anthracis* Ч-7 в дозе 30 ЛД₅₀. Результаты этих исследований представлены в табл. 4.

Из полученных результатов (табл. 4) следует, что пероральная иммунизация капсулированной вакциной СТИ в дозах 8–12 млрд живых спор не уступает по своей эффективности подкожной иммунизации в дозе 50 млн, что соответствует медико-биологическим требованиям, которые декларируют, что у вакцинированных животных препарат должен обеспечивать защитный эффект не менее чем у 70 % животных [11]. Среднее время гибели лабораторных животных, за которое погибает 50 % животных после заражения их высоковирулентным тест-штаммом *B. anthracis* Ч-7, при пероральной вакцинации было практически таким же, как и при подкожной вакцинации.

Дальнейшие исследования были направлены на подтверждение полученных данных об эффективной пероральной иммунизирующей дозе живой сибирезвеной вакцины СТИ, помещенной в капсулы.

Кроликов (20 животных) иммунизировали перорально тремя сериями вакцины, заключенной в твердые желатиновые кишечнорастворимые капсулы.

Таблица 4 / Table 4

Определение эффективной иммунизирующей дозы при пероральной вакцинации кроликов суспензией спор штамма *B. anthracis* СТИ-1 ($\bar{X}$, n=3)

Determination of an effective immunizing dose for oral vaccination of rabbits with a spore suspension of the strain *B. anthracis* STI-1 ($\bar{X}$, n=3)

Иммунизирующая доза, спор Immunizing dose, spores	Способ введения Route of administration	Доля выживших животных, ($\bar{X} \pm I_{95}$), % Proportion of surviving animals, ($\bar{X} \pm I_{95}$), %	Среднее время гибели, сутки Average time of death, day
3,0·10 ⁹ по БК 3,0·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	40,0±2,0	5,0
6,0·10 ⁹ по БК 6,0·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	65,0±4,0	5,0
8,0·10 ⁹ по БК 8,0·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	75,0±2,0	4,8
12,0·10 ⁹ по БК 12,0·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	80,0±4,0	5,3
50·10 ⁶ по ОК 50·10 ⁶ according to TC	Подкожно Subcutaneously	75,0±2,0	4,8
Контроль Control	Не вводили No inoculation	0	3,1

Примечание: ОК – общая концентрация спор; БК – биологическая концентрация спор; n – количество опытов.

Note: TC – total concentration of spores; BC – biological concentration of spores; n – number of experiments.

В качестве положительного контроля использовали животных, вакцинированных подкожно вакциной СТИ в дозе 50 млн спор. Отрицательным контролем служили невакцинированные животные. Через 21 сутки после вакцинации всех животных заражали подкожно культурой высоковирулентного тест-штамма *B. anthracis* Ч-7 в дозе 30 ЛД₅₀. Результаты проведенных исследований (табл. 5) показали, что пероральная иммунизация капсулированной вакциной СТИ в дозах 8–12 млрд живых спор не уступает по своей эффективности подкожной иммунизации в дозе 50 млн спор и защищает не менее 72 процентов лабораторных животных.

Заключительные исследования посвящены изучению специфической безопасности живой сибиреязвенной вакцины СТИ для перорального применения, которое проводили на кроликах. С этой целью четырех кроликов перед введением препарата термометрировали и взвешивали ежедневно в течение 3 суток и за 30 минут до анализа (нулевая проба). Затем двум животным шприцем подкожно в область внутренней поверхности бедра вводили по 250 млн спор вакцины. Одновременно с подкожным введением препарата проводилось пероральное введение вакцины в дозе 11,4 млрд живых спор двум другим кроликам. Наблюдение за всеми животными

Таблица 5 / Table 5

Оценка иммуногенности вакцины живой сибиреязвенной СТИ для перорального применения (n=3)

Evaluation of the immunogenicity of the live anthrax vaccine STI for oral administration (n=3)

Препарат Drug	Вакцинирующая доза, спор Vaccination dose, spores	Способ введения Route of administration	Доля выживших животных, ($\bar{X} \pm I_{95}$), % Proportion of surviving animals, ($\bar{X} \pm I_{95}$), %
Вакцина живая сибиреязвенная СТИ для перорального применения (серия № 1) Live anthrax vaccine STI for oral administration (series 1)	12,2·10 ⁹ по БК 12,2·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	80,0±2,0
Вакцина живая сибиреязвенная СТИ для перорального применения (серия № 2) Live anthrax vaccine STI for oral administration (series 2)	11,4·10 ⁹ по БК 11,4·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	75,0±3,0
Вакцина живая сибиреязвенная СТИ для перорального применения (серия № 3) Live anthrax vaccine STI for oral administration (series 3)	8,0·10 ⁹ по БК 8,0·10 ⁹ according to BC	Перорально Orally	75,0±2,0
Вакцина живая сибиреязвенная СТИ Live anthrax vaccine STI	50,0·10 ⁶ по ОК 50,0·10 ⁶ according to TC	Подкожно Subcutaneously	75,0±2,0
Контроль Control	0	Не вводили No inoculation	0

Примечание: ОК – общая концентрация спор; БК – биологическая концентрация спор; n – количество опытов.

