

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 3

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. 3. 170 с.

Подписано в печать 25.09.2023
Формат 60×84 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 19,8
Заказ № 4120-23

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 (Оболensk, 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,
иностранн. 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 (Оболensk, 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 3

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)

Mikerv 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>

Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Смоленский В.Ю., Летюшев А.Н., Трескин А.А., Иванова А.В., Сафронов В.А., Зубова А.А., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Щербак С.А., Кутырев В.В. Автоматизированная информационная система «Периметр» – инструмент для модернизации информационного и технического обеспечения санитарно-карантинного контроля	6
---	---

Обзоры

Германт О.М., Ушакова Е.В., Демина Ю.В., Ахметшина М.Б. Современные средства индивидуальной защиты людей от кровососущих членистоногих	15
Найденова Е.В., Захаров К.С., Блинова К.Д., Швиденко И.Г., Бойко А.В., Щербак С.А. Вирус Усуту (<i>Flaviviridae</i> , <i>Orthoflavivirus</i>). Потенциальная опасность и возможность распространения на территории Российской Федерации	22
Рубис Л.В. Распространение вируса Синдбис в Фенноскандии	33
Транквилевский Д.В., Киселева Е.Ю., Корзун В.М., Бренёва Н.В., Вержущая Ю.А., Зарва И.Д., Скударева О.Н., Балахонов С.В. Эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по лептоспирозам в Российской Федерации в период с 2013 по 2022 г. и прогноз на 2023 г.	43

Оригинальные статьи

Balde T.A.L., Ostankova Yu.V., Boumbaly S., Valutite D.E., Davydenko V.S., Shchemelev A.N., Serikova E.N., Zueva E.B., Anufrieva E.V., Astapchik E.V., Arbutova O.V., Skvoroda V.V., Vasileva D.A., Esaulenko E.V., Semenov A.V., Totolian Areg A. Распространенность маркеров некоторых гемоконтактных вирусных инфекций у беременных женщин и их партнеров в Гвинейской Республике	51
Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Цимбалистова М.В., Пичурина Н.Л., Сорокин В.М., Павлович Н.В., Носков А.К. Сравнительный молекулярно-генетический анализ штаммов <i>Francisella tularensis</i> , изолированных в Ростовской области в 2020 г., и последовательностей геномов штаммов, выделенных в различных регионах мира	59
Галеева А.Г., Хаммадов Н.И., Ефимова М.А. Биоинформатический анализ иммунодоминантных пептидов вируса бешенства (<i>Rabies lyssavirus</i> , <i>Rhabdoviridae</i>)	66
Дуванова О.В., Подойницына О.А., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Шипко Е.С., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., Носков А.К. Алкилсульфатаза холерных вибрионов	73
Егоров И.А., Смирнова С.С., Мищенко В.А., Вялых И.В., Маркарян А.Ю., Жуikov Н.Н., Аверьянов О.Ю., Смирнова В.А., Большакова А.Н., Алферов С.Ю., Бабанова А.В., Киячина А.С., Пушкарёва Н.А., Семенов А.В. Пандемия COVID-19: влияние мер специфической и неспецифической профилактики на риск заражения SARS-CoV-2 у работников медицинских организаций	80
Зимирова А.А., Куклев В.Е., Сафронов В.А., Куклев Е.В., Вяткин И.Н. Оценка эпидемиологической эффективности временного перевода учащихся на дистанционное обучение в период распространения COVID-19 на примере Саратовской области	87
Логвин Ф.В., Семенова О.В., Рязанова А.Г., Жарникова И.В., Аксенова Л.Ю., Русанова Д.В., Курчева С.А., Старцева О.Л., Геогджаян А.С., Куличенко А.Н. Оценка эффективности использования магнитоиммунсорбентов для селективного концентрирования спор возбудителя сибирской язвы	93

Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Smolensky V.Yu., Letyushev A.N., Treskin A.A., Ivanova A.V., Safronov V.A., Zubova A.A., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. The Automated Information System "Perimeter" is a Tool for the Modernization of Information and Technical Support of Sanitary and Quarantine Control	6
--	---

Reviews

Germant O.M., Ushakova E.V., Demina Yu.V., Akhmetshina M.B. Modern Means of Personal Protection of People from Bloodsucking Arthropods	15
Naidenova E.V., Zakharov K.S., Blinova K.D., Shvidenko I.G., Boiko A.V., Shcherbakova S.A. Usutu Virus (<i>Flaviviridae</i> , <i>Orthoflavivirus</i>). Potential Danger and Possibility of Spread on the Territory of the Russian Federation	22
Rubis L.V. Spread of the Sindbis Virus in Fennoscandia	33
Trankvilevsky D.V., Kiseleva E.Yu., Korzun V.M., Breneva N.V., Verzhutskaya Yu.A., Zarva I.D., Skudareva O.N., Balakhonov S.V. Epizootiological and Epidemiological Situation on Leptospirosis in the Russian Federation over the Period of 2013–2022 and the Forecast for 2023	43

Original articles

Balde T.A.L., Ostankova Yu.V., Boumbaly S., Valutite D.E., Davydenko V.S., Shchemelev A.N., Serikova E.N., Zueva E.B., Anufrieva E.V., Astapchik E.V., Arbutova O.V., Skvoroda V.V., Vasil'eva D.A., Esaulenko E.V., Semenov A.V., Totolian Areg A. Prevalence of Markers of Certain Blood-Borne Viral Infections in Pregnant Women and Their Partners in the Republic of Guinea	51
Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Vodop'yanov S.O., Tsimbalistova M.V., Pichurina N.L., Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Noskov A.K. Comparative Molecular-Genetic Analysis of <i>Francisella tularensis</i> Strains Isolated in the Rostov Region in 2020 and Genome Sequences of the Strains Collected in Various Regions of the World	59
Galeeva A.G., Khammadoev N.I., Efimova M.A. Bioinformatic Analysis of Immunodominant Peptides of Rabies Virus (<i>Rabies lyssavirus</i> , <i>Rhabdoviridae</i>)	66
Duvanov O.V., Podoinitsyna O.A., Pisanov R.V., Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S., Shipko E.S., Kruglikov V.D., Chemisova O.S., Noskov A.K. Alkyl Sulfatase of Cholera Vibrios	73
Egorov I.A., Smirnova S.S., Mishchenko V.A., Vyalykh I.V., Markaryan A.Yu., Zhuikov N.N., Aver'yanov O.Yu., Smirnova V.A., Bol'shakova A.N., Alferov S.Yu., Babanova A.V., Kilyachina A.S., Pushkareva N.A., Semenov A.V. COVID-19 Pandemic: Effect of Specific and Non-Specific Prevention Measures on the Risk of SARS-CoV-2 Infection in Employees of Healthcare Organizations	80
Zimirova A.A., Kuklev V.E., Safronov V.A., Kuklev E.V., Vyatkin I.N. Assessment of the Epidemiological Effectiveness of the Temporary Transfer of Schoolchildren to Distance Learning during the Spread of COVID-19 by the Example of the Saratov Region	87
Logvin F.V., Semenova O.V., Ryazanova A.G., Zharnikova I.V., Aksanova L.Yu., Rusanova D.V., Kurcheva S.A., Startseva O.L., Geogdzhayanyan A.S., Kulichenko A.N. Assessment of the Effectiveness of Using Magnetoimmunosorbents for the Selective Concentration of Anthrax Agent Spores	93

Монахова Е.В., Носков А.К., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Селянская Н.А., Меньшикова Е.А., Ежова М.И., Непомнящая Н.Б., Швиденко И.Г., Подойницына О.А., Писанов Р.В. Генотипическая характеристика клональных комплексов CTX-VPI ⁺ <i>Vibrio cholerae</i> O1, обнаруживаемых в водоемах Ростовской области	99	Monakhova E.V., Noskov A.K., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Selyanskaya N.A., Men'shikova E.A., Ezhova M.I., Nepomnyashchaya N.B., Shvidenko I.G., Podoinitsyna O.A., Pisanov R.V. Genotypic Characteristics of CTX-VPI ⁺ Clonal Complexes of <i>Vibrio cholerae</i> O1 Found in Water Bodies of the Rostov Region
Павлович Н.В., Чемисова О.С., Аронова Н.В., Цимбалистова М.В., Анисимова А.С., Гудуева Е.Н., Колотова О.Н., Катаева Л.В., Степанова К.Б., Бондаренко А.П., Теплякова Е.Д., Троценко О.Е., Степанова Т.Ф., Носков А.К. Сравнительный анализ структуры возбудителей внебольничных и внутрибольничных пневмоний у пациентов в медицинских организациях Ростовской, Тюменской областей и Хабаровского края в современный период пандемии новой коронавирусной инфекции	108	Pavlovich N.V., Chemisova O.S., Aronova N.V., Tsimbalistova M.V., Anisimova A.S., Gudueva E.N., Kolotova O.N., Kataeva L.V., Stepanova K.B., Bondarenko A.P., Teplyakova E.D., Trotsenko O.E., Stepanova T.F., Noskov A.K. Comparative Analysis of the Pathogen Structure in Patients with Community-Acquired and Nosocomial Pneumonia in Medical Organizations of the Rostov, Tyumen Regions and Khabarovsk Territory at the Current Stage of a New Coronavirus Infection Pandemic
Подойницына О.А., Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Ежова М.И., Носков А.К. Изучение структуры липополисахаридного кластера в геномах штаммов <i>Vibrio cholerae</i> R-вариантов	118	Podoinitsyna O.A., Kruglikov V.D., Levchenko D.A., Vodop'yanov A.S., Ezhova M.I., Noskov A.K. Investigation of the Lipopolysaccharide Cluster Structure in the Genomes of <i>Vibrio cholerae</i> Rough Variants
Толмачёва М.И., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Чумаченко И.Г. Динамика эпидемического процесса клещевого вирусного энцефалита на территории Иркутской области в 2001–2021 гг.	123	Tolmacheva M.I., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Chumachenko I.G. Dynamics of the Epidemic Process of Tick-Borne Encephalitis in Irkutsk Region in 2001–2021
Тронин А.А., Токарев Н.К., Бузинов Р.В., Соколова О.В., Гнатив Б.Р., Бубнова Л.А., Сафонова О.С. Анализ динамики заболеваемости клещевым энцефалитом и количества обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей на Европейском Севере России	132	Tronin A.A., Tokarevich N.K., Buzinov R.V., Sokolova O.V., Gnativ B.R., Bubnova L.A., Safonova O.S. Analysis of the Dynamics of Tick-Borne Encephalitis Incidence and the Number of People who Appealed to Medical Organizations about Tick Bites in the European North of Russia
Тупота Н.Л., Терновой В.А., Пономарева Е.П., Баяндин Р.Б., Швалов А.Н., Малышев Б.С., Трегубчак Т.В., Бауэр Т.В., Протопопова Е.В., Петрова Н.К., Жебровская Е.В., Бурухина Е.Г., Хомичук Т.Ф., Агафонов А.П., Максюттов Р.А., Локтев В.Б. Выявление генетического материала вирусов Tacheng uukuvirus и Sara tick phlebovirus в таежных клещах Свердловской, Томской областей и Приморского края России и их филогения	141	Tupota N.L., Ternovoi V.A., Ponomareva E.P., Bayandin R.B., Shvalov A.N., Malyshev B.S., Tregubchak T.V., Bauer T.V., Protopopova E.V., Petrova N.K., Zhebrovskaya E.V., Burukhina E.G., Khomichuk T.F., Agafonov A.P., Maksyutov R.A., Loktev V.B. Detection of the Genetic Material of the Viruses Tacheng uukuvirus and Sara tick phlebovirus in Taiga Ticks Collected in the Sverdlovsk, Tomsk Regions and Primorsky Territory of Russia and Their Phylogeny
Ульшина Д.В., Ковалев Д.А., Еременко Е.И., Семенова О.В., Рязанова А.Г., Бобрышева О.В., Жиров А.М., Куличенко А.Н. Оценка аналитических возможностей MALDI-TOF масс-спектрометрии при молекулярном типировании <i>Bacillus anthracis</i>	147	Ul'shina D.V., Kovalev D.A., Eremenko E.I., Semenova O.V., Ryazanova A.G., Bobrysheva O.V., Zhirov A.M., Kulichenko A.N. Evaluation of the Analytical Capabilities of MALDI-TOF Mass Spectrometry in the Molecular Typing of <i>Bacillus anthracis</i>
Чумачкова Е.А., Иванова А.В., Поршаков А.М., Вяткин И.Н., Форостяная М.В., Чумачков К.Я., Топорков В.П. Районирование территории Саратовской области по интенсивности эпидемических проявлений ГЛПС с использованием ГИС-анализа	156	Chumachkova E.A., Ivanova A.V., Porshakov A.M., Vyatkin I.N., Forostyanaya M.V., Chumachkov K.Ya., Toporkov V.P. Zoning of the Territory of the Saratov Region by the Intensity of Epidemic Manifestations of HFRS using GIS Analysis
Краткие сообщения		Brief communications
Громова О.В., Воробьева С.А., Волох О.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Попова Е.З., Лобовикова О.А., Шульгина И.В., Швиденко И.Г., Никифоров А.К. Изучение стабильности холерной химической вакцины в новой первичной упаковке	164	Gromova O.V., Vorob'eva S.A., Volokh O.A., Klokova O.D., Livanova L.F., Belyakova N.I., Popova E.Z., Lobovikova O.A., Shul'gina I.V., Shvidenko I.G., Nikiforov A.K. Assessment of Stability of Chemical Cholera Vaccine in a New Primary Packaging
Юбилеи		Anniversaries
К юбилею Владимира Петровича Сергиева	168	To the Anniversary of Vladimir P. Sergiev
К юбилею Георгия Борисовича Смирнова	168	To the Anniversary of Georgiy B. Smirnov
К юбилею Лидии Васильевны Саяпиной	169	To the Anniversary of Lidiya V. Sayapina
К юбилею Николая Ивановича Брико	169	To the Anniversary of Nikolay I. Briko
К юбилею Игоря Геннадиевича Карнаухова	170	To the Anniversary of Igor G. Karnaukhov

А.Ю. Попова^{1,2}, Е.Б. Ежлова¹, В.Ю. Смоленский¹, А.Н. Летюшев¹, А.А. Трескин¹, А.В. Иванова³,
В.А. Сафронов³, А.А. Зубова³, И.Г. Карнаухов³, В.П. Топорков¹, С.А. Щербакова³, В.В. Кутырев³

Автоматизированная информационная система «Периметр» – инструмент для модернизации информационного и технического обеспечения санитарно-карантинного контроля

¹Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация;
²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Российская Федерация;
³ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Санитарно-карантинный контроль (СКК) на границе России – первая преграда на пути завоза и последующего распространения заболеваний на территории страны. С каждым годом число регистрируемых вспышек инфекционных болезней в странах мира увеличивается, что влечет за собой рост публикуемой информации, часть из которой требует верификации. При этом на фоне развития международного туризма и увеличения пассажиропотока многократно возрастает риск завоза инфекционных болезней на территорию России, что формирует потребность в модернизации информационного и технического обеспечения СКК. В связи с вышесказанным **целью** данной работы является разработка научно обоснованной системы информатизации и цифровизации СКК, итогом которой стало внедрение автоматизированной системы оценки рисков, связанных с завозом опасных инфекционных болезней (АИС «Периметр»), во всех санитарно-карантинных пунктах (СКП). **Материалы и методы.** Информационная система создана с использованием программных платформ Laravel и Vue.js. В качестве источников информации об инфекционной заболеваемости в странах мира использованы данные сайтов министерств здравоохранения соответствующих стран, региональных бюро Всемирной организации здравоохранения, центров профилактики и контроля заболеваний (CDC) и системы ProMED-mail. **Результаты и обсуждение.** В результате внедрения АИС достигается максимально возможная оперативность в информировании должностных лиц СКП об эпидемиологической обстановке в мире, формируется эффективный инструмент отслеживания ситуации на федеральном уровне в режиме реального времени, облегчается работа специалистов СКП по выполнению стандартных операционных действий за счет значительного снижения объема рутинных процедур по ведению отчетности. Предложенная в АИС экспертная оценка риска завоза инфекционных болезней позволяет сотрудникам СКП, основываясь на достоверных сведениях, своевременно принимать решения о необходимости проведения СКК и исключить ошибочные действия в необходимом комплексе мероприятий в рамках осуществления СКК, при этом позволяя минимизировать субъективизм в отношении принятия решения.

Ключевые слова: санитарная охрана территории, санитарно-карантинный контроль, санитарно-карантинный пункт, автоматизированная информационная система, риск завоза, инфекционные болезни.

Корреспондирующий автор: Иванова Александра Васильевна, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Смоленский В.Ю., Летюшев А.Н., Трескин А.А., Иванова А.В., Сафронов В.А., Зубова А.А., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Автоматизированная информационная система «Периметр» – инструмент для модернизации информационного и технического обеспечения санитарно-карантинного контроля. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:6–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-6-14
Поступила 04.09.2023. Принята к публ. 15.09.2023.

A.Yu. Popova^{1,2}, E.B. Ezhlova¹, V.Yu. Smolensky¹, A.N. Letyushev¹, A.A. Treskin¹, A.V. Ivanova³,
V.A. Safronov³, A.A. Zubova³, I.G. Karnaukhov³, V.P. Toporkov³, S.A. Shcherbakova³, V.V. Kutyrev³

The Automated Information System “Perimeter” is a Tool for the Modernization of Information and Technical Support of Sanitary and Quarantine Control

¹Federal Service for Surveillance on Consumers’ Rights Protection and Human Well-being, Moscow, Russian Federation;

²Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation;

³Russian Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. Sanitary and quarantine control (SQC) at the state border of the Russian Federation is the first barrier to the importation and subsequent spread of diseases on the territory of the country. Every year the number of registered outbreaks of infectious diseases in the countries of the world increases, which entails an increase in published information, some of which is unreliable and requires verification. At the same time, against the background of the development of international tourism, increase in passenger traffic, the risk of infectious diseases importation into the territory of Russia rises manifold, which creates the need for modernization of information and technical support of the SQC. In connection with the above, **the aim** of the work was to develop a scientifically substantiated system of informatization and digitalization of SQC, which resulted in the introduction of an automated risk assessment system as regards importation of dangerous infectious diseases (AIS “Perimeter”) at all sanitary-quarantine checkpoints (SQP). **Materials and methods.** The information system was created using the following software platforms: Laravel, Vue.js. The official websites of the Ministries of Health of the respective countries, data from the official regional websites of WHO, regional centers for disease control and prevention (CDC), and data from the ProMED-mail system were used as sources of information on infectious morbidity in the countries of the world. **Results and discussion.** Implementation of AIS “Perimeter” has brought about the maximum possible efficiency in the targeted informing of SQP officials about the current epidemio-

logical situation in the countries of the world; an effective tool for monitoring the situation at the federal level in real-time mode. It facilitates the work of SQP, staff related to conducting standard operational procedures, due to considerable decrease in the volume of routine activities to keep records. The proposed in the AIS expert risk assessment as regards importation of infectious diseases allows SQP employees, based on reliable information, to make timely decisions on the need to conduct SQC and exclude erroneous actions in the essential set of measures within the framework of SQC implementation, while minimizing subjectivity with respect to decision making.

Key words: sanitary protection of the territory, sanitary-quarantine control, sanitary-quarantine checkpoint, automated information system, risk of importation, infectious diseases.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Aleksandra V. Ivanova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Smolensky V.Yu., Letyushev A.N., Treskin A.A., Ivanova A.V., Safronov V.A., Zubova A.A., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V. The Automated Information System "Perimeter" is a Tool for the Modernization of Information and Technical Support of Sanitary and Quarantine Control. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:6–14. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-6-14

Received 04.09.2023. Accepted 15.09.2023.

Popova A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4315-5307>
Ezhlova E.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8701-280X>
Letyushev A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4185-9829>
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>
Karnaukhov I.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8181-6727>
Toporkov V.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9512-7415>
Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>
Kuttyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

С момента нормативного закрепления общегосударственного характера проведения мероприятий по санитарной охране границ СССР (Постановление ЦИК и Совнаркома СССР, 1931 г.) концепция санитарной охраны претерпевала ряд изменений в ответ на появляющиеся новые биологические угрозы и вызовы [1].

К 1960-м гг. ускоренные темпы развития гражданской авиации предопределили переход от системы охраны границ к принципу санитарной охраны территории в связи с тем, что прибывающие в страну лица могли находиться в пути уже менее инкубационного периода и заболевший мог быть выявлен в любой точке страны (Правила по санитарной охране территории СССР от завоза и распространения карантинных и других заболеваний, 1967 г.).

В современных условиях под влиянием глобализационных процессов эпидемиологического, социально-экономического и геополитического порядка происходит расширение содержания санитарной охраны территории на международном и национальном уровнях [2, 3]. Развитие торгово-экономической деятельности, возросшая миграционная активность, увеличение пассажиропотока, развитие международного туризма, интеграция стран в крупные экономические объединения, образование мощных международных транспортных коридоров и другие процессы, происходящие на современном этапе, обусловили расширение содержания санитарной охраны от недопущения завоза опасной инфекционной болезни до контроля за событиями, угрожающими здоровью населения [4, 5]. Концепция риска здоровью населения, применяемая в настоящее время в качестве главного механизма принятия управленческих решений, определяет риск как вероятность события, неблагоприятного для здоровья людей, что подразумевает, помимо факта наличия болезни у прибывающего человека, также наличие на борту транспортного средства носителей, переносчиков инфекционных болезней (насе-

комые, грызуны), контаминацию перевозимых грузов и товаров выделениями инфицированных грызунов (и других животных), наличие грузов и товаров с повышенным радиоактивным фоном и иные события [6]. Вследствие этого в настоящее время санитарная охрана территории Российской Федерации направлена на предупреждение заноса на территорию страны и последующего распространения инфекционных болезней, представляющих опасность для населения, а также на предотвращение ввоза на территорию страны и последующей реализации товаров, химических, биологических и радиоактивных веществ, отходов и иных грузов, представляющих опасность для человека (Федеральный закон от 30.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»).

Глобализация способствует формированию благоприятных условий распространения целого ряда инфекционных болезней [7]. Только с момента вступления в силу Международных медико-санитарных правил (2005 г.) мировое сообщество стало свидетелем шести чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера, включая две крупнейшие в истории вспышки лихорадки Эбола [8] (в Западной Африке, 2014 г., и Демократической Республике Конго, 2018 г.), появление таких ранее неизвестных инфекционных болезней, как COVID-19, ближневосточный респираторный синдром и зоонозный грипп. Сегодня инфекционные болезни распространяются по планете намного быстрее, чем когда-либо прежде, за счет функционирования порядка 45 тыс. международных аэропортов и возможности свободного перемещения в течение 48 часов практически в любую страну [9]. Развитие международного туризма (более 900 млн туристических поездок, 2022 г.), рост миграционных потоков (общее количество международных мигрантов – 280 млн человек, 2022 г.), развитие торгово-экономической деятельности (объем мировой торговли – около 24,9 трлн

долл. США, 2022 г.) и воздушного сообщения с совокупным пассажиропотоком более 2,3 млрд человек в год определяют высокую уязвимость границ перед лицом современных угроз и вызовов санитарно-эпидемиологического характера.

В условиях взаимосвязанного и взаимозависимого мира любая вспышка инфекционного заболевания способна в считанные дни перерасти в глобальную угрозу, примером чему может служить пандемия COVID-19, которая уже через три месяца (к апрелю 2020 г.) после появления сообщений о вспышке неизвестного заболевания в Китайской Народной Республике (КНР) (декабрь 2019 г.) распространилась в 90 % стран мира. При этом своевременное введение дополнительных мер по усилению санитарно-карантинного контроля (СКК) в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации, в соответствии с которыми был реализован комплекс мероприятий, предусматривающий проведение дистанционной термометрии пассажиров, прибывающих из неблагополучных регионов, с применением стационарного и переносного тепловизионного оборудования, анкетирования на государственных информационных ресурсах, организацию лабораторного тестирования в аэропортах и др., позволило не допустить заноса и распространения инфекции из КНР. Это впоследствии было подтверждено анализом генетических последовательностей (в России отсутствовала циркуляция геновариантов, характерных для Китая) [10]. При этом нагрузка на специалистов санитарно-карантинных пунктов (СКП) в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации многократно возросла. Показательны данные роста количества досмотров транспортных средств, проведенных специалистами СКП в допандемийные годы (2018–2019 гг.) и в первый год пандемии, – около 100 тыс. и 1,7 млн транспортных средств соответственно [11, 12]. Увеличение числа досмотренных транспортных средств с 2020 г. на фоне тотального, а позже частичного ограничения авиасообщения со многими странами мира сопровождалось смещением преобладающего вида транспорта с авиационного на наземные виды транспорта, в частности – автомобильный.

Необходимо отметить, что ключевой составляющей санитарно-карантинного контроля является научно обоснованная оценка риска заноса инфекции на территорию страны и принятие решения об объеме необходимых мероприятий [13, 14]. На определение необходимости проведения СКК, а также на выбор конкретной формы противоэпидемических (профилактических) мероприятий в случае выявления больного влияет информированность специалиста СКП об оперативной эпидемиологической обстановке в стране, из которой прибыло транспортное средство [15–18]. С каждым годом увеличивается число регистрируемых в мире вспышек инфекционных болезней, в том числе особо опасных. Только за последние

30 лет более чем в 200 странах мира отмечено около 12 тыс. вспышек инфекционных болезней, способных вызвать чрезвычайную ситуацию в области общественного здравоохранения. В связи с этим в открытых интернет-источниках наблюдается переизбыток публикуемой информации, часть из которой является недостоверной («фейковой»), что затрудняет оценку риска заноса инфекции на территорию страны и принятие решения о необходимости и объеме мероприятий у сотрудников СКП. Вследствие этого формируется потребность в верификации информации об эпидемиологической обстановке в мире и создании системы анализа и предоставления данных, что позволит сократить время принятия решений и увеличить эффективность СКК.

Кроме того, на эффективность СКК существенно влияют временные издержки по заполнению необходимых, предусмотренных законодательством и технологическими схемами различных отчетных и учетных форм. В зависимости от типа СКП и участка государственной границы у специалистов санитарно-карантинных пунктов уходит до 30 % рабочего времени на ведение документооборота. Таким образом, необходимость автоматизации рутинных процессов является актуальной задачей повышения эффективности санитарно-карантинного контроля.

Описанные современные условия обуславливают необходимость модернизации информационного обеспечения санитарной охраны территории Российской Федерации на основе автоматизации системы сбора, обработки, хранения, анализа и предоставления данных об эпидемиологической обстановке в мире для оказания помощи специалистам СКП в проведении оценки рисков, связанных с завозом опасных инфекционных болезней.

Возрастающая интенсивность работы в современных условиях ставит задачу повышения эффективности деятельности специалистов СКП за счет внедрения возможности ведения электронного документооборота, сокращения времени на формирование отчетности о работе СКП и организации оперативного информирования для контроля ситуации на федеральном уровне.

Все вышесказанное предопределило необходимость разработки научно обоснованной системы информатизации и цифровизации санитарно-карантинного контроля, явившейся **целью** данной работы, итогом которой стало внедрение автоматизированной системы оценки рисков, связанных с завозом опасных инфекционных болезней (АИС «Периметр»), во всех СКП страны.

Материалы и методы

Функционал и архитектура АИС «Периметр» разработаны по поручению Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека специалистами Российского

противочумного института «Микроб» совместно со специалистами Иркутского и Ставропольского противочумных институтов Роспотребнадзора в рамках реализации федерального проекта «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)». Разработка программного обеспечения и выполнение функций технического оператора системы выполнены программистами ООО «Интегро». Совершенствование функционала системы осуществлялось при непосредственном участии специалистов СКП Роспотребнадзора.

Информационная система создана с использованием следующих программных платформ: Laravel – для реализации серверной части, VueJs – для пользовательского интерфейса. Основными языками программирования выбраны PHP и JS, позволяющие гибко реализовывать функциональные модули системы. Система прошла сертификацию в Федеральной службе по техническому и экспортному контролю, что обеспечивает защиту системы от разнообразных угроз безопасности.

АИС «Периметр» является единым программным комплексом, включающим в себя взаимосвязанные технические, программные и информационные средства. Система представлена тремя компонентами:

- ядро, содержащее системные модули и реализующее основные вычислительные процессы (серверная часть);
- хранилище информации – фрагмент системы, использующийся для хранения базы данных;
- терминал, представляющий собой пользовательское устройство с модулями пользовательского интерфейса.

В качестве источников информации об инфекционной заболеваемости в странах мира использованы данные официальных сайтов министерств здравоохранения соответствующих стран, региональных бюро Всемирной организации здравоохранения, региональных центров профилактики и контроля заболеваний (CDC), а также системы ProMED-mail.

Разработанная АИС «Периметр» является ведомственной автоматизированной информационной системой Роспотребнадзора. Сервер программы и базы данных размещены на вычислительных мощностях Российского противочумного института «Микроб».

В 2018–2022 гг. опытная эксплуатация системы осуществлена на всех пунктах пропуска через государственную границу РФ (2018 г. – на 3 пунктах пропуска; 2019 г. – на 16; 2020 г. – на 20; 2021 г. – на 69; 2022 г. – на 241). Приказом Руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 30.12.2022 № 728 система АИС «Периметр» введена в промышленную эксплуатацию на всех СКП на границе страны, осуществляющих санитарно-карантинный контроль.

Результаты и обсуждение

По результатам модификации программного обеспечения (2018–2023 гг.) в настоящее время информационно-технологическая архитектура АИС «Периметр» включает в себя четыре функциональных блока, каждый из которых позволяет решить конкретные задачи, направленные на повышение эффективности СКК:

1-й блок – информационно-аналитический – предназначен для оказания помощи в проведении оценки риска и принятии решения о необходимости проведения СКК;

2-й блок – статистической отчетности – предназначен для ведения учетных и отчетных форм СКП, разработан с целью оптимизации выполнения стандартных операционных процедур;

3-й блок – «модуль поддержки принятия решений» – предназначен для оказания помощи специалистам СКП и территориальных управлений Роспотребнадзора при определении вероятной инфекционной болезни в зависимости от выбора ведущего клинического синдрома и страны, из которой прибывает пассажир;

4-й блок – аналитической отчетности – предназначен для внешнего информационного обмена и ведомственного контроля, позволяет проводить оперативный анализ эффективности санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации.

Функционал системы обеспечивается за счет реализации следующих возможностей:

1. Оценка риска заноса инфекционной болезни на территорию Российской Федерации. В структуре информационно-аналитического блока предусмотрено размещение автоматически подгружаемого расписания рейсов для авиа-, железнодорожных и морских транспортных средств на текущие сутки. Прибывающие рейсы соответствуют строкам, на каждой из которых отображается информация (номер рейса, пункт назначения, дата и время прибытия, страна отбытия, транзитные остановки). Расписание прибывающих рейсов отображено в системе в виде интерактивной панели с цветовой маркировкой строк по уровню эпидемиологической опасности. Система автоматически оценивает эпидемиологическую ситуацию в стране отбытия рейса, при этом фиксирует наличие вспышек инфекционных болезней в транзитных странах, используя информацию для анализа из открытых источников в сети Интернет в режиме реального времени. С целью исключения загрузки в систему данных, не соответствующих заявленному событию, достоверность информации, аккумулированной в системе, ежедневно (один раз в сутки, не позднее 10:00 мск) верифицируется специалистом-эпидемиологом ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, выполняющим функцию аналитика. Таким образом, достигнута максимально возможная оперативность в инфор-

мировании должностных лиц СКП о текущей эпидемиологической обстановке, насколько это позволяют открытые источники.

В соответствии с экспертной оценкой аналитика всем прибывающим в пункты пропуска транспортным рейсам присваивается цветовая маркировка: белая, желтая, красная (рис. 1).

Низкий риск заноса опасных инфекционных болезней (белая маркировка) присваивается рейсам из зарубежных стран, где в настоящее время отсутствует регистрация вспышек инфекционных болезней, требующих проведения мероприятий СКК. Желтая (средний риск) или красная (высокий риск) маркировки сигнализируют о вероятности заноса инфекционных болезней в пункт пропуска лицами, прибывающими рейсами из зарубежных стран, где в настоящее время наблюдается вспышка инфекционной болезни (из перечня инфекционных болезней, в зависимости от уровня риска), и указывают на необходимость проведения СКК.

К желтому уровню опасности относятся инфекционные болезни, в случае завоза которых риск дальнейшего распространения инфекции на территории РФ минимален или отсутствует: полиомиелит, желтая лихорадка, малярия, лихорадка Западного Нила, Крымская геморрагическая лихорадка, лихорадка денге, лихорадка Рифт-Валли, менингококковая болезнь, сибирская язва, бруцеллез, лихорадка Зика, сар, мелиоидоз, эпидемический сыпной тиф.

Красный уровень опасности присваивается инфекционным болезням, завоз которых сопровождается риском дальнейшего распространения инфекции на территории РФ: оспа, оспа обезьян, человеческий грипп, вызванный новым подтипом вируса, тяжелый острый респираторный синдром, чума, лихорадка Ласса, болезнь, вызванная вирусом Эбола, болезнь, вызванная вирусом Марбург, лихорадки Хунин, Мачупо и ближневосточный респираторный синдром.

В качестве дополнительных информационных возможностей по снижению риска завоза на территорию Российской Федерации опасных инфекционных болезней, с целью повышения насто-

роженности работников СКП в отношении возможного завоза в системе предусмотрена функция принудительного оповещения об актуальных угрозах санитарно-эпидемиологическому благополучию населения Российской Федерации. Так, в период стремительного распространения нового геноварианта COVID-19 Omicron (с 9 по 31 января 2022 г.) аналитиком системы была установлена цветовая маркировка, соответствующая высокому риску завоза для всех рейсов, прибывающих из стран с зарегистрированными случаями COVID-19, вызванными геновариантом Omicron. Согласно материалам отчетов о результатах использования АИС «Периметр» установлено, что специалистами СКП в воздушных пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации с использованием сведений, размещенных в АИС «Периметр», досмотрено 4653 воздушных судна, в ходе СКК которых у 23 человек подтверждено наличие возбудителя SARS-CoV-2. Кроме того, подобное принудительное информирование осуществляется в отношении вспышек инфекционных болезней в странах, этиологический агент которых временно остается неустановленным, при этом рейс маркируется согласно высокому риску завоза болезни с пометкой «вспышка неизвестного заболевания». Подход к адресному информированию в связи с многократно возрастающим риском завоза опасных инфекционных болезней используется и при организации массовых мероприятий в стране с международным участием. В период проведения второго международного саммита Россия – Африка (17.07.2023–07.08.2023) все рейсы, прибывающие из стран Африканского континента (48 стран с прямым и/или транзитным авиасообщением), имели маркировку высокого уровня риска завоза с пометкой «усиление мер в связи с проведением массового мероприятия».

Таким образом, достигнутая цифровизация процесса оценки риска заноса инфекционных болезней на территорию Российской Федерации позволяет сотрудникам санитарно-карантинных пунктов, основываясь на достоверных сведениях, полученных в системе, своевременно принимать решения о необходимости проведения СКК.