Note: TC – total concentration of spores; BC – biological concentration of spores; n – number of experiments.

ми вели в течение 10 суток, ежедневно контролируя температуру и массу тела животных. По окончании срока наблюдения все кролики были здоровы, снижения массы тела не отмечалось. Повышение температуры тела в течение 2 суток после введения препаратов не превышало 1 °С. Результаты проведенных исследований показали, что пероральное введение сибиреязвенной вакцины СТИ в дозе, превышающей более чем в 200 раз подкожную дозу, безвредно для лабораторных животных.

На впервые разработанный пероральный способ вакцинопрофилактики сибирской язвы в 2020 г. получен патент на изобретение [13].

Таким образом, разработан метод пероральной иммунизации, которая является самым физиологичным и массовым способом приобретения специфической устойчивости к сибиреязвенной инфекции. Требуется дальнейшие исследования в плане тактики применения и уточнения доз для человека.

При конструировании препарата сибиреязвенной вакцины прежде всего учитывали локализацию «входных ворот» вакцинного штамма – тонкий отдел кишечника. Основные исследования были направлены на поиск эффективной пероральной иммунизирующей дозы живой сибиреязвенной вакцины СТИ, помещенной в капсулы. Результаты изучения пероральной иммунизации на лабораторных животных показали ее высокую эффективность при сибиреязвенной инфекции. Впервые экспериментально показано, что пероральная доза сибиреязвенной вакцины, равная 8–12 млрд живых спор, обеспечивает защиту не менее 70 % лабораторных животных, зараженных тест-штаммами сибиреязвенного микроба в дозе 30 ЛД₅₀. Разработанная лабораторная технология приготовления вакцины позволяет получать готовый препарат в виде кишечнорастворимых капсул, содержащих одну прививочную дозу пероральной вакцины для кроликов.

Изучение специфической безопасности позволило заключить, что она находится на уровне подкожного способа введения вакцинного препарата.

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

Список литературы

1. Алпатова Н.А., Авдеева Ж.И., Гайдерова С.Л., Лысикова С.Л., Медуницын Н.В. Иммуный ответ при иммунизации противовирусными вакцинами. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2020; 20(1):21–9. DOI: 10.30895/2221-996X-2020-20-1-21-29.
2. Воробьев А.А., Лебединский В.А. Массовые способы иммунизации. М.: Медицина; 1977. 255 с.
3. Shakya K.P., Huq-Jones M.E., Elzer Ph.H. Evaluation of immune response to orally administered Sterne strain 34F2 anthrax vaccine. *Vaccine*. 2007; 25(29):5374–7. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.05.003.
4. Benn Felix J., Chaki S.P., Xu Y., Ficht T.A., Rice-Ficht A.C., Cook W.E. Protective antibody response following oral vaccination with microencapsulated *Bacillus anthracis* Sterne strain 34F2 spores. *NPJ Vaccines*. 2020; 5:59. DOI: 10.1038/s41541-020-0208-3.
5. Микшис Н.И., Попова П.Ю., Семакова А.П., Кутырев В.В. Лицензированные сибиреязвенные вакцины и экспериментальные препараты на стадии клинических исследований. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2017; 4:112–26. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-4-112-126.

6. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Ч. 2. М.; 2021.
7. Белозерцева И.В., Блинов Д.В., Красильщикова М.С., редакторы. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных: пер. с англ. Изд. 8. М.: ИРБИС; 2017. 304 с.
8. Кремер Н.Ш. Теория вероятностей и математическая статистика. 10.4. Проверка гипотез о равенстве долей признака в двух и более совокупностях. М.; 2004. С. 360–3.
9. Воробьев А.А. Теоретические и практические аспекты проблемы пероральной иммунизации на современном этапе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1973; 7:3–15.
10. Мешалова А.Н. Теоретические основы и принципы конструирования энтеральных вакцин. М.: Медицина; 1974. 199 с.
11. Онищенко Г.Г., Дармов И.В., Борисевич С.В., редакторы. Сибирская язва: актуальные проблемы разработки внедрения медицинских средств защиты. Сергеев Посад; 2018. 592 с.
12. Покровский В.М., Коротко Г.Ф., редакторы. Физиология человека. М.: Медицина; 2003.
13. Шевцов А.Н., Пермяков С.А., Кузнецовский А.В., Коротышев О.В., Бирюков В.В., Боровской Д.В. Пероральный способ вакцинопрофилактики сибирской язвы. Патент РФ № 2712133, опубл. 24.01.2020. Бюл. № 3.

References

1. Alpatova N.A., Avdeeva Z.I., Gayderova L.A., Lysikova S.L., Medunitsyn N.V. [Immune response induced by immunisation with antiviral vaccines]. *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie* [BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment]. 2020; 20(1):21–9. DOI: 10.30895/2221-996X-2020-20-1-21-29.
2. Vorob'ev A.A., Lebedinsky V.A. Methods of Mass Immunization. Moscow: "Medicine"; 1977. 255 p.
3. Shakya K.P., Huq-Jones M.E., Elzer Ph.H. Evaluation of immune response to orally administered Sterne strain 34F2 anthrax vaccine. *Vaccine*. 2007; 25(29):5374–7. DOI: 10.1016/j.vaccine.2007.05.003.
4. Benn Felix J., Chaki S.P., Xu Y., Ficht T.A., Rice-Ficht A.C., Cook W.E. Protective antibody response following oral vaccination with microencapsulated *Bacillus anthracis* Sterne strain 34F2 spores. *NPJ Vaccines*. 2020; 5:59. DOI: 10.1038/s41541-020-0208-3.
5. Mikshis N.I., Popova P.Yu., Semakova A.P., Kutyrev V.V. [Licensed anthrax vaccines and experimental drugs at the stage of clinical trials]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2017; (4):112–26. DOI: 10.36233/0372-9311-2017-4-112-126.
6. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV Edition]. Part 2. Moscow; 2021.
7. Belozertseva I.V., Blinov D.A., Krasil'shchikova M.S., editors. [Guidelines on the Maintenance and Use of Laboratory Animals]. Translated from English. Eighth Edition. Moscow: IRBIS; 2017. 304 p.
8. Kremer N.Sh. [Theory of Probability and Mathematical Statistics. 10.4. Verification of Hypotheses about the Equality of the Feature Shares in Two or More Populations]. Moscow; 2004. P. 360–3.
9. Vorob'ev A.A. [Theoretical and practical aspects of the problem of oral immunization at the present stage]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 1973; (7):3–15.
10. Meshalova A.N. [Theoretical Foundations and Principles of Design of Enteral Vaccines]. Moscow: "Medicine"; 1974. 199 p.
11. Onishchenko G.G., Darmov I.V., Borisevich S.V., editors. [Anthrax: Topical Issues of Development, Implementation of Medical Remedies]. Sergiev Possad; 2018. 592 p.
12. Pokrovsky V.M., Korot'ko G.F., editors. [Human Physiology]. Moscow: "Medicine"; 2003.
13. Shevtsov A.N., Permyakov S.A., Kuznetsovsky A.V., Korotyshev O.V., Biryukov V.V., Borovskoy D.V. [Oral method of preventive vaccination against anthrax]. RF Patent No. 2712133, publ. Jan 24, 2020. Bulletin No. 3.

Authors:

Shevtsov A.N., Permyakov S.A., Khapaev N.G., Ziganshin R.Sh. Affiliated Branch of the "48th Central Research Institute" of the Ministry of Defense of the Russian Federation. 119, Oktyabrsky Avenue, Kirov, 610000, Russian Federation. E-mail: 23527@mail.ru.

Об авторах:

Шевцов А.Н., Пермяков С.А., Хапаев Н.Г., Зиганшин Р.Ш. Филиал ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны Российской Федерации (г. Киров). Российская Федерация, 610000, Киров, Октябрьский пр-т, 119. E-mail: 23527@mail.ru.

Памяти Алексея Константиновича Адамова

9 марта 2023 г. на 95-м году жизни скончался старейший сотрудник института «Микроб» Алексей Константинович Адамов – известный ученый, организатор и педагог, доктор медицинских наук, профессор, участник Великой Отечественной войны, член Академии медико-технологических наук РФ, член-корреспондент Академии технологических наук РФ, заслуженный изобретатель РФ, член Российского философского общества.