Список рейсов

Добавить

Уровень риска

Дата с

07.12.2022 00:00

Дата по

08.12.2022 00:00

Управление

Управление Федеральной службы

СКП

Москва (Шереметьево)

Страна

События	Риск	Номер рейса	Пункт назначения	Прибытие	Отбытие	Страна	Действия
		SU 527	Шереметьево	07.12.2022 в 00:25	06.12.2022 в 19:40	Объединённые Арабские Эмираты	
		KL 3378	Шереметьево	07.12.2022 в 00:30	-	Египет	
		PV 6536	Шереметьево	07.12.2022 в 01:30	06.12.2022 в 23:20	Казахстан	
		25 2001	Шереметьево	07.12.2022 в 02:55	-	Турция	
		SU 279	Шереметьево	07.12.2022 в 05:05	06.12.2022 в 22:55	Таиланд	

Рис. 1. Цветовая маркировка прибывающих рейсов

Fig. 1. Color marking of incoming flights

2. Выполнение стандартных операционных процедур. Функциональные возможности АИС «Периметр» позволили оптимизировать работу специалиста СКП по выполнению стандартных операционных процедур. Процесс выполнения действий по формированию учетных и отчетных форм стал менее трудоемким за счет предусмотренных возможностей системы для автоматического заполнения документации. Предусмотрены шаблоны учетных форм с функцией создания, поиска по заданным параметрам (по дате, печати, подписи), редактирования и удаления. Для автоматизации процесса формирования отчетности разработаны типовые формы ряда документов: акт санитарно-карантинного контроля транспортного средства, формы предписаний, в том числе о проведении дезинфекции (дезинсекции, дератизации) транспортного средства, с функцией автоматического заполнения полей и всплывающими вариантами ответа. Предусмотрены шаблоны для автоматического формирования сводных отчетов с функцией редактирования и удаления. Кроме того, с целью экономии времени заполнения документации система предложит всплывающий перечень международных и российских законодательных актов с функцией скачивания текстовых файлов на локальный компьютер пользователя. Актуальность нормативной документации также верифицируется аналитиком системы не реже одного раза в квартал.

При анализе активности пользователей в АИС «Периметр» за первое полугодие функционирования в режиме промышленной эксплуатации (с 01.01.2023 по 30.06.2023) отмечен еженедельный рост числа активных действий в системе (создание учетных форм, построение сводных отчетов) – до 50 тыс. действий за 7-дневный период. При этом замечено, что на заполнение учетных/отчетных форм специалистом СКП в среднем затрачивается не более 10 минут (32,4 % пользователей на закрытие формы требовалось от 1 до 3 минут). Учитывая временные нормы (приказ Роспотребнадзора от 17.07.2012 № 767) на составление каждого акта санитарно-карантинного осмотра (досмотра), регламентированные 30 минутами рабочего времени, эффективность работы специалиста СКП при работе в АИС «Периметр» существенно возрастает.

3. Модуль поддержки принятия решений. В случае установления факта наличия риска возникновения чрезвычайной ситуации санитарно-эпидемиологического характера (в случае выявления больного, подозрительного на опасную болезнь) в функционале АИС «Периметр» заложен алгоритм определения вероятной инфекционной болезни в зависимости от выбора ведущего клинического синдрома и страны, из которой прибывает заболевший пассажир. Система автоматически предложит сотруднику СКП информацию, необходимую для клинко-эпидемиологической диагностики (характеристика нозологических форм: ведущий синдром, клинические симптомы, эпидемиологические кри-

терии риска). В зависимости от выбора пользователем вероятной инфекционной болезни системой будет рекомендована пошаговая схема осуществления СКК, а также предложена информация по регламентированным средствам индивидуальной защиты, противоэпидемическим мероприятиям, способам и средствам дезинфекции.

Функционал рассматриваемого блока способствует оптимизации работы специалиста СКП за счет сокращения времени на установление вероятной инфекционной болезни, исключения ошибочных действий в необходимом комплексе мероприятий в рамках осуществления СКК, при этом позволяя минимизировать субъективизм в отношении принятия решения.

4. Анализ эффективности СКК. Для внешнего информационного обмена и ведомственного контроля эффективности СКК в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации на федеральном уровне в АИС «Периметр» реализована возможность аккумулирования данных о результатах проведенного СКК. В режиме реального времени в системе доступны для анализа данные о количестве досмотренных транспортных средств и лиц, прибывающих в пункт пропуска, количестве выявленных больных с указанием инфекционной болезни, страны отправления рейса и СКП, в котором выявлен заболевший. Вся анализируемая информация представлена в системе в формате информационной панели (дашборд), отображающей данные в доступном графическом виде: диаграммы, графики и другие средства визуализации. Информационная панель обновляет данные автоматически с заданным интервалом. Анализ отчетной информации возможен за выбранный период времени (день, неделя, квартал, год) и по определенной территории (страна отбытия рейса, транзитные страны, СКП прибытия и др.). В системе доступна визуализация как общего числа досмотренных транспортных средств, лиц и выявленных в ходе СКК инфекционных болезней, так и динамического ряда накопленных данных за месяц, квартал, год и другой выбранный временной период. При этом существует возможность анализа данных по административно-территориальному делению осуществления СКК, участкам государственной границы и типам СКП. Представленная на дашборде полномасштабная карта мира, отображающая количество прибывших рейсов на территорию России из разных стран мира, позволяет в режиме реального времени оценивать риски завоза опасных инфекционных болезней на территорию страны для целенаправленного принятия управленческих решений по их предупреждению (рис. 2).

Кроме того, в системе «Периметр» предусмотрена возможность предоставления по требованию оперативной статистической отчетности о работе пунктов пропуска в Федеральную службу по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Формируемые ранее один раз в месяц отчеты

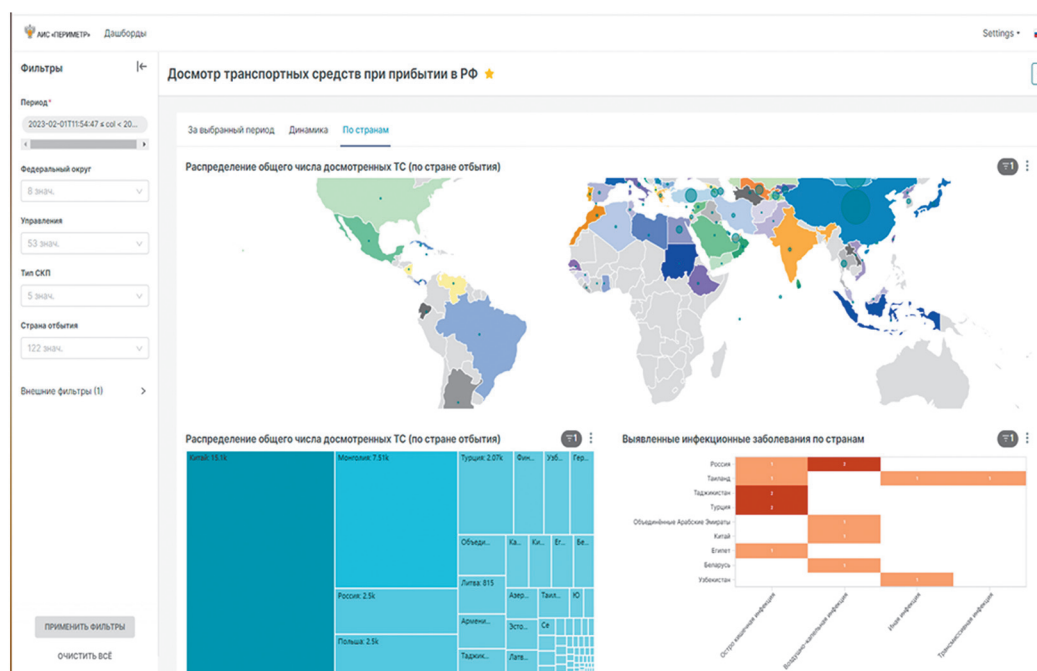


Рис. 2. Аналитическая информационная панель в АИС «Периметр»

Fig. 2. Analytical dashboard of the AIS "Perimeter"

о деятельности СКП по форме № 25-16 «Сведения об осуществлении санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска на российском участке внешней границы Евразийского экономического союза» теперь доступны для анализа и контроля в режиме реального времени, за счет технического обеспечения возможности сбора отчетности по форме № 25-16 онлайн со всех действующих СКП, осуществляющих санитарно-карантинный контроль. Постоянная доступность аналитических данных значительно повышает возможности оперативного контроля на федеральном уровне и принятия своевременных управленческих решений.

В 2023 г. в практику специалиста СКП внедрено мобильное приложение «Периметр», позволяющее использовать возможности системы непосредственно при осуществлении СКК. Функционал приложения позволяет специалисту СКП оформлять акты досмотра находясь на транспортном средстве, при этом минимизируя затрачиваемое время на ведение документации. Мобильная версия способна работать в автономном режиме без доступа к сети Интернет или при неустойчивой связи, а при подключении к сети приложение синхронизирует данные с системой «Периметр» для формирования отчетности.

Резюмируя вышесказанное, отметим, что модернизация информационного и технического обеспечения санитарно-карантинного контроля за счет внедрения АИС «Периметр» на всех действующих СКП страны направлена на повышение эффективности и системности работы по снижению риска заноса и распространения опасных инфекционных болезней из-за рубежа. В результате внедрения АИС «Периметр», с одной стороны, достигается максимально возможная оперативность в информировании должностных лиц СКП о текущей эпиде-

миологической обстановке в странах мира, с другой стороны, сформирован эффективный инструмент отслеживания ситуации на федеральном уровне в режиме реального времени. Предложенная в системе экспертная оценка риска завоза опасных инфекционных болезней на территорию страны позволяет сотрудникам СКП, основываясь на достоверных сведениях, своевременно принимать решения о необходимости проведения СКК и исключить ошибочные действия в необходимом комплексе мероприятий в рамках осуществления СКК, при этом позволяя минимизировать субъективизм в отношении принятия решения. Кроме того, функционал системы способствует оптимизации работы специалистов СКП по выполнению стандартных операционных действий, значительно снижая объемы рутинных процедур, позволяя сконцентрировать внимание на осуществлении профилактических мероприятий.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Санитарная охрана территории Российской Федерации в современных условиях. Саратов: ООО «Буква»; 2014. 460 с.
2. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Кривуля С.Д., Федоров Ю.М., Топорков В.П. Стратегия борьбы с инфекционными болезнями и санитарная охрана территорий в современных условиях. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2006; 2:5–9.
3. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Кривуля С.Д., Федоров Ю.М., Топорков В.П. Санитарная охрана территории Российской Федерации: современное нормативно-методическое, организационное и научное обеспечение. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2007; 1:5–11.
4. Еровиченков А.А., Зверева Н.Н., Сайфуллин М.А., Околот Н.В. Профилактика завозных инфекционных заболеваний у путешественников. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2018; 17(5):89–95. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-5-89-95.

5. Хунхеева Ж.Ю., Миронова Л.В., Селезнев В.А., Чеботарь М.А., Коваленко А.И., Кузнецова И.В., Балахонов С.В. Анализ внешних рисков завоза холеры на территорию Приморского края различными видами транспорта. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2021; 20(5):61–8. DOI: 10.31631/2073-3046-2021-20-5-61-68.

6. Рыжков Ю.В., Москвитина Э.А. Разработка межведомственного оперативного плана санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий в пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации в режимах повышенной готовности и чрезвычайной ситуации санитарно-эпидемиологического характера. *Здоровье населения и среда обитания* – *ЗНиСО*. 2017; 5:45–8. DOI: 10.35627/2219-5238/2017-290-5-45-48.

7. ВОЗ. Доклад о состоянии здравоохранения в мире, 2007 г. Более безопасное будущее. Глобальная безопасность в области общественного здравоохранения в XXI веке. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.un.org/ru/development/surveys/docs/whr2007.pdf> (дата обращения 01.03.2023).

8. Попова А.Ю., Шиянова А.Е., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Кедрова О.В., Дмитриева Л.Н., Карнаухов И.Г. Комплекс мероприятий в рамках санитарной охраны территории Российской Федерации по недопущению завоза и распространения болезней, вызванной вирусом Эбола. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 3:49–54. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-3-49-54.

9. Слис С.С., Ковалев Е.В., Янович Е.Г., Кононенко А.А., Носков А.К. Основные риски формирования чрезвычайной эпидемической ситуации, ассоциированной с новыми респираторными вирусами. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2022; 21(2):74–82. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-2-74-82.

10. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербаклова 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. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2019. 254 с.

12. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2021. 256 с.

13. Кутырев В.В., Щербаклова С.А., Карнаухов И.Г., Касьян Ж.А., Шиянова А.Е., Горбунов В.А., Краско А.Г., Лешкевич А.Л., Федорович Е.В., Семизон П.А., Рустамова Л.М., Петкевич А.С., Ерубав Т.К., Аязбаев Т.З., Турегелдиева Д.А., Ковалева Г.Г., Бердиев С.К., Усенбаев Н.Т., Казыбаева Ж.С. Система мониторинга и реагирования на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера в странах СНГ. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 3:95–106. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-95-106.

14. Рыжков Ю.В., Соловьев М.Ю. Управление рисками в санитарно-карантинном контроле. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 3:33–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-3-33-37.

15. Попова А.Ю., Балахонов С.В., Горяев Д.В., Дмитриева Г.М., Филатова С.А., Шаракшанов М.Б., Вишняков В.А., Миронова Л.В., Хунхеева Ж.Ю., Сидорова Е.А., Севостьянова А.В., Куликалова Е.С., Витязева С.А., Перевалова М.А., Русин М.В., Кострыкина Т.В., Сорокина О.В., Чепижко Т.Г., Андаев Е.И., Чеснокова М.В., Носков А.К. Оценка рисков завоза и распространения опасных инфекционных болезней в период проведения XXIX Всемирной зимней Универсиады 2019 года в Красноярске. *Здоровье населения и среда обитания* – *ЗНиСО*. 2018; 6:4–11. DOI: 10.35627/2219-5238/2018-303-6-4-11.

16. Носков А.К., Вишняков В.А., Шаракшанов М.Б., Перевалова М.А., Балахонов С.В. Методологическое обоснование оценки рисков эпидемиологических осложнений при чрезвычайных ситуациях природного характера в Сибири и на Дальнем Востоке. *Здоровье населения и среда обитания* – *ЗНиСО*. 2018; 4:51–4. DOI: 10.35627/2219-5238/2018-301-4-51-54.

17. Бабура Е.А., Садридина Д.А. Санитарно-карантинный контроль в пунктах пропуска через государственные границы Российской Федерации в Калининградской области в период подготовки и проведения чемпионата мира по футболу FIFA 2018. *Здоровье населения и среда обитания* – *ЗНиСО*. 2019; 4:19–23. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-313-4-19-23.

18. Харитонов Т.П., Степанов Н.А. Санитарная охрана территории Республики Мордовия в период подготовки и проведения чемпионата мира по футболу FIFA 2018. *Здоровье населения и среда обитания* – *ЗНиСО*. 2019; 4:59–64. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-313-4-59-64.

References

1. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Sanitary Protection of the Territory of the Russian Federation under Modern Conditions]. Saratov: LLC "Bukva"; 2014. 460 p.

2. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., Krivulya S.D., Feodorov Yu.M., Toporkov V.P. [Strategy of infectious diseases control and sanitary protection of territories under the present-day conditions]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2006; (2):5–9.

3. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., Krivulya S.D., Feodorov Yu.M., Toporkov V.P. [Sanitary protection of the territories of the Russian Federation: modern normative and methodological, organizational and scientific support]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2007; (1):5–11.

4. Erovenchenkov A.A., Zvereva N.N., Sayfullin M.A., Okolot N.V. [Prevention of imported infectious diseases in travelers]. *Epidemiologiya i Vaksinooprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2018; 17(5):89–95. DOI: 10.31631/2073-3046-2018-17-5-89-95.

5. Khunkheeva Zh.Yu., Mironova L.V., Seleznev V.A., Chebotar' M.A., Kovalenko A.I., Kuznetsova I.V., Balakhonov S.V. [Analysis of external risks of cholera importation to the territory of Primorsky Krai by different types of transport]. *Epidemiologiya i Vaksinooprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2021; 20(5):61–8. DOI: 10.31631/2073-3046-2021-20-5-61-68.

6. Ryzhkov Yu.V., Moskvitina E.A. [Development of an interdepartmental operational plan for sanitary and anti-epidemic (preventive) measures at checkpoints across the state border of the Russian Federation in high alert mode and under emergency situation of sanitary-epidemiological nature]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2017; (5):45–8. DOI: 10.35627/2219-5238/2017-290-5-45-48.

7. [WHO. Report on the state of health in the world]. (Cited 01 March 2023). [Internet]. Available from: <https://www.un.org/ru/development/surveys/docs/whr2007.pdf>.

8. Popova A.Yu., Shiyanova A.E., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Paksina N.D., Kedrova O.V., Dmitrieva L.N., Karnaukhov I.G. [Complex of measures aimed at prevention of Ebola virus disease importation and transmission performed within the frames of sanitary protection of the territories of the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; (3):49–54. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-3-49-54.

9. Slis S.S., Kovalev E.V., Yanovich E.G., Kononenko A.A., Noskov A.K. [The main risks of an epidemic emergency situation associated with new respiratory viruses]. *Epidemiologiya i Vaksinooprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2022; 21(2):74–82. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-2-74-82.

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. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Russian Federation in 2018: State Report]. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Wellbeing; 2019. 254 p.

12. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare of the Population in the Russian Federation in 2020: State Report]. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Wellbeing; 2021. 256 p.

13. Kutyrev V.V., Shcherbakova S.A., Karnaukhov I.G., Kas'yan Z.A., Shiyanova A.E., Gorbunov V.A., Kras'ko A.G., Leshkevich A.L., Fedorovich E.V., Semizhon P.A., Rustamova L.M., Petkevich A.S., Erubav T.K., Ayazbaev T.Z., Turgeldieva D.A., Kovaleva G.G., Berdiev S.K., Usenbaev N.T., Kazybaeva Z.S. [System of monitoring and response to public health emergencies of sanitary-epidemiological character in the CIS countries]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):95–106. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-95-106.

14. Ryzhkov Yu.V., Solov'ev M.Yu. [Framework of the risk management system in the sphere of sanitary-quarantine control]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; (3):33–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-3-33-37.

15. Popova A.Yu., Balakhonov S.V., Goryaev D.V., Dmitrieva G.M., Filatova S.A., Sharakshanov M.B., Vishnyakov V.A., Mironova L.V., Khunkheeva Z.Yu., Sidorova E.A., Sevostyanova A.V., Kulikalova E.S., Vityazeva S.A., Perevaiova M.A., Rusin M.V., Kostrykina T.V., Sorokina O.V., Chepizhko J.G., Andae E.I., Chesnokova M.V., Noskov A.K. [Estimation of risks of importations and distribution of dangerous infectious diseases during the XXIX Winter Universiade 2019 in Krasnoyarsk]. *Zdorov'e Naseleniya i*

Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]. 2018; (6):4–11. DOI: 10.35627/2219-5238/2018-303-6-4-11.

16. Noskov A.K., Vishnyakov V.A., Sharakshanov M.B., Perevalova M.A., Balakhonov S.V. [Methodological basis of risk estimation of epidemiological consequences of natural disasters in Siberia and the Far East]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2018; (4):51–4. DOI: 10.35627/2219-5238/2018-301-4-51-54.

17. Babura E.A., Sadriddinova O.A. [Sanitary and quarantine control at checkpoints across the state borders of the Russian Federation in the Kaliningrad region during the preparation and hosting the 2018 FIFA World Cup]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2019; (4):19–23. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-313-4-19-23.

18. Kharitonova T.P., Stepanov N.A. [Sanitary protection of the Republic of Mordovia territory during the preparation and hosting the 2018 FIFA World Cup]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2019; (4):59–64. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-313-4-59-64.

Authors:

Popova A.Yu. Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being; Bld. 5 and 7, 18, Vadkovsky Lane, Moscow, 127994, Russian Federation. Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; 2/1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation.

Ezhlova E.B., Smolensky V.Yu., Letyushev A.N., Treskin A.A. Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being. Bld. 5 and 7, 18, Vadkovsky Lane, Moscow, 127994, Russian Federation.

Ivanova A.V., Safronov V.A., Zubova A.A., Karnaukhov I.G., Toporkov V.P., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Об авторах:

Попова А.Ю. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, 18, стр. 5 и 7. Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1.

Ежлова Е.Б., Смоленский В.Ю., Летюшев А.Н., Трескин А.А. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Российская Федерация, 127994, Москва, Вадковский переулок, 18, стр. 5 и 7.

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

О.М. Германт¹, Е.В. Ушакова¹, Ю.В. Демина^{1,2}, М.Б. Ахметшина¹**Современные средства индивидуальной защиты людей от кровососущих членистоногих**¹Институт дезинфектологии ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана», Мытищи, Российская Федерация;²ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва, Российская Федерация

Обзор посвящен средствам индивидуальной защиты людей от кровососущих членистоногих, главным образом от иксодовых клещей. Индивидуальная (личная) защита человека является важным компонентом неспецифической профилактики природно-очаговых трансмиссивных заболеваний. В работе проанализированы статистические данные, описывающие уровень важности и актуальности информации об инфекциях, передающихся иксодовыми клещами: клещевом вирусном энцефалите, иксодовом клещевом боррелиозе и др. Даны характеристики разных групп средств индивидуальной защиты: инсектоакарицидных, репеллентных и инсектоакарицидно-репеллентных. Рассмотрены показатели их эффективности, описано практическое использование, а также особенности специальной защитной одежды и необходимость ее применения. Токсичность защитной одежды снижается за счет наличия подкладочной ткани, локальных вставок из ткани с инсектоакарицидной пропиткой и применения нательного белья. Обсуждается разная трактовка терминов «репеллент» и «репеллентный» в отечественной и зарубежной литературе, а также два различных подхода («восточный» и «западный») к разработке и производству средств индивидуальной защиты людей от нападения кровососущих членистоногих, в том числе иксодовых клещей, в России и странах Западной Европы и США. Акцентировано внимание на действие различных групп пиретроидов на поведенческие реакции клещей. Показано, что в Российской Федерации использование перметрина не допускается для обработки защитной одежды от кровососущих членистоногих, в частности для защиты от таежного клеща *Ixodes persulcatus*, являющегося основным переносчиком опасных инфекций на большей части территории страны (на востоке европейской части, Урале, в Сибири и на Дальнем Востоке).

Ключевые слова: индивидуальная защита людей, кровососущие членистоногие, иксодовые клещи, репелленты, инсектоакарициды, защитная одежда.

Корреспондирующий автор: Ушакова Елена Владимировна, e-mail: ushakova.ev@fferisman.ru.

Для цитирования: Германт О.М., Ушакова Е.В., Демина Ю.В., Ахметшина М.Б. Современные средства индивидуальной защиты людей от кровососущих членистоногих. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 3:15–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-15-21

Поступила 28.03.2023. Принята к публ. 18.04.2023.

О.М. Germant¹, E.V. Ushakova¹, Yu.V. Demina^{1,2}, M.B. Akhmetshina¹**Modern Means of Personal Protection of People from Bloodsucking Arthropods**¹Institute of Disinfectology of the Federal Research Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Moscow Region, Mytishchi, Russian Federation;²Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russian Federation

Abstract. The review focuses on the means of personal protection of people from blood-sucking arthropods, mainly from Ixodidae ticks. Individual (personal) protection of humans is an important component of nonspecific prevention of natural-focal vector-borne diseases. The paper considers statistical data describing the level of significance and relevance of the information about the infections transmitted by ticks, for instance, tick-borne viral encephalitis, tick-borne borreliosis etc. Presented are the characteristics of different groups of personal protection means: insectoacaricidal, repellent, and insectoacaricidal-repellent ones. Indicators of their effectiveness are assessed; their practical use, as well as the features of special protective clothing and the necessity of its application is described. The toxicity of protective clothing is reduced through a lining fabric, local inserts of fabric with insectoacaricidal impregnation and the use of underwear. Different interpretation of the term “repellent” in the domestic and foreign literature, and also two different approaches (“Eastern” and “Western”) to the design and manufacture of personal protection means for people against attacks of blood-sucking arthropods, including Ixodidae ticks, in Russia and Western Europe countries and the USA is discussed. The paper highlights the effect of different pyrethroid groups on the behavioral reactions of ticks. It is shown that in the Russian Federation the use of permethrin is prohibited for the treatment of protective clothing against blood-sucking arthropods, in particular against the taiga tick *Ixodes persulcatus*, which is the main vector of dangerous infections across the major part of the country (in the east of the European part, the Urals, Siberia and the Far East).

Key words: personal protection of people, blood-sucking arthropods, Ixodidae ticks, repellents, insectoacaricides, protective clothing.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Elena V. Ushakova, e-mail: ushakova.ev@fferisman.ru.

Citation: Germant O.M., Ushakova E.V., Demina Yu.V., Akhmetshina M.B. Modern Means of Personal Protection of People from Bloodsucking Arthropods. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 3:15–21. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-15-21
Received 28.03.2023. Accepted 18.04.2023.

Germant O.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4145-6234>
Ushakova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0128-3447>

Demina Yu.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0538-1992>
Akhmetshina M.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5830-6745>

Наибольший вред людям наносят две большие группы членистоногих – кровососущие насекомые и клещи. В природных условиях численность нападающих на человека насекомых и клещей бывает очень высока. Они являются временными эктопаразитами человека и животных, их укусы болезненны, могут вызывать аллергические реакции. В соответствии с отчетными формами Роспотребнадзора в последние годы наблюдается снижение численности укусов клещей, что, вероятно, связано с проводимыми ограничительными мерами, применяемыми в период пандемии COVID-19. В 2021 г. количество обращений за медицинской помощью по поводу присасывания клещей составило 309,49 на 100 тыс. населения. В 2022 г. их число увеличилось на 12,83 % и составило 349,20 на 100 тыс. населения. Вредоносность клещей обусловлена не столько их способностью к кровососанию, сколько возможностью передачи возбудителей многих инфекционных болезней, в том числе опасных.

В России наибольшее эпидемиологическое значение имеют иксодовые клещи (Parasitiformes: Ixodidae), передающие человеку возбудителей клещевого вирусного энцефалита (КВЭ), иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ), Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ), риккетсиозов и других заболеваний. Широкое распространение инфекций, передаваемых иксодовыми клещами (ИПК), на территории России, рост числа антропоургических очагов в пригородах и на территории городов определяют актуальность этой группы инфекций [1].

По данным государственного доклада о состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 г., доля ИКБ составила 43,1 % от числа всех зарегистрированных случаев природно-очаговых инфекций и инфекций, общих для человека и животных, доля КВЭ оказалась значительно ниже – 11,2 %. В группе ИПК на первом месте по распространенности и частоте регистрации длительного времени продолжают оставаться ИКБ (2,65 на 100 тыс. населения), КВЭ является вторым (0,69 на 100 тыс. населения). В течение последнего десятилетия наблюдается тенденция к снижению заболеваемости КВЭ (от 2,47 до 0,69 на 100 тыс. населения) и ИКБ (от 6,96 до 2,65 на 100 тыс. населения).

Нозоареалы КВЭ и ИКБ охватывают всю лесную зону страны и совпадают с ареалом клещей рода *Ixodes* – основных переносчиков возбудителей. Наибольшее эпидемическое значение имеют таежный (*I. persulcatus*) и европейский лесной (*I. ricinus*) клещи. В ряде районов Сибири и Дальнего Востока значительную роль в передаче возбудителей ИПК может играть *I. pavlovskyi* [2].

В сочетанных природных очагах инфекций регулярно регистрируют случаи микст-инфицирования клещей несколькими микроорганизмами, патогенными для человека. Доля таких случаев может варьировать в широких пределах. В России наиболее часто клещи бывают заражены вирусом клещевого энцефалита (КВЭ) и различными видами боррелий – возбудителями ИКБ [3–5]. На сегодняшний день наибольшие риски в распространении природно-очаговых заболеваний представляют их биологические особенности (стойкость и активность природных очагов, наличие сложного эпизоотического процесса передачи возбудителей), расширение ареала клещей, наличие специфической профилактики (вакцинации) только КВЭ и туляремии, ненадлежащее качество обработок и организации противоклещевых мероприятий при увеличении площадей обработанных территорий. Профилактику всего комплекса ИПК можно проводить только с помощью современных эффективных мер защиты, предохраняющих человека от присасывания клещей и, следовательно, от любой передающейся ими моно- или микст-инфекции [3, 6]. Общие принципы профилактики ИПК изложены в СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». В России решающее значение в снижении заболеваемости всеми природно-очаговыми ИПК имеет их неспецифическая профилактика, которая направлена на предотвращение присасывания клещей к людям и осуществляется по двум основным направлениям:

1) коллективная защита, предполагающая противоклещевые обработки, которые обеспечивают уничтожение популяций иксодовых клещей в природных биотопах в зонах высокого риска заражения людей, а также уничтожение иксодовых клещей на животных-прокормителях;

2) использование средств индивидуальной защиты людей при посещении ими опасных в отношении ИПК территорий.

Первое направление основано на применении акарицидов, второе – на применении акарицидов и репеллентов. Направления находятся в тесном взаимодействии и дополняют друг друга. Важными мероприятиями во всем комплексе мер по профилактике ИПК являются обеспечение готовности медицинских организаций к оказанию консультативно-диагностической помощи при присасывании клещей и санитарно-разъяснительная работа с населением, включающая обучение людей правилам поведения на территории природных очагов и применению средств защиты от клещей.

Сразу после установления в 30-х гг. XX в. переносчиков возбудителей КВЭ, уже в первые годы

изучения биологии и экологии иксодовых клещей-переносчиков в общих чертах были сформулированы способы индивидуальной защиты людей от их нападения, которые получили название «средства и меры индивидуальной профилактики» [7]. До 90-х гг. XX в. к ним относились правила поведения на опасной в отношении клещей территории, защитная одежда и репелленты [8].

В настоящее время в неспецифической профилактике ИПК большую роль играют именно средства индивидуальной защиты людей от нападения клещей-переносчиков. Существуют три способа применения средств индивидуальной защиты людей от кровососущих членистоногих:

- нанесение репеллентных средств на кожу;
- обработка репеллентными, инсектоакарицидными и инсектоакарицидно-репеллентными средствами различных предметов одежды;
- использование специальной защитной одежды, в том числе изготовленной с применением обработанных инсектоакарицидами и репеллентами материалов, использование изделий из содержащих репелленты материалов.

Репеллентные средства обладают отпугивающим действием на насекомых и, в меньшей степени, клещей; инсектоакарицидные – оказывают паралитическое воздействие на членистоногих, уничтожая их; инсектоакарицидно-репеллентные обладают двойственным механизмом действия. На данный момент средства, обладающие цидностью в отношении иксодид, имеют приоритетное значение для индивидуальной защиты человека. Репеллентные же средства являются основным средством защиты от летающих кровососущих насекомых. В России для защиты от иксодовых клещей разрешены репеллентные средства в аэрозольной упаковке на основе ДЭТА (N,N-диэтилтолуамид) в высоких (более 30 %) концентрациях только для обработки одежды и исключительно против клещей рода *Ixodes*. Эти средства при нанесении на одежду обеспечивают защиту от таежных клещей на уровне нормативного показателя, установленного в Руководстве Р 4.2.3676-20 «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности» для этой группы препаратов, – не менее 95 % до 5 суток. Применение репеллентных средств для защиты детей и подростков от иксодовых клещей не рекомендуется. На территории Российской Федерации средства, предназначенные для защиты от клещей при нанесении на кожу, не зарегистрированы и не рекомендованы для применения, так как не обладают достаточной эффективностью. Репеллентные средства в любых препаративных формах (аэрозоли, кремы, эмульсии и т.д.) при нанесении на кожу отпугивают только 10–20 % взрослых таежных клещей, переползающих с растительности на открытые части тела человека [8, 9].

На данном этапе научно-технического прогресса значение репеллентов в решении проблемы

неспецифической профилактики трансмиссивных природно-очаговых инфекций снизилось, поскольку в ряде случаев их функцию взяли на себя инсектоакарициды из группы пиретроидов, особенно в индивидуальной защите людей от нападения иксодовых клещей. Однако потребность в репеллентах сохраняется, особенно для защиты открытых частей тела человека от нападения летающих кровососущих насекомых [10–15].

К сожалению, в мировой научной литературе нет полной однозначности в трактовке терминов «репеллент» и «репеллентный». Репелленты (от лат. *repellentis* – отталкивающий, отпугивающий) – вещества природного или синтетического происхождения, отпугивающие (вызывающие реакцию избегания) членистоногих (насекомых, клещей), а также грызунов и птиц (ГОСТ Р 56994–2016). В публикациях отечественных авторов действие репеллентов разделяется на дистантное (когда членистоногие не приближаются к обработанным поверхностям) и контактное (когда членистоногие после непродолжительного контакта с обработанной поверхностью покидают ее, не производя укуса). Для характеристики назначения репеллентов применяют термины «инсекторепелленты» (репелленты, предназначенные для отпугивания насекомых) и «акаро-репелленты» (репелленты, предназначенные для отпугивания клещей).

В зарубежной литературе репеллентами называют любые соединения, которые заставляют насекомых или других членистоногих совершать ориентированные движения в сторону от их источника [12, 16], а также нарушают поведение членистоногих в поисках хозяина, отгоняя их или удерживая на расстоянии от обработанной человеческой кожи [17]. В понятие «репелленты» зарубежные исследователи, помимо «репеллентов местного действия (накожных)» (topical [skin] repellents) и «репеллентов для одежды и тканей» (clothing and fabric repellents), включают также «пространственные репелленты» (space [spatial] repellents, area repellents), которые изначально определены в 1967 г. как соединения, обладающие отпугивающим действием на расстоянии [18]. Впоследствии под пространственными репеллентами стали понимать любые летучие химические соединения, обладающие способностью подавлять поведение насекомых, ищущих хозяина, в экологически определенном трехмерном пространстве [19]. В настоящее время под пространственными репеллентами понимают химические вещества, которые приводят к уменьшению контакта человека с переносчиком [20], в том числе вследствие возбудимости или раздражимости (excitorepellency, irritancy) – повышенной двигательной активности насекомых после контакта с инсектицидом, приводящего к реакции избегания. Такими средствами являются разнообразные испаряющиеся и фумигирующие устройства (спирали, фумигаторы, свечи и т.п.) на основе не только репеллентных субстанций, но и инсектицид-

ных веществ, в частности пиретроидов. Поэтому во многих иностранных публикациях раздражающее (а иногда и инсектицидное) действие пиретроидов (в том числе летучих пиретроидов метофлутрина, трансфлутрина, эмпентрина и др.) на кровососущих насекомых, а также акарицидное действие на клещей, приводящее к их отпадению от обработанной ткани, рассматривают как репеллентное и даже сравнивают эти вещества с истинными репеллентами [13, 15, 21–26]. Однако это явление, безусловно, имеет другое происхождение и механизм действия. В отечественной литературе все средства на основе веществ, убивающих членистоногих, относят к инсектоакарицидным, однако в технической литературе, посвященной, например, специальной обработке текстильных материалов для изготовления одежды, защищающей от кровососущих членистоногих, эти два понятия могут смешивать [27].

Требования к репеллентным средствам сформулированы уже в самом начале разработки этой проблемы [15, 28, 29]. К их идеальным характеристикам можно отнести высокую эффективность вне зависимости от концентрации, численности и видовой специфичности кровососущих насекомых, стабильность, устойчивость к факторам среды, отсутствие пластифицирующего эффекта, низкую токсичность для человека и высокие потребительские качества. На практике нет ни одного репеллентного средства, обладающего всеми вышеперечисленными свойствами. Эффективность репеллентных средств при нанесении на кожу в высоких (более 30 %) концентрациях не превышает пяти часов, при этом может наблюдаться раздражающий эффект слизистых оболочек и кожных покровов. Большинство синтетических репеллентов (за исключением IR3535) обладают маслянистой структурой и пластифицирующими свойствами: растворяют краски, лаки и пластики, что ограничивает их применение.

В отношении летающих кровососущих насекомых в Российской Федерации разрешены ДЭТА, IR3535 (этилбутилацетиламинопропионат), салтидин (KBR 3023, икаридин, пикаридин, 1-(1-метилпропоксикарбонил)-2-(2-гидроксиэтил)пиперидин), диметилфталат (ДМФ, диметиловый эфир о-фталевой кислоты) и акреп (N-(гексилоксиметил)капролактан).

Один из аспектов индивидуальной защиты – использование специальной защитной одежды. К ней относятся костюмы с вставками из обработанной акарицидными средствами ткани и костюмы, предназначенные для обработки аэрозольными баллонами, содержащими акарицид или его смесь с репеллентом. Конструкция защитных костюмов предусматривает наличие специальных ловушек, препятствующих передвижению клещей по одежде [30, 31]. Костюмы, изготовленные с применением акарицидных тканей, сохраняют свои защитные свойства в течение нескольких лет и выдерживают многократные намокания и стирки. Такая одежда широко применяется в

нефте- и газодобывающей, энергетической промышленности и других отраслях, предусматривающих работы в природных биотопах. Помимо защиты от вредных биологических факторов, такие костюмы защищают и от других вредных и опасных производственных воздействий, связанных со спецификой сферы применения.

Начиная с 2013 г. после разработки ГОСТ Р 12.4.296-2013 «Одежда специальная для защиты от вредных биологических факторов (насекомых и паукообразных). Общие технические требования. Методы испытаний», вступившего в силу в декабре 2014 г., производители защитной одежды обязаны проходить оценку ее эффективности и безопасности. Костюмы, предназначенные для самостоятельной обработки, отличаются облегченной конструкцией, но имеют непродолжительный срок защиты. Срок защитного действия сохраняется до 14 суток после обработки костюма акарицидным или акарицидно-репеллентным средством при условии отсутствия намокания или стирок. Для массовой обработки защитной одежды разрешено применение инсектоакарицидных средств на основе циперметрина. Применение защитной одежды в совокупности с соблюдением правил поведения на опасной в отношении иксодовых клещей территории гарантирует практически полную защиту населения, в том числе детей и подростков, от нападения таежных и лесных клещей [8].

В настоящее время на практике реализованы два различных подхода к разработке и производству средств индивидуальной защиты людей от нападения кровососущих членистоногих, в том числе и иксодовых клещей. С конца 70-х гг. XX в. в США и странах Западной Европы начала активно развиваться защита людей от кровососущих членистоногих с помощью пиретроидов. Перметрин – один из первых пиретроидов, не содержащий циангруппу в альфapоложении между спиртовым и кислотным компонентами. Им обрабатывают одежду, надкроватные пологи, стены палаток, используют при производстве ткани, предназначенной для пошива экипировки людей, в том числе военнослужащих, находящихся в местах интенсивного нападения кровососущих насекомых и клещей. Перметрин называют акарицидом с репеллентными свойствами, предпочтительным акарицидом для пропитки одежды [32], а также – лучшим репеллентом от клещей, чем ДЭТА [11]. Одежда, обработанная перметрином, защищала от *I. ricinus* и *I. scapularis* Say на 95–100 % [32–34] или уменьшала количество укусов клещами в 3,36 раза по сравнению с необработанной [35]. Перметрин применяют для защиты от наиболее эпидемиологически опасных видов для этих территорий: клеща белохвостых оленей *I. scapularis* в США и лесного клеща *I. ricinus* в Европе. Такой подход к решению проблемы мы называем «западным» [36]. В Западной Европе в клещах *I. ricinus* обнаружены возбудители ИКБ и КВЭ, однако для них характернее нападение

нимф, нежели имаго. У *I. scapularis* чаще всего нападают нимфы, зараженные возбудителем ИКБ.

На территории России, кроме ареала *I. ricinus* на западе европейской части страны, огромный ареал таежного клеща *I. persulcatus* расположен на востоке европейской части, Урале, в Сибири и на Дальнем Востоке. В центре европейской части нашей страны обитают оба этих вида. У *I. persulcatus*, переносчиков возбудителей КВЭ, ИКБ и других инфекций, обычно нападают взрослые клещи (нимфы – примерно в 100 раз реже). Нимфы значительно менее устойчивы к действию акарицидов (примерно в 10 раз), чем более крупные имаго, особенно самки. Перметрин вызывает медленное отравление имаго клещей, приводящее к их ускоренному (более чем в два раза) присасыванию к теплокровным, в то время как цианосодержащие пиретроиды (циперметрин, альфациперметрин) вызывают быстрое отравление клещей, обуславливающее невозможность их присасывания.

Цианосодержащие пиретроиды, благодаря наличию циангруппы в альфа-положении между спиртовым и кислотным компонентами, обеспечивают полную защиту от нападения таежного клеща, исключая возможность клеща к присасыванию. В Российской Федерации реализован так называемый «восточный» путь, при котором разрешены акарицидные средства на основе цианосодержащих пиретроидов, обычно альфациперметрина – для обработки одежды и циперметрина – для пропитки тканей [31, 36].

Таким образом, «западный» путь отличается низкой токсичностью перметрина, а «восточный» – высокими защитными свойствами акарицидных средств и тканей в отношении таежных и лесных клещей. Защитная одежда, предназначенная для самостоятельной обработки аэрозольным баллоном, подразумевает использование нательного белья. Одежда, изготовленная из обработанной циперметрином ткани, имеет подкладку, выполняющую функцию барьерной защиты от воздействия акарицида. При проведении химико-аналитических исследований наличие циперметрина в подкладочной ткани не обнаруживается. Также токсическое действие на человека сокращают путем применения вставок из инсектоакарицидной ткани, чей суммарный объем не превышает 50 % от общей площади поверхности костюма [36].

В начале 1990-х гг. в России зарегистрировано единственное средство в аэрозольной упаковке на основе 0,5 % перметрина, но как акарицидное, а не репеллентное. У всех клещей, контактировавших с обработанной этим средством тканью, менее чем через 10 минут наступал нокдаун, и они отпадали с одежды. После того, как было установлено отрицательное свойство перметрина повышать скорость присасывания клещей к телу теплокровных животных и разработаны нормативные показатели эффективности акарицидных средств, которым средство не соответствовало, в его перерегистрации было от-

казано. Зарегистрированный в 1996 г. инсектицидно-репеллентный препарат в аэрозольной упаковке на основе 1,0 % сумитрина, 20,0 % ДЭТА, предназначенный для уничтожения и отпугивания кровососущих насекомых (комаров, мокрецов, мошек, слепней, блох) и клещей при обработке одежды и помещений, в 2002 г. был снова зарегистрирован для защиты людей от нападения кровососущих насекомых и клещей при нанесении на одежду и изделия из ткани (занавеси, сетки и др.), но уже на основе 0,18 % альфациперметрина и 15,00 % ДЭТА. В настоящее время население России применяет для защиты от нападения клещей – переносчиков возбудителей опасных болезней средства на основе именно цианосодержащих пиретроидов, в основном альфациперметрина. Проведенные нами испытания в очагах трансмиссивных инфекций в отношении самок таежных клещей обработанных перметрином тканей и одежды показали, что эффективность такой одежды не соответствует нормативным показателям, принятым в нашей стране [36]. Учитывая, что пиретроиды, не содержащие циангруппу (в том числе перметрин), вызывают отравление клещей, приводящее к их ускоренному присасыванию [8], в России полностью отказались от идеи использовать этот пиретроид в средствах индивидуальной защиты людей от таежных и лесных клещей. Использование акарицидных средств на основе перметрина и обработанной им одежды опасно для потребителей, так как соединение не только ускоряет присасывание клещей, но и порождает ложное чувство защищенности, что значительно увеличивает риск заражения ИПК.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Германт О.М., Ахметшина М.Б., Царенко В.А., Веригина Е.В. Информационное письмо «Природно-очаговые инфекции, возбудителей которых передают иксодовые клещи, и их неспецифическая профилактика в Российской Федерации (по состоянию на 01.01.2022 г.)». *Дезинфекционное дело*. 2022; 1:37–44.
2. Филиппова Н.А. История ареала у иксодовых клещей (Acari, Ixodidae) – переносчиков возбудителей природноочаговых болезней как один из факторов формирования их внутривидового биоразнообразия. *Энтомологическое обозрение*. 2017; 96(1):157–84.
3. Коренберг Э.И. Инфекции, передающиеся иксодовыми клещами в лесной зоне, и стратегия их профилактики: изменение приоритетов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2013; 5:7–17.
4. Козлова И.В., Дорошенко Е.К., Лисак О.В., Сунцова О.В., Савинова Ю.С., Парамонов А.И., Злобин В.И. Сочетанные очаги клещевого энцефалита и других переносимых клещами инфекций. В кн.: Злобин В.И., редактор. *Клещевой энцефалит в XXI веке*. М.: Наука; 2021. С. 273–94.
5. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М.: ООО «Комментарий»; 2013. 464 с.
6. Коренберг Э.И. Природная очаговость инфекций: современные проблемы и перспективы исследований. *Зоологический журнал*. 2010; 89(1):5–17.
7. Миронов В.С. О принципах борьбы с клещами – переносчиками энцефалита. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1941; X(3–4):427–33.

8. Шашина Н.И., Успенский И.В. Неспецифическая профилактика клещевого энцефалита. В кн.: Злобин В.И., редактор. Клещевой энцефалит в XXI веке. М.: Наука; 2021. С. 454–65.
9. Шашина Н.И., Германт О.М. О применении репеллентов для индивидуальной защиты людей от нападения иксодовых клещей. В кн.: Покровский В.И., редактор. Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: сборник трудов X Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, г. Москва, 26–28 февраля 2018 г. М.: Медицинское маркетинговое агентство; 2018. С. 258–9. [Электронный ресурс]. URL: https://congress-infection.ru/_pictures/2018/tezis_ib-2018_blok_26.06.2018.pdf (дата обращения 15.03.2023).
10. Павловский Е.Н. Защита от гнуса (комаров, мошек, москитов, слепней). Л.: Изд-во АН СССР; 1941. 65 с.
11. Brown M., Hebert A.A. Insect repellents: an overview. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1997; 36(2 Pt. 1):243–9. DOI: 10.1016/s0190-9622(97)70289-5.
12. Debboun M., Frances S.P., Strickman D., editors. *Insect Repellents Handbook*. Boca Raton, FL: CRC Press; 2014. 409 p.
13. Pages F., Dautel H., Duvallet G., Kahl O., de Gentile L., Boulanger N. Tick repellents for human use: prevention of tick bites and tick-borne diseases. *Vector Borne Zoon. Dis.* 2014; 14(2):85–93. DOI: 10.1089/vbz.2013.1410.
14. Chavan P.P., Pandit P. Advanced insect repellent agents for protective textiles and clothing. In: Islam S., Butola B.S., editors. *Advances in Functional and Protective Textiles*. Duxford, UK: Woodhead Publishing; 2020. P. 335–57. DOI: 10.1016/B978-0-12-820257-9.00014-X.
15. Corona C., Debboun M., Coats J., editors. *Advances in Arthropod Repellents*. San Diego, CA, USA: Academic Press; 2022. 340 p. DOI: 10.1016/C2020-0-01674-9.
16. Miller J.R., Siegert P.Y., Amimo F.A., Walker E.D. Designation of chemicals in terms of the locomotor responses they elicit from insects: an update of Dethier *et al.* (1960). *J. Econ. Entomol.* 2009; 102(6):2056–60. DOI: 10.1603/029.102.0606.
17. United States Environmental Protection Agency. Product Performance Test Guidelines. OPPTS 810.3700: Insect Repellents to be Applied to Human Skin. 2010. Document ID: EPA-HQ-OPPT-2009-0150-0011. 39 p.
18. Gouck H., McGovern T.P., Beroza M. Chemicals tested as space repellents against yellow-fever mosquitoes I. Esters. *J. Econ. Entomol.* 1967; 60(6):1587–90. DOI: 10.1093/jee/60.6.1587.
19. Nolen J.A., Bedoukian R.H., Maloney R.E., Kline D.L. Method, apparatus and compositions for inhibiting the human scent tracking ability of mosquitoes in environmentally defined three-dimensional spaces. United States Patent № US 6,362,235 B1. Filed: May 19, 1999. Date of Patent: Mar. 26, 2002.
20. World Health Organization. Guidelines for efficacy testing of spatial repellents. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2013. vi+48 p. [Электронный ресурс]. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/78142/9789241505024_eng.pdf.
21. Bissinger B.W., Roe R.M. Tick repellents: past, present, and future. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2010; 96(2):63–79. DOI: 10.1016/j.pestbp.2009.09.010.
22. Tananchai C., Tisratog R., Grieco J.P., Chareonviriyaphap T. Pyrethroid induced behavioral responses of *Anopheles dirus*, a vector of malaria in Thailand. *J. Vector Ecol.* 2012; 37(1):187–96. DOI: 10.1111/j.1948-7134.2012.00216.x.
23. Paluch G.E., Coats J.R., editors. *Recent Developments in Invertebrate Repellents*. Washington, D.C., USA: American Chemical Society; 2011. 200 p. (ACS Symp. Ser. 1090). DOI: 10.1021/bk-2011-1090.
24. Manda H., Shah P., Polsomboon S., Chareonviriyaphap T., Castro-Llanos F., Morrison A., Burrus R.G., Grieco J.P., Achee N.L. Contact irritant responses of *Aedes aegypti* using sublethal concentration and focal application of pyrethroid chemicals. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(2):e2074. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002074.
25. Salazar F.V., Achee N.L., Grieco J.P., Prabaripai A., Ojo T.A., Eisen L., Dureza C., Polsomboon S., Chareonviriyaphap T. Effect of *Aedes aegypti* exposure to spatial repellent chemicals on BG-Sentinel™ trap catches. *Parasit. Vectors.* 2013; 6(1):145. DOI: 10.1186/1756-3305-6-145.
26. Khater H.F., Selim A.M., Abouelella G.A., Abouelella N.A., Murugan K., Vaz N.P., Govindarajan M. Commercial mosquito repellents and their safety concerns. In: Kasenda F.H., Rodrigues-Morales A.J., editors. *Malaria*. IntechOpen; 2019. 184 p. DOI: 10.5772/intechopen.87436.
27. Королев С.В., Одинцова О.И., Липина А.А., Чернова Е.Н., Королев Д.С. Разработка технологии акарицидно-репеллентной отделки текстильных материалов и ее успешное внедрение в производство инновационного предприятия «Объединение «СПЕЦИАЛЬНЫЙ ТЕКСТИЛЬ». Известия высших учебных заведений. Технология текстильной промышленности. 2019; 6:55–61.
28. Гладких С.Г. Средства, отпугивающие кровососущих насекомых и клещей. М.: Медицина; 1964. 115 с.
29. Islam J., Zaman K., Duarah S., Raju P.S., Chattopadhyay P. Mosquito repellents: An insight into the chronological perspectives and novel discoveries. *Acta Trop.* 2017; 167:216–30. DOI: 10.1016/j.actatropica.2016.12.031.
30. Шашина Н.И., Германт О.М. Современный уровень неспецифической профилактики природно-очаговых клещевых инфекций. *Медицинский алфавит*. 2012; 1(3):32–5.
31. Schreck C.E., Snoddy E.L., Spielman A. Pressurized sprays of permethrin or deet on military clothing for personal protection against *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 1986; 23(4):396–9. DOI: 10.1093/jmedent/23.4.396.
32. Faulde M.K., Scharninghausen J., Tisch M. Preventive effect of permethrin-impregnated clothing to *Ixodes ricinus* ticks and associated *Borrelia burgdorferi* s.l. in Germany. *Int. J. Med. Microbiol.* 2008; 298(Suppl. 40):321–4. DOI: 10.1016/j.ijmm.2007.11.007.
33. Cisak E., Wójcik-Fatla A., Zając V., Dutkiewicz J. Repellents and acaricides as personal protection measures in the prevention of tick-borne diseases. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2012; 19(4):625–30.
34. Miller N.J., Rainone E.E., Dyer M.C., González M.L., Mather T.N. Tick bite protection with permethrin-treated summer-weight clothing. *J. Med. Entomol.* 2011; 48(2):327–33. DOI: 10.1603/mel10158.
35. Шашина Н.И., Бидевкина М.В. «Западный» и «Восточный» выбор пути создания средств для защиты людей от иксодовых клещей, вредящих здоровью человека. В кн.: Рахманин Ю.А., редактор. Методологические проблемы изучения, оценки и регламентирования химического загрязнения окружающей среды и его влияние на здоровье населения: Материалы Пленума Научного совета Российской Федерации по экологии человека и гигиене окружающей среды (Москва, 17–18 декабря 2015 г.). М.: Таусс-Пресс; 2015. С. 469–72. [Электронный ресурс]. URL: [https://old.cspfmba.ru/assets/files/tekst-sb-ka-Plenuma-NS-2015\(1\).pdf?ysclid=lg6k2adq5t689730559](https://old.cspfmba.ru/assets/files/tekst-sb-ka-Plenuma-NS-2015(1).pdf?ysclid=lg6k2adq5t689730559).
36. Шашина Н.И., Ахметшина М.Б. Современная одежда для защиты людей от присасывания иксодовых клещей: история, проблемы, перспективы. *Пест-менеджмент*. 2019; 3:40–3. DOI: 10.25732/PM.2020.111.3.008.

References

1. Germant O.M., Akhmetshina M.B., Tsarenko V.A., Verigina E.V. [Information letter “Natural-focal infections transmitted by Ixodidae ticks and their non-specific prevention in the Russian Federation (as of 01/01/2022)”]. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]*. 2022; (1):37–44.
2. Filippova N.A. [The history of the areal of Ixodidae ticks (Acari, Ixodidae) – vectors of pathogens of natural-focal diseases as one of the factors in the formation of their intraspecific biodiversity]. *Entomologicheskoe Obozrenie [Entomological Review]*. 2017; 96(1):157–84.
3. Korenberg E.I. [Infections transmitted by ixodid ticks in the forest zone and a strategy for their prevention: changing priorities]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2013; (5):7–17.
4. Kozlova I.V., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Suntsova O.V., Savinova Yu.S., Paramonov A.I., Zlobin V.I. [Combined foci of tick-borne encephalitis and other tick-borne infections]. In: Zlobin V.I., editor. [Tick-Borne Encephalitis in the XXI Century]. Moscow: Nauka; 2021. P. 273–94.
5. Korenberg E.I., Pomelova V.G., Osin N.S. [Natural-Focal Infections Transmitted by Ixodidae Ticks]. Moscow: LLC “Commentary”; 2013. 464 p.
6. Korenberg E.I. [Natural focality of infections: current problems and prospects for research]. *Zoologicheskij Zhurnal [Zoological Journal]*. 2010; 89(1):5–17.
7. Mironov V.S. [On the principles of controlling ticks, transmitters of encephalitis]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 1941; X(3–4):427–33.
8. Shashina N.I., Uspensky I.V. [Nonspecific prevention of tick-borne encephalitis]. In: Zlobin V.I., editor. [Tick-Borne Encephalitis in the XXI Century]. Moscow: Nauka; 2021. P. 454–65.
9. Shashina N.I., Germant O.M. [On the use of repellents for the individual protection of humans from the attack of Ixodidae ticks]. In: Pokrovsky V.I., editor. [Infectious Diseases in the Modern World: Evolution, Current and Future Threats: Proceedings of the X Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases with International Participation, Moscow, February 26–28, 2018]. Moscow: Medical Marketing Agency; 2018. P. 258–9. (Cited 15 March 2023). [Internet]. Available from: https://congress-infection.ru/_pictures/2018/tezis_ib-2018_blok_26.06.2018.pdf.
10. Pavlovsky E.N. [Protection from Gnats (Mosquitoes, Midge, Horseflies)]. Leningrad: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR; 1941. 65 p.

11. Brown M., Hebert A.A. Insect repellents: an overview. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1997; 36(2 Pt. 1):243–9. DOI: 10.1016/s0190-9622(97)70289-5.
12. Debboun M., Frances S.P., Strickman D., editors. *Insect Repellents Handbook*. Boca Raton, FL: CRC Press; 2014. 409 p.
13. Pages F., Dautel H., Duvallet G., Kahl O., de Gentile L., Boulanger N. Tick repellents for human use: prevention of tick bites and tick-borne diseases. *Vector Borne Zoon. Dis.* 2014; 14(2):85–93. DOI: 10.1089/vbz.2013.1410.
14. Chavan P.P., Pandit P. Advanced insect repellent agents for protective textiles and clothing. In: Islam S., Butola B.S., editors. *Advances in Functional and Protective Textiles*. Duxford, UK: Woodhead Publishing; 2020. P. 335–57. DOI: 10.1016/B978-0-12-820257-9.00014-X.
15. Corona C., Debboun M., Coats J., editors. *Advances in Arthropod Repellents*. San Diego, CA, USA: Academic Press; 2022. 340 p. DOI: 10.1016/C2020-0-01674-9.
16. Miller J.R., Siegert P.Y., Amimo F.A., Walker E.D. Designation of chemicals in terms of the locomotor responses they elicit from insects: an update of Dethier *et al.* (1960). *J. Econ. Entomol.* 2009; 102(6):2056–60. DOI: 10.1603/029.102.0606.
17. United States Environmental Protection Agency. Product Performance Test Guidelines. OPPTS 810.3700: Insect Repellents to be Applied to Human Skin. 2010. Document ID: EPA-HQ-OPPT-2009-0150-0011. 39 p.
18. Gouck H., McGovern T.P., Beroza M. Chemicals tested as space repellents against yellow-fever mosquitoes I. Esters. *J. Econ. Entomol.* 1967; 60(6):1587–90. DOI: 10.1093/jee/60.6.1587.
19. Nolen J.A., Bedoukian R.H., Maloney R.E., Kline D.L. Method, apparatus and compositions for inhibiting the human scent tracking ability of mosquitoes in environmentally defined three-dimensional spaces. United States Patent № US 6,362,235 B1. Filed: May 19, 1999. Date of Patent: Mar. 26, 2002.
20. World Health Organization. Guidelines for efficacy testing of spatial repellents. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2013. vi+48 p. [Internet]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/78142/9789241505024_eng.pdf.
21. Bissinger B.W., Roe R.M. Tick repellents: past, present, and future. *Pestic. Biochem. Physiol.* 2010; 96(2):63–79. DOI: 10.1016/j.pestbp.2009.09.010.
22. Tananchai C., Tisgratog R., Grieco J.P., Chareonviriyaphap T. Pyrethroid induced behavioral responses of *Anopheles dirus*, a vector of malaria in Thailand. *J. Vector Ecol.* 2012; 37(1):187–96. DOI: 10.1111/j.1948-7134.2012.00216.x.
23. Paluch G.E., Coats J.R., editors. *Recent Developments in Invertebrate Repellents*. Washington, D.C., USA: American Chemical Society; 2011. 200 p. (ACS Symp. Ser. 1090). DOI: 10.1021/bk-2011-1090.
24. Manda H., Shah P., Polsomboon S., Chareonviriyaphap T., Castro-Llanos F., Morrison A., Burrus R.G., Grieco J.P., Achee N.L. Contact irritant responses of *Aedes aegypti* using sublethal concentration and focal application of pyrethroid chemicals. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2013; 7(2):e2074. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002074.
25. Salazar F.V., Achee N.L., Grieco J.P., Prabaripai A., Ojo T.A., Eisen L., Dureza C., Polsomboon S., Chareonviriyaphap T. Effect of *Aedes aegypti* exposure to spatial repellent chemicals on BG-Sentinel™ trap catches. *Parasit. Vectors.* 2013; 6(1):145. DOI: 10.1186/1756-3305-6-145.
26. Khater H.F., Selim A.M., Abouelella G.A., Abouelella N.A., Murugan K., Vaz N.P., Govindarajan M. Commercial mosquito repellents and their safety concerns. In: Kasenda F.H., Rodrigues-Morales A.J., editors. *Malaria*. IntechOpen; 2019. 184 p. DOI: 10.5772/intechopen.87436.
27. Korolev S.V., Odintsova O.I., Lipina A.A., Chernova E.N., Korolev D.S. [Development of the technology for acaricide-repellent finishing of textile materials and its successful implementation in the production of the innovative enterprise “Association “SPECIAL TEXTILE”]. *Izvestiya Vysshikh Uchebnykh Zavedeniy. Tekhnologiya Tekstil'noy Promyshlennosti [News of Higher Educational Institutions. Technology of the Textile Industry]*. 2019; (6):55–61.
28. Gladkikh S.G. [Means Repelling Blood-Sucking Insects and Ticks]. Moscow: “Medicine”; 1964. 115 p.
29. Islam J., Zaman K., Duarah S., Raju P.S., Chattopadhyay P. Mosquito repellents: An insight into the chronological perspectives and novel discoveries. *Acta Trop.* 2017; 167:216–30. DOI: 10.1016/j.actatropica.2016.12.031.
30. Shashina N.I., Germant O.M. [Modern level of nonspecific prevention of natural-focal tick-borne infections]. *Meditsinsky Alfavit [Medical Alphabet]*. 2012; 1(3):32–5.
31. Schreck C.E., Snoddy E.L., Spielman A. Pressurized sprays of permethrin or deet on military clothing for personal protection against *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.* 1986; 23(4):396–9. DOI: 10.1093/jmedent/23.4.396.
32. Faulde M.K., Scharninghausen J., Tisch M. Preventive effect of permethrin-impregnated clothing to *Ixodes ricinus* ticks and associated *Borrelia burgdorferi* s.l. in Germany. *Int. J. Med. Microbiol.* 2008; 298(Suppl. 40):321–4. DOI: 10.1016/j.ijmm.2007.11.007.
33. Cisak E., Wójcik-Fatla A., Zając V., Dutkiewicz J. Repellents and acaricides as personal protection measures in the prevention of tick-borne diseases. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2012; 19(4):625–30.
34. Miller N.J., Rainone E.E., Dyer M.C., González M.L., Mather T.N. Tick bite protection with permethrin-treated summer-weight clothing. *J. Med. Entomol.* 2011; 48(2):327–33. DOI: 10.1603/me10158.
35. Shashina N.I., Bidevkina M.V. [“Western” and “Eastern” choice of ways to create means to protect people from Ixodidae ticks which are harmful to human health]. In: Rakhmanin Yu.A., editor. [Methodological Problems of Studying, Assessing and Regulating Chemical Pollution of the Environment and Its Impact on Public Health: Proceedings of the Plenum of the Scientific Council of the Russian Federation on Human Ecology and Environmental Hygiene (Moscow, December 17–18, 2015)]. Moscow: “Taus Press”; 2015. P. 469–72. [Internet]. Available from: [https://old.cspfm.ru/assets/files/tekst-sb-ka-Plenum-NS-2015\(1\).pdf?ysclid=lg6k2adq5t689730559](https://old.cspfm.ru/assets/files/tekst-sb-ka-Plenum-NS-2015(1).pdf?ysclid=lg6k2adq5t689730559).
36. Shashina N.I., Akhmetshina M.B. [Modern clothing for protecting people from being bitten by Ixodidae ticks: history, problems, prospects]. *Pest Management.* 2019; (3):40–3. DOI: 10.25732/PM.2020.111.3.008.

Authors:

Germant O.M., Ushakova E.V., Akhmetshina M.B. Institute of Disinfectology of the Federal Research Center of Hygiene named after F.F. Erisman. 2, Semashko St., Mytishchi, Moscow Region, 141014, Russian Federation. E-mail: fncg@fncg.ru.

Demina Yu.V. Institute of Disinfectology of the Federal Research Center of Hygiene named after F.F. Erisman; 2, Semashko St., Mytishchi, Moscow Region, 141014, Russian Federation; e-mail: fncg@fncg.ru. Russian Medical Academy of Continuing Professional Education; 2/1, Bld. 1, Barrikadnaya St., Moscow, 125993, Russian Federation; e-mail: rmapo@rmapo.ru.

Об авторах:

Германт О.М., Ушакова Е.В., Ахметшина М.Б. Институт дезинфектологии ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана». Российская Федерация, 141014, Московская обл., Мытищи, ул. Семашко, 2. E-mail: fncg@fncg.ru.

Демина Ю.В. Институт дезинфектологии ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана»; Российская Федерация, 141014, Московская обл., Мытищи, ул. Семашко, 2; e-mail: fncg@fncg.ru. Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования; Российская Федерация, 125993, Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1; e-mail: rmapo@rmapo.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-22-32

УДК 578.833.2(470)

Е.В. Найденова, К.С. Захаров, К.Д. Блинова, И.Г. Швиденко, А.В. Бойко, С.А. Щербаклова

Вирус Усуту (*Flaviviridae*, *Orthoflavivirus*). Потенциальная опасность и возможность распространения на территории Российской Федерации

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

В последние десятилетия большую обеспокоенность медицинских работников, в том числе вирусологов и инфекционистов, вызывает увеличение количества случаев выявления вируса Усуту (*Usutu*, *USUV*, *Orthoflavivirus usutuense*) (семейство *Flaviviridae*, род *Orthoflavivirus*), особенно с момента его появления на территории Европы, где возбудитель вызвал массовую гибель птиц, и ежегодно регистрирующиеся случаи заболевания людей. В данном обзоре приводятся сведения о строении вируса и его генетических вариантах, географическом распространении и особенностях циркуляции на территории стран Европы и Африки, используемых методах и принципах индикации и идентификации рассматриваемого патогена, а также основные симптомы вызываемого им заболевания. В работе проведена оценка экологических предпосылок для возникновения вспышек инфекционной болезни, вызванной вирусом Усуту, и показана возможность такого развития событий на территории Российской Федерации.

Ключевые слова: вирус Усуту, переносчики, возможность распространения, совместная циркуляция, вирус Западного Нила.

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

Для цитирования: Найденова Е.В., Захаров К.С., Блинова К.Д., Швиденко И.Г., Бойко А.В., Щербаклова С.А. Вирус Усуту (*Flaviviridae*, *Orthoflavivirus*). Потенциальная опасность и возможность распространения на территории Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:22–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-22-32

Поступила 08.09.2023. Принята к публ. 20.09.2023.

E.V. Naidenova, K.S. Zakharov, K.D. Blinova, I.G. Shvidenko, A.V. Boiko, S.A. Shcherbakova

Usutu Virus (*Flaviviridae*, *Orthoflavivirus*). Potential Danger and Possibility of Spread on the Territory of the Russian Federation

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

Abstract. In recent decades, an increase in the number of cases of detection of the Usutu virus (*Usutu*, *USUV*, *Orthoflavivirus usutuense*) (family *Flaviviridae*, genus *Orthoflavivirus*) has caused great concern among medical professionals, including virologists and specialists in infectious diseases, especially since its appearance in Europe, where the pathogen caused mass birds die-off, and annually registered human cases. This review provides information about the structure of the virus and its genetic variants, geographical distribution and features of circulation in Europe and Africa, the methods and principles used to indicate and identify this pathogen, as well as the main symptoms of the disease it causes. An assessment of the environmental prerequisites for the occurrence of outbreaks of the disease caused by the Usutu virus on the territory of the Russian Federation was also carried out.

Key words: Usutu virus, vectors, possibility of spread, joint circulation, West Nile virus.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

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

Citation: Naidenova E.V., Zakharov K.S., Blinova K.D., Shvidenko I.G., Boiko A.V., Shcherbakova S.A. Usutu Virus (*Flaviviridae*, *Orthoflavivirus*). Potential Danger and Possibility of Spread on the Territory of the Russian Federation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 3:22–32. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-22-32

Received 08.09.2023. Accepted 20.09.2023.

Naidenova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6474-3696>
Zakharov K.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4726-309X>
Blinova K.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5416-6714>

Boiko A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9576-4959>
Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>

Первые десятилетия XXI в. характеризовались многочисленными вспышками заболеваний, обусловленных различными вирусами, как достаточно изученными, так и выявленными впервые. Эпидемия болезни, вызванной вирусом Эбола, неожиданно начавшаяся в странах Западной Африки в 2014–2016 гг. [1], продолжающаяся по всему миру географическая экспансия вирусов денге 1–4-го типов [2], регистрация вируса Западного Нила в Центральной и Южной Америке [3], первое обнаружение виру-

са Крымской-Конго геморрагической лихорадки на территории Южной Европы [4], десятки случаев тяжелой лихорадки с признаками тромбоцитопении в Юго-Восточной Азии, вызванные вирусом Даби [5], впервые выделенным в 2011 г., указывают на реально существующие угрозы распространения опасных инфекционных болезней вирусной этиологии, что может стать проблемой для мирового здравоохранения. Завершившаяся в 2023 г. пандемия COVID-19 также подтвердила необходимость обратить более

пристальное внимание на возбудителей, патогенность которых недостаточно изучена и эпидемический потенциал не оценен в полной мере.

Особое внимание необходимо уделять инфекционным болезням с трансмиссивным путем передачи, в том числе и арбовирусной этиологии, количество случаев которых увеличивается с каждым годом. Этому способствуют изменения экологических и климатических условий, таких как повышение среднегодовой температуры воздуха и объема выпадаемых осадков в зонах с умеренным климатом. Помимо вышесказанного, высокая мобильность населения многих стран мира, увеличивающиеся возможности для путешествий и торговли повышают риск интродукции и распространения как для членистоногих переносчиков, так и для местной передачи арбовирусов, о чем свидетельствуют случаи заболевания людей, вызванные вирусами Зика и Чикунгунья, на территории Франции и Италии [6].

Известно, что вирусы, относящиеся к семейству *Flaviviridae*, являются наиболее многочисленными представителями экологической группы арбовирусов и вызывают такие опасные инфекционные болезни, как желтая лихорадка, лихорадки денге, Западного Нила, Зика, клещевой и японский энцефалит, энцефалит длины Мюррея и др. [7]. Также большой интерес представляет обнаружение в разных регионах планеты новых флавиподобных вирусов, патогенность которых четко не определена [8, 9].

В последнее время обеспокоенность вирусологического сообщества вызывает распространение еще одного представителя флавивирусов – вируса Усуту (*Usutu*, *USUV*, *Orthoflavivirus usutuense*) (сем. *Flaviviridae*, род *Orthoflavivirus*) [10], особенно с момента его выявления в странах Европы и регистрации случаев заболевания людей [11, 12].

Целью данного обзора являлись анализ имеющихся сведений о вирусе Усуту, особенностях его циркуляции и оценка возможности распространения на территории Российской Федерации.

Данный вирус впервые идентифицирован в 1959 г. во время масштабных исследований членистоногих путем внутримозговой инокуляции новорожденных мышей суспензией комаров вида *Culex neavei*, выловленных в дикой природе [13]. Свое наименование новый возбудитель получил от названия реки Усуту в Свазиленде (Южная Африка). В последующем аналогичный вирус удалось выделить от комаров в Уганде [14].

После первой идентификации в Южной Африке этот флавивирус был обнаружен и в других африканских странах: в Сенегале, Кот-д'Ивуаре, Центральноафриканской Республике (ЦАР), Нигерии, Буркина-Фасо, Мали, на Мадагаскаре, в Тунисе и Марокко [14–17], – а также выделен из проб комаров рода *Culex*, собранных в 2014–2015 гг. на территории Израиля [18].

Вирус, вероятно, впервые достиг Европы в конце 1950-х гг., когда получил распространение в Испании,

и повторно был завезен между 1970–1980 гг. в Италию и Австрию. Ретроспективные исследования показали, что с данным возбудителем связана гибель значительного количества птиц в Италии в 1996 г. Предположительно, вирус был занесен на территорию Европы по миграционным путям из Африки, а затем распространился дальше через местных представителей орнитофауны [19]. В 2001 г. было подтверждено его появление в Центральной Европе, предположительно, из ЦАР, что вызвало крупную эпизоотию среди пернатых, особенно черных дроздов, в Австрии [20]. В последующие годы маркеры вируса периодически обнаруживали у различных видов животных (птиц, летучих мышей и лошадей), а также в суспензиях комаров в ряде европейских государств (Бельгия, Чехия, Франция, Германия, Греция, Венгрия, Италия, Испания, Швейцария, Сербия, Хорватия), что свидетельствует об укоренении возбудителя в этих странах [21–24]. Новые эпизоотии были зарегистрированы в 2016 и 2018 гг. и затронули территорию Центральной Европы, в том числе Бельгию, Францию, Германию и Нидерланды [17]. Эти сведения подтверждают не только широкое географическое распространение вируса Усуту (Африка, Ближний Восток и Европа), но и освоение им новых экологических ниш.

Вирус Усуту является классическим представителем флавивирусов, диаметр – примерно 40–60 нм, покрыт оболочкой, в его состав входит одноцепочечная РНК положительной полярности, состоящая из 11064 нуклеотидов. Вирусный геном содержит одну открытую рамку считывания, кодирующую полипротеин из 3434 аминокислот, который после расщепления образует три структурных белка (капсид С, премоembrанный ргМ и оболочечный Е) и восемь неструктурных (NS1/NS1', NS2a, NS2b, NS3, NS4a, 2K, NS4b и NS5) [25]. Схематичное строение вируса представлено на рис. 1.

В соответствии с СанПИН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» вирус Усуту отнесен ко II группе патогенности и к третьему уровню биобезопасности (BSL-3) в рамках международной классификации. Вирусному энцефалиту, вызываемому вирусом Усуту, согласно международному классификатору болезней одиннадцатого пересмотра (МКБ-11) присвоен код 1C80.

Основным переносчиком вируса Усуту, по крайней мере в Европе, являются комары вида *Culex pipiens* [25–27]. Однако вирус был обнаружен и у других представителей рода *Culex*, а также некоторых видов *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Culiseta*, *Mansonia* и *Ochlerotatus* [18, 28, 29], хотя их потенциальная роль в передаче инфекции неизвестна. В образцах, собранных в регионах Северной Италии, и представленных видами *Aedes japonicas* и *Ae. albopictus*, были выявлены генетические маркеры вируса Усуту. Предполагаемые механизмы циркуляции возбудителя в межэпизоотический период пред-

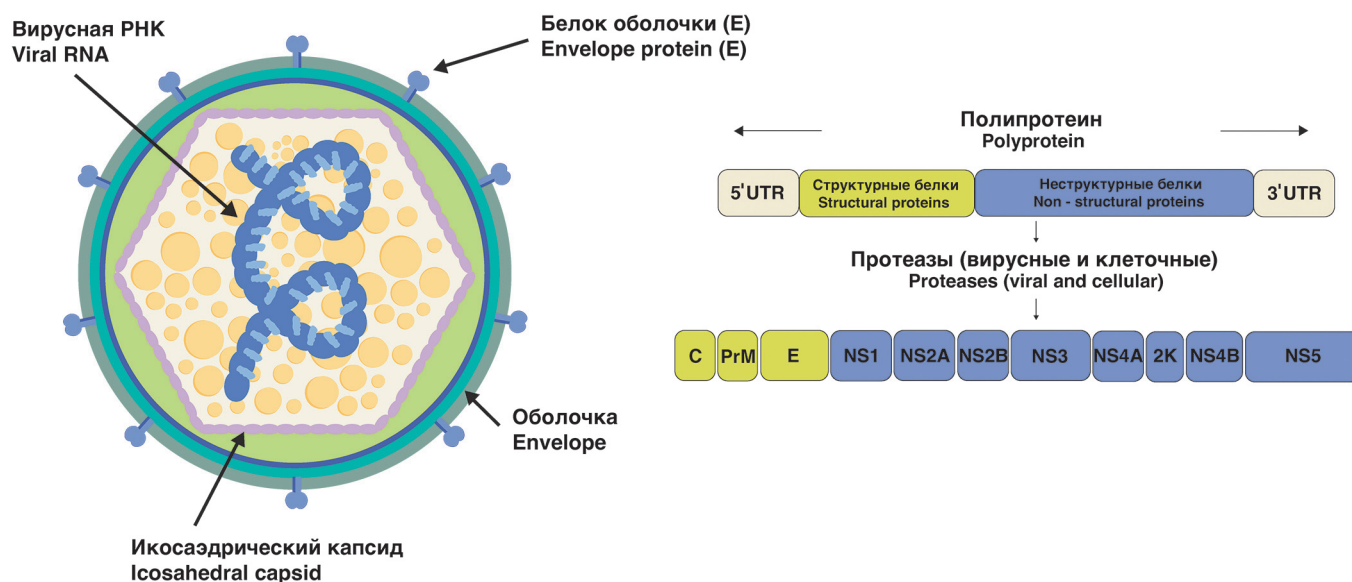


Рис. 1. Схема строения вируса Усуту

Fig. 1. The scheme of the structure of the Usutu virus

полагают его сохранение в инфицированных самках комаров или/и вертикальную передачу вируса потомству. Однако механизмы, обеспечивающие этот процесс, до конца не выяснены. Экспериментальные данные, полученные рядом авторов, указывают на то, что эктопаразиты, относящиеся к видам *C. pipiens* и *C. quinquefasciatus*, в недалеком будущем могут стать потенциальными переносчиками вируса Усуту и в Северной Америке [28].

Показано, что большое количество птиц, встречающихся в Европе (черные дрозды, голуби, сойки, сороки, куропатки, совы, воробьи и др.), могут служить прокормителями для комаров-переносчиков и участвовать в распространении вируса Усуту в качестве первичных хозяев [12, 21, 30, 31]. Многие из тех же или близкородственных видов птиц обитают и на территории Центральной Азии, Дальнего Востока и Северной Америки. Имеются данные о том, что заражению вирусом Усуту подвержено 58 видов птиц, относящихся к 13 отрядам и 26 семействам [31]. Кроме того, специфические антитела к вирусу были выявлены у пернатых обитателей европейских зоопарков (ворон-носорог, пампасный нанду, бурый эму, красный ибис, карибский фламинго, африканский марабу, белый аист, пингвин Гумбольдта, зимородок, павлин, представители утиных, а также сов).

Возбудитель также был обнаружен и в пробах от млекопитающих. Вирус выделен из мозга летучих мышей – нетопырей, которые были найдены мертвыми на юго-западе Германии, что может указывать на участие этих животных в циркуляции патогена [32]. Возможно, и другие виды рукокрылых также могут быть инфицированы вирусом Усуту, но их роль в эпизоотологическом процессе до конца не определена. Совсем недавно этот представитель флавивирусов выделен от некоторых видов грызунов и землероек в Сенегале [15]. Специфические

антитела к данному возбудителю были обнаружены в сыворотках крови лошадей в Италии, Сербии, Хорватии, Польше, на острове Майорка, в Испании, а также Марокко и Тунисе [31, 33]. В крови диких кабанов в Сербии и служебных собак в Марокко и Италии также выявлены нейтрализующие антитела к вирусу. Ретроспективные серологические исследования, проведенные с участием 4693 диких жвачных животных в Испании, показали наличие таких серологических маркеров в 0,1–0,2 % образцов протестированных животных [31]. Предположительно, млекопитающие участвуют в циркуляции вируса, но они являются тупиковыми хозяевами, не способными передавать его другим переносчикам. Схема цикла передачи вируса представлена на рис. 2.

Первые два случая заболевания человека, вызванные вирусом Усуту, были зафиксированы в Африке: в 1980-х гг. – в ЦАР и в 2004 г. – в Буркина-Фасо, – и оба сопровождалась лихорадкой и кожными высыпаниями. Но с тех пор заболеваемость людей регистрируется только на территории Европы, хотя исследования уровня иммунной прослойки населения, проведенные в ряде стран, показывают активную циркуляцию этого вируса и на Африканском континенте [31, 34].

В Европе первые аутохтонные случаи заболеваний, ассоциированные с вирусом Усуту, зарегистрированы в 2009 г. в Италии. Они проявлялись в виде менингоэнцефалита у двух пациентов с иммуносупрессией: один – у женщины, лечившейся от В-клеточной лимфомы, а второй – у перенесшей ортотопическую трансплантацию печени [35, 36]. Также в 2009 г. в образцах спинномозговой жидкости (СМЖ) или/и крови 12 итальянских пациентов с лихорадками была выявлена РНК вируса [34]. С 2017 г. эпидемиологический надзор за заболеванием, вызванным вирусом Усуту, включен в национальный

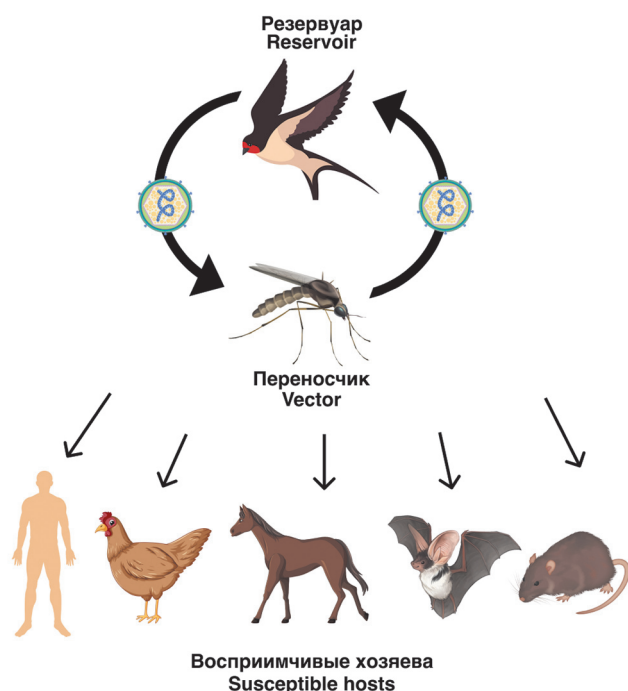


Рис. 2. Цикл передачи вируса Усуту

Fig. 2. The cycle of transmission of the Usutu virus

план с обязательной расшифровкой и регистрацией всех случаев, в результате чего на сегодняшний день большинство сведений о больных получено именно в Италии, что связано с активной циркуляцией вируса в этой стране, а также существующей программой мониторинга. В 2018 г., наряду с шестью случаями лихорадки, выявлен один больной с энцефалитом, связанным с вирусом Усуту [34]. Имеются сведения о двух заболевших в 2022 г.

Случаи заражения людей были зарегистрированы и в других европейских странах, хотя существующие системы мониторинга зачастую не столь эффективны, как в Италии. В 2013 г. в Хорватии зарегистрировано три неврологических случая: у одного пациента был менингит, у двух – менингоэнцефалит. В 2018 г. там же выявили еще три случая заболевания с неврологическими проявлениями и по одному случаю – в Чехии и Венгрии. В 2020 г. больной зарегистрирован в Швейцарии [34]. В 2016 г. во Франции заболевание, вызванное вирусом Усуту, было подтверждено у пациента с идиопатическим параличом лицевого нерва [37]. В 2021 г. в Австрии зарегистрирован один лихорадочный случай, связанный с данным патогеном [38], и больной с признаками менингита – во Франции [34].

Обращает на себя внимание тот факт, что в 2017–2018 гг. в нескольких регионах Италии выявлено 38 доноров, в крови которых была обнаружена РНК вируса Усуту. Во время еще нескольких масштабных исследований донорской крови выявили 24 положительных образца [34]. Последствия для реципиентов, получающих препараты крови, содержащие вирус Усуту, еще до конца не известны. Но в

некоторых европейских регионах донорам, которые недавно перенесли заболевание, не исключающее арбовирусную этиологию, рекомендовано рассмотреть возможность перенести сроки сдачи материала. Европейские организации, работающие с лицами, сдающими свою кровь или внутренние органы для помощи больным, выступают с предложением обновить протоколы тестирования поступающих образцов и добавить обязательный скрининг для выявления маркеров вируса Усуту [34, 38].

Предположительно, у людей инкубационный период длится от 3 до 12 дней после укуса инфицированного комара. Более точных данных нет из-за ограниченной информации о клинических случаях. Затем запускается короткая фаза виремии, после чего появляются первые симптомы болезни. Чаще всего инфекция протекает бессимптомно, но частота встречаемости такого течения болезни в настоящее время неизвестна. Симптоматическая фаза инфекции обычно характеризуется умеренной лихорадкой, иногда сочетающейся с кожными высыпаниями и фебрильной желтухой [34]. Временная сыпь также описана у донора, в крови которого была выявлена РНК вируса Усуту [39]. Описан случай системного заболевания у женщины в возрасте 40 лет, у которой развилась тромбоцитопеническая пурпура с последующей лихорадкой, сыпью и молниеносным гепатитом, комой, что в итоге потребовало проведения трансплантации печени. Четких сведений о том, когда и как она подверглась заражению, а также об окончательном исходе болезни найти не удалось [36]. Инфицирование вирусом Усуту, по-видимому, также может вызывать и неврологические проявления. Один из первых зарегистрированных случаев нейроинвазивного заболевания, вызванного этим возбудителем, был у пожилой женщины с диффузной В-клеточной лимфомой, проходившей химиотерапию, у которой наблюдались лихорадка, тремор в покое и анемия, потребовавшие переливания крови [35]. При исследовании СМЖ (ликвора) и сыворотки крови пациентки методом ОТ-ПЦР была выявлена РНК вируса Усуту. Имеются дополнительные сообщения о нейроинвазивных заболеваниях, вызванных указанным возбудителем, включая неосложненный менингит, который проявлялся лихорадкой, головной болью и ригидностью затылочных мышц [23], и острый паралич лицевого нерва с птозом, дисгевзией и односторонними парестезиями [37].

Учитывая ограниченное количество информации, возможные клинические симптомы, заболеваемость и потенциальная смертность от болезни, вызванной данным патогеном, точно еще не известны. Необходимы масштабные исследования, чтобы лучше определить полный спектр проявлений инфекции. Также предстоит установить и четкую картину заболеваемости, географическое распределение и сезонность (хотя очевидно, что большинство случаев регистрируются в теплые месяцы года, что совпадает с периодом активности основных пере-

носчиков), группы риска, средний возраст больных, пол или другие демографические предрасположенности (хотя были затронуты большинство возрастных групп и оба пола) [38].

Регионы, где удалось выявить маркеры вируса Усуту в материале от людей и животных, а также где отмечены случаи заболевания людей, представлены на рис. 3.

По генетическим особенностям вирус Усуту подразделяют на две группы: африканскую (линии Africa 1, 2, 3) и европейскую (линии Europe 1, 2, 3, 4, 5). Представители генетической линии Africa 1 выделены в образцах, полученных в ЦАР в 1969 г., Africa 2 – в Южной Африке и также включают изоляты, выявленные в Сенегале. В группу Africa 3 формируются штаммы, изолированные в 1981 г. от пациентов из ЦАР. Линия Europe 1, по-видимому, происходит от сенегальского генотипа, который достиг Испании и был вовлечен в первую птичью эпизоотию в Австрии в 2001 г., а Europe 2 появилась во время аутохтонных случаев в Италии в 2009–2010 гг., а также в Австрии и Венгрии в 2016 г. Представители линии Europe 3 ответственны за массовую гибель птиц, наблюдавшуюся в Германии в 2011–2013 гг., во Франции в 2015 г. и в Бельгии в 2016 г. Линия Europe 4 включает всего несколько штаммов, некоторые из которых циркулировали в Италии в 2010 и 2015 гг. Линия Europe 5 впервые выделена от инфицированных птиц в Германии в 2016 г. [38]. Хотя большинство штаммов, циркулирующих в настоящее время в Европе, относятся к европейским вариантам, продолжают внедряться и африканские линии, например Africa 2 и 3 обнаружены в 2018 г. в комарах вида *C. pipiens* на юге Франции [34]. Представители линии Africa 2 также были идентифицированы у пациента во Франции и у сов в Берлинском зоопарке в 2015 г. Филогенетический анализ штаммов вируса Усуту, выделенных от птиц, позволил определить, что идентичность между африканскими и европейскими штаммами составляет 94 %. Показано, что разные линии различаются по вирулентности как для людей, так и для животных и заслуживают дальнейшего изучения с целью лучшего понимания особенностей их распространения и циркуляции [34].

Учитывая, что вирус Усуту по своему генетическому и антигенному составу, а также эпидемиологическим особенностям тесно связан с другим представителем семейства *Flaviviridae* – вирусом Западного Нила (West Nile, WNV, *Orthoflavivirus nilense*) [40], не исключена возможность их совместной циркуляции на одной территории, но риск от такого микста четко не выяснен. Обнаружено, что вирус Усуту циркулирует совместно с возбудителем лихорадки Западного Нила (ЛЗН) в некоторых частях Европы [41]. Случаи коинфекции у людей весьма вероятны, и в этом варианте может произойти изменение симптоматики, что усложнит диагностику заболевания. Так, у донора крови в Австрии была обнаружена острая инфекция потенциально вызванная обоими вирусами [39].

Кроме того, поскольку эти два вируса очень похожи, не исключено развитие так называемого «перекрестного иммунитета», что сделает эпидемиологические модели более сложными. Такая совместная циркуляция неудивительна, учитывая, что у двух близкородственных вирусов общие хозяева – это различные виды птиц и переносчики, в первую очередь комары *Culex* spp. Некоторые из исследований показывают, что в Европе вирус Усуту более широко распространен в человеческой популяции, чем вирус Западного Нила, а изучение встречаемости генетических маркеров обоих патогенов среди комаров-переносчиков это подтверждает [42, 43]. Аналогичная совместная циркуляция вируса Западного Нила и близкородственного флавивируса энцефалита Сент-Луис описана в Северной Америке [44].

Индикацию и идентификацию возбудителя в клиническом и биологическом материале проводят с использованием группы методов: молекулярно-генетических (обнаружение вирусной РНК в крови и СМЖ больных или в суспензиях органов животных, в том числе эктопаразитов), классических вирусологических (выделение вируса на чувствительных клеточных культурах или лабораторных животных) и иммуносерологических (выявление специфических антигенов вируса и/или антител к нему).

Экспериментально показано, что вирус Усуту инфицирует большое количество клеточных линий, наиболее часто используемыми являются комариные *Aedes albopictus* (C6/36) или клетки, полученные из почек обезьян Vero [34].

В литературе описаны многочисленные подходы, позволяющие выявлять РНК вируса Усуту методом ОТ-ПЦР как в качественном, так и в количественном варианте. Наиболее эффективной схемой индикации и идентификации возбудителя является первичный скрининг со специфическими праймерами для всех представителей семейства *Flaviviridae*, а затем типирование позитивных проб методами секвенирования или гибридизации [45]. Этот так называемый «панфлавивирусный» подход, безусловно, более трудоемкий, но дает двойное преимущество. Во-первых, он предполагает более широкий спектр выявляемых патогенов, что важно для комплексного надзора за различными арбовирусами со схожими эпидемиологическими характеристиками, такими как вирусы Западного Нила и Усуту. Во-вторых, этап секвенирования, необходимый для идентификации, также позволяет проводить филогенетический анализ выделенных штаммов [34].

Однако период циркуляции возбудителя в макроорганизме может быть недолгим, а виремия – невысокой и недостаточно стойкой для выявления вирусологическими или молекулярно-генетическими методами. Поэтому для более точной диагностики часто требуется иммуносерологическое исследование сыворотки и/или СМЖ на наличие антител к вирусу Усуту. В качестве иммуносерологических методов чаще всего используют иммунофермент-

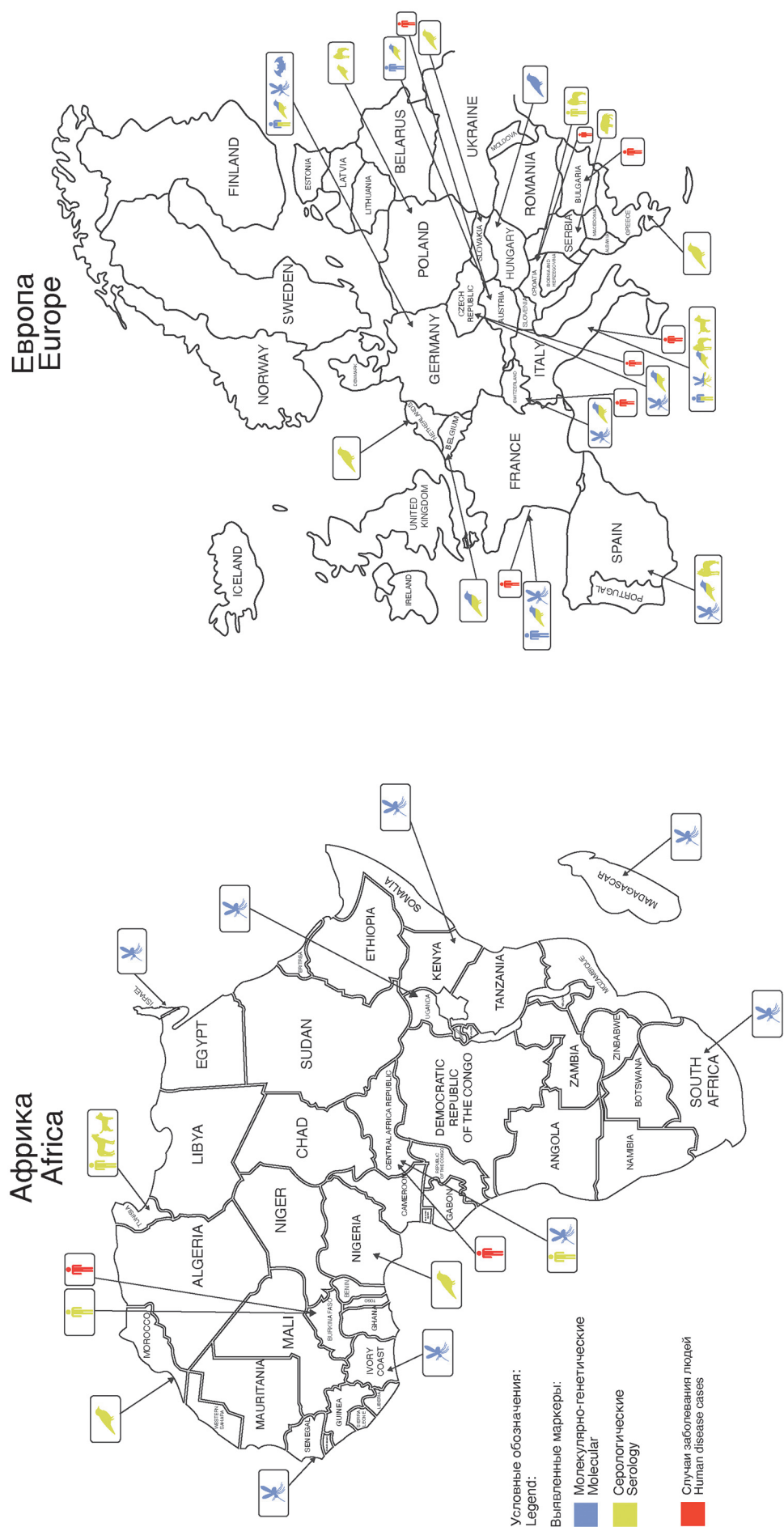


Рис. 3. Распространение вируса Усуту на территории Европы и Африки
Fig. 3. The spread of the Usutu virus in Europe and Africa

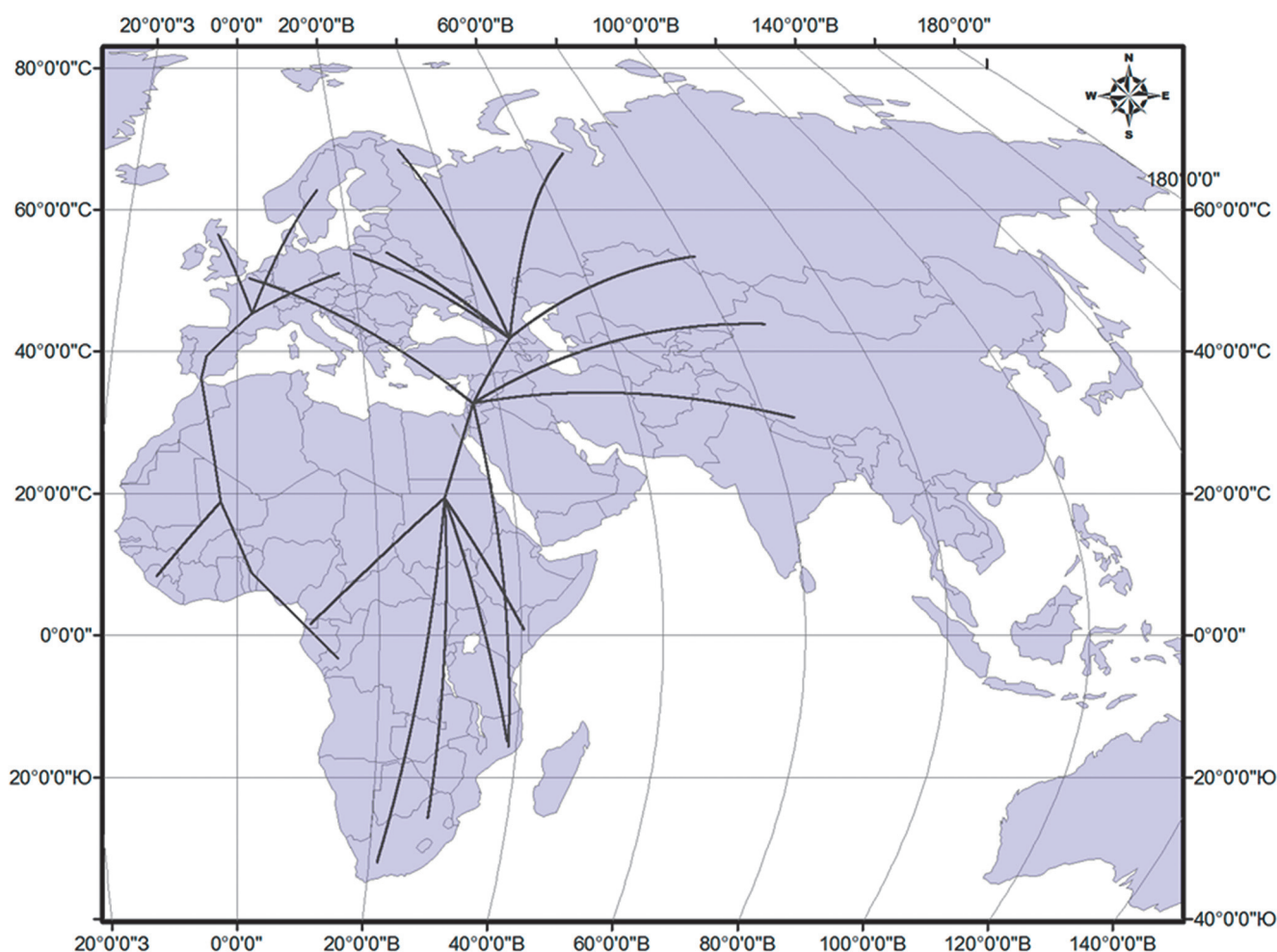


Рис. 4. Основные трассы перелетов отдельных видов птиц из Африки в страны Европы (по материалам сайтов www.erig.ru/burd/177.html)

Fig. 4. The main flight routes of certain bird species from Africa to European countries (based on materials from www.erig.ru/burd/177.html)

ный анализ (ИФА), в некоторых случаях – иммунохроматографический (ИХА), которые проводятся в референс-лабораториях с использованием вирусных антигенов или изолятов. Выявление специфических иммуноглобулинов класса IgM в клиническом материале от больных людей с последующим подтверждающим тестом на нейтрализующие антитела (например, реакция нейтрализации – РН), четырехкратное или более нарастание титра антител в парных сыворотках в остром периоде болезни и во время выздоровления могут считаться подтверждающими признаками недавнего заражения. Однако результаты серологического тестирования следует интерпретировать с осторожностью, учитывая потенциальную перекрестную реактивность между антителами класса IgM к вирусам Усуту и Западного Нила [34, 46]. Недосток данных способов выявления состоит в отсутствии 100 % специфичности, в результате чего их необходимо систематически подтверждать с использованием РН, чтобы снизить риск перекрестных реакций, описанных при инфекциях, вызванных близкородственными флавивирусами.

На сегодняшний день коммерческих диагностических тестов, позволяющих обнаружить вирус Усуту каким-либо методом, не производит ни одна компания в мире. Во всех описанных случаях выявления возбудителя были использованы наборы реагентов, предназначенные только для научных исследований.

В настоящее время специфических методов для терапии инфекционной болезни, вызванной вирусом Усуту, не разработано, хотя фавипиравир (ингибитор вирусной РНК-полимеразы) показал некоторую эффективность у мышей при экспериментальном заражении [47]. Текущее лечение в основном поддерживающее и включает внутривенное введение жидкости, жаропонижающие средства, препараты против тошноты, обезболивание и/или клиническое наблюдение. Пациентам, у которых развивается менингоэнцефалит, необходима госпитализация и наблюдение на предмет повышенного внутричерепного давления и/или судорог.

Так как вирус Усуту передается трансмиссивным путем, предотвращение укусов комаров явля-

ется лучшим способом профилактики заболевания. Специалисты рекомендуют использовать репелленты от насекомых на открытых участках кожи, ношение рубашек с длинными рукавами и брюк, когда это возможно, и/или нанесение перметрина на одежду во время пребывания на открытом воздухе в период активности насекомых.

Вакцины для человека против вируса Усуту в настоящее время нет, но есть сведения о разработке экспериментальной ДНК-вакцины и апробировании ее эффективности на лабораторных животных [48].

Четких данных об изучении возможности распространения вируса Усуту на территории Российской Федерации в доступных и достоверных источниках найти не удалось. Имеются отдельные разрозненные сведения о единичных исследованиях [49, 50]. Так, в 2016 г. группой авторов проведена оценка уровня иммунной прослойки населения отдельных регионов юга европейской части России к вирусу Западного Нила, в рамках которого часть сывороток от больных ЛЗН из Астраханской и Ростовской областей была исследована в РН с вирусом Усуту, но во всех случаях подтверждено только инфицирование вирусом Западного Нила [50].

В то же время известно, что пути миграции перелетных птиц, зимующих в странах Северной и Центральной Африки, пролегают через европейскую часть Российской Федерации. По данным литературных источников, более 140 диких видов птиц могут являться потенциальными носителями арбовирусов. Анализ географии зимовок и маршрутов перелета птиц свидетельствует о возможности прямого заноса вируса Усуту, но также не исключена и эстафетная его передача на путях пролета из вторичных природных очагов этой инфекционной болезни: Средиземноморья, Западной Европы и Ближнего Востока (рис. 4).

Известно, что на территории Российской Федерации обитают те же виды комаров, что признаны основными переносчиками вируса Усуту в Европе, одним из которых является *C. pipiens* [51].

Таким образом, существуют все предпосылки для циркуляции данного арбовируса и на территории нашей страны, и это предположение, несомненно, требует проведения масштабных исследований.

Следует отметить, что для изучения особенностей циркуляции как вируса Усуту, так и любого вновь появляющегося арбовируса, необходимо использовать междисциплинарный подход с участием и врачей, в том числе эпидемиологов, вирусологов, клиницистов, и биологов – орнитологов, энтомологов, а также тесное взаимодействие между медицинскими, ветеринарными и экологическими организациями в соответствии с подходом «Единое здоровье». Такое сотрудничество поможет восполнить пробелы в данных по эпидемиологии заболевания, вызванного вирусом Усуту, определить основные факторы риска, а также разработать совместные программы по мониторингу и профилактике.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Ramat T.K., Adedokun K.A., Olanrinmoye A.O. Ebola outbreak in West Africa, 2014–2016: Epidemic timeline, differential diagnoses, determining factors, and lessons for future response. *J. Infect. Public Health*. 2020; 13(7):956–62. DOI: 10.1016/j.jiph.2020.03.014.
2. WHO – Dengue and Severe Dengue. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue> (дата обращения 14.09.2023).
3. Lorenz C., de Azevedo Th. S., Chiaravalloti-Neto F. Impact of climate change on West Nile virus distribution in South America. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2022; 116(11):1043–53. DOI: 10.1093/trstmh/trac044.
4. Negrodo A., Sánchez-Arroyo R., Díez-Fuertes F., de Ory F., Budiño M.A., Vázquez A., Garcinuño A., Hernández L., de la Hoz González C., Gutiérrez-Arroyo A., Grande C., Sánchez-Seco P. Fatal case of Crimean-Congo hemorrhagic fever caused by reassortant virus, Spain, 2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(4):1211–5. DOI: 10.3201/eid2704.203462.
5. Li J., Li S., Yang L., Cao P., Lu J. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus: a highly lethal bunyavirus. *Crit. Rev. Microbiol.* 2021; 47(1):112–25. DOI: 10.1080/1040841X.2020.1847037.
6. Mora C., McKenzie T., Gaw I.M., Dean J.M., von Hammerstein H., Knudson T.A., Setter R.O., Smith C.Z., Webster K.M., Patz J.A., Franklin E.C. Over half of known human pathogenic diseases can be aggravated by climate change. *Nat. Clim. Chang.* 2022; 12(9):869–75. DOI: 10.1038/s41558-022-01426-1.
7. Львов Д.К., редактор. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. М.: Медицинское информационное агентство; 2013. 1200 с.
8. Карташов М.Ю., Гладышева А.В., Найденова Е.В., Захаров К.С., Швалов А.Н., Кривошеина Е.И., Сеничкина А.М., Ба М.Б., Терновой В.А., Бумбали С., Локтев В.Б. Молекулярно-генетическая характеристика многокомпонентного флавиподобного вируса Kindia tick virus (Flaviviridae), обнаруженного в иксодовых клещах на территории Гвинейской Республики. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67(6):487–95. DOI: 10.36233/0507-4088-145.
9. Dincer E., Hacıoğlu S., Kar S., Emanet N., Brinkmann A., Nitsche A., Özkul A., Linton Y.-M., Ergünay K. Survey and characterization of jingmen tick virus variants. *Viruses*. 2019; 11(11):1071. DOI: 10.3390/v11111071.
10. Taxonomic Information. [Электронный ресурс]. URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy> (дата обращения 20.08.2023).
11. Clé M., Beck C., Salinas S., Lecollinet S., Gutierrez S., Van de Perre P., Baldet T., Foulongne V., Simonin Y. Usutu virus: A new threat? *Epidemiol. Infect.* 2019; 147:e232. DOI: 10.1017/S0950268819001213.
12. Ashraf U., Ye J., Ruan X., Wan S., Zhu B., Cao S. Usutu virus: an emerging flavivirus in Europe. *Viruses*. 2015; 7(1):219–38. DOI: 10.3390/v7010219.
13. McIntosh B.M. Usutu (SAAr 1776); nouvel arbovirus du groupe B. *Int. Cat. Arboviruses*. 1985; 3:1059–60.
14. Nikolay B., Diallo M., Boye C.S., Sall A.A. Usutu virus in Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011; 11(11):1417–23. DOI: 10.1089/vbz.2011.0631.
15. Diagne M.M., Ndione M.H.D., Di Paola N., Fall G., Bedekelabou A.P., Sembène P.M., Faye O., Zannot P.M.A., Sall A.A. Usutu virus isolated from rodents in Senegal. *Viruses*. 2019; 11(2):181. DOI: 10.3390/v11020181.
16. Tinto B., Kaboré D.P.A., Kagoné T.S., Constant O., Barthelemy J., Kiba-Koumaré A., Van de Perre P., Dabiré R.K., Baldet T., Gutierrez S., Gil P., Kania D., Simonin Y. Screening of circulation of Usutu and West Nile viruses: a one health approach in humans, domestic animals and mosquitoes in Burkina-Faso, West Africa. *Microorganisms*. 2022; 10(10):2016. DOI: 10.3390/microorganisms10102016.
17. Massengo N.R.B., Tinto