Алексей Константинович – кадровый военный, окончил Военно-морскую медицинскую академию и адъюнктуру при кафедре эпидемиологии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова в 1959 г. До 1963 г. он служил на Военно-морском флоте и в сухопутных войсках. В 1962 г. защитил докторскую диссертацию в диссертационном совете при институте «Микроб», в 1967 г. в звании подполковника медицинской службы уволен в запас и назначен на должность заместителя директора по научной работе института «Микроб», которую занимал до 1972 г.

В институте «Микроб» он организовал лабораторию микробиологии и иммунологии холеры, которой заведовал до 1996 г. Основными направлениями деятельности лаборатории являлись разработка и совершенствование методов лабораторной диагностики холеры и создание новых диагностических и профилактических препаратов. С 1996 г. А.К. Адамов работал в должности главного научного сотрудника лаборатории патогенных вибрионов.

Под непосредственным руководством А.К. Адамова проведены полномасштабные противоэпидемические и профилактические мероприятия в очагах

холеры на территории СССР в Фирюзе (1969), Астрахани (1970) и Керчи (1970). Много лет Алексей Константинович посвятил теоретическому обоснованию и разработке искусственно-клеточных вакцин. А.К. Адамовым и его школой разработано свыше 100 новых видов препаратов (из которых 71 зарегистрирован в качестве изобретений), а также более 50 рационализаторских предложений. Большинство из них внедрено в производство и практику.

А.К. Адамовым опубликовано почти 500 статей, 12 монографий по микро-

биологии, иммунологии, эпидемиологии и экологии. С 1990 г. он активно занимался вопросами ноосферологии и ноосферной философии, опубликовал ряд монографий по этой тематике.

Алексей Константинович воспитал целую плеяду талантливых молодых ученых, продолжающих дело его жизни. Под его руководством выполнены и успешно защищены более 20 кандидатских и докторских диссертаций. Алексей Константинович внес существенный вклад в создание и развитие журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

А.К. Адамов до последних дней своей жизни занимал активную жизненную позицию: читал лекции в общественных организациях, школах, сотрудничал с Музеем боевой и трудовой славы, работал внешним совместителем на кафедре философии Поволжского института управления им. П.А. Столыпина.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций» выражают глубокие соболезнования семье и близким Алексея Константиновича Адамова.

Памяти Виктора Егоровича Безмертного

8 марта 2023 г. на 80-м году жизни скончался Виктор Егорович Безмертный, кандидат медицинских наук, с 2003 по 2018 г. возглавлявший Противочумный центр Роспотребнадзора, а затем – отдел биологической безопасности ПЧЦ. Система противочумных учреждений Российской Федерации понесла невосполнимую потерю: ушел из жизни достойнейший ее представитель, крупный специалист-чумолог и организатор здравоохранения.

Вся профессиональная деятельность Виктора Егоровича была связана с санитарно-эпидемиологической службой. Он занимался вопросами противоэпидемического обеспечения в чрезвычайных ситуациях, биологической безопасности при работе с ПБА. Много внимания В.Е. Безмертный уделял организационно-методическому руководству деятельности противочумных станций, развитию и укреплению их материально-технической базы.

Виктор Егорович был автором и соавтором ряда практических руководств и монографий, он участвовал в подготовке проектов многих



нормативно-методических документов федерального уровня, был членом Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации, входил в состав редакционного совета журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

Виктора Егоровича ценили за высокий профессионализм, творческую инициативу, научный кругозор, богатейший опыт и трудолюбие. Своей интеллигентностью, доброжелательностью и порядочностью в отношениях с людьми

он снискал большое уважение среди коллег.

Заслуги В.Е. Безмертного перед Отечеством высоко отмечены Роспотребнадзором, региональными и городскими органами власти. Указом Президента Российской Федерации он награжден орденом Пирогова.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций» выражают глубокие соболезнования семье и близким Виктора Егоровича, его друзьям и коллегам.

Правила для авторов

При направлении статьи в редакцию журнала «Проблемы особо опасных инфекций» следует соблюдать следующие правила:

1. Электронная версия статьи высылается через сайт журнала, по электронной почте или СЭД на адрес ФКУН Российский противочумный институт «Микроб». Оригинал статьи с подписями всех авторов и сопроводительные документы высылаются на почтовый адрес редакции: 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46. Каждая статья должна иметь направление от учреждения, в котором она выполнена, экспертное заключение, лицензионный договор о предоставлении права использования произведения и согласие авторов на обработку данных.

2. Размер статей (включая таблицы, рисунки, резюме и список литературы) не должен превышать у оригинальных – 12 с. (шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12, межстрочный интервал – 1,5, поля – по 2 см), обзоров – 20 с., кратких сообщений – 6 с. Краткие сообщения не должны содержать таблицы и рисунки.

3. Оригинальная статья должна состоять из разделов: цель исследования, материалы и методы, результаты и обсуждение. Обзоры должны быть структурированы на разделы: цель, разделы по содержанию обзора, заключение.

4. К статьям должны прилагаться резюме и ключевые слова на русском и английском языках. У оригинальных статей резюме должно содержать от 200 до 250 слов и состоять из разделов: цель, материалы и методы, результаты и обсуждение. Использование сокращений и условных обозначений в резюме не рекомендуется. Для кратких сообщений объем резюме – 150 слов. Для обзоров резюме должно включать краткое изложение основной концепции статьи. После резюме приводятся ключевые слова или словосочетания на русском и английском языках (не более 8) в порядке значимости.

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). Если авторов несколько, у каждой фамилии и соответствующего учреждения приводятся цифровой индекс. Корреспондирующий автор должен указать персональные контактные данные для редакции (адрес личной электронной почты и телефон). Все авторы должны указать свой идентификационный код автора научных трудов (*ORCID*).

В конце статьи должно быть приведено заявление об отсутствии/наличии конфликта финансовых либо иных интересов, связанных с написанием статьи. Заявление об отсутствии конфликта интересов может быть сформулировано следующим образом: авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи. Если статья была написана в результате работы, которая финансировалась из дополнительных источников (грант, контракт, ФЦП и т.д.), это должно быть указано в конце статьи.

6. Если в работе имело место участие животных или людей как объектов исследования, авторы должны указать в рукописи, что все стадии исследования соответствовали законодательству РФ, международным этическим нормам и нормативным документам учреждения, а также одобре-

ны соответствующими комитетами. В рукописи должно быть четко отражено, что от всех людей, ставших объектами исследований, получено информированное согласие.

7. Количество иллюстраций и таблиц не должно превышать 5 (либо 5 рис., либо 5 табл., либо 5 в совокупности). Иллюстрации необходимо вставить в текст статьи после ссылки на них, а также приложить файл в формате tif или pdf. Рисунки должны быть четкими. Количество обозначений должно быть сведено к минимуму. Все объяснения следует давать в подрисуночной подписи на русском и английском языках. Текст внутри рисунка также должен быть на двух языках – русском и английском.

8. Таблицы не должны дублировать графики, должны иметь краткое название, быть компактными, с шапками, точно отражающими содержание графа, весь материал должен быть продублирован на английском языке. Данные в таблицах должны быть статистически обработаны. Цифровой материал из таблиц не должен повторяться в тексте статьи.

9. Названия таблиц и рисунков, подрисуночные подписи должны быть переведены на английский язык.

12. Фамилии иностранных авторов при упоминании в тексте статьи даются в иностранной транскрипции.

10. В списке литературы (в оригинальных статьях – не более 25 источников, проблемных и обзорах – не более 60, кратких сообщениях – не более 10) приводятся работы отечественных и зарубежных авторов за последние 10 лет в порядке упоминания в тексте (независимо от языка, на котором дана работа), а не по алфавиту. В тексте дается ссылка на порядковый номер списка (в квадратных скобках), а не на фамилию и годы.

Требования к оформлению списка литературы представлены на сайте журнала: <https://journal.microbe.ru/jour/about/submissions#authorGuidelines>.

Количество ссылок на собственные работы (самоцитирование) – не более трех. Под самоцитированием подразумевается цитирование не только первого, но и каждого из соавторов статьи.

11. Требования к электронным вариантам статей: файлы с текстом и подрисуночными подписями должны быть в формате .doc; рисунки и фотографии – в отдельных файлах в формате tiff или jpg (разрешение – 300 пикс/дюйм); диаграммы и графики должны быть выполнены в программе Excel (в отдельных файлах в формате xls).

12. При невыполнении настоящих правил статьи не принимаются и отсылаются авторам на дооформление.

13. Редакция оставляет за собой право редактировать статьи, сокращать или исправлять, а также публиковать их в виде кратких сообщений. Вся работа проводится по авторскому оригиналу. После сокращения статья направляется на согласование автору.

14. Присланные в редакцию статьи проверяются системой «Антиплагиат», проходят рецензирование в соответствии с требованиями ВАК РФ. Рецензии, содержащие замечания, высылаются авторам. Фамилии рецензентов не разглашаются.

15. В случае отклонения статьи по рецензии редакция направляет автору мотивированный отказ.

16. Публикация – бесплатная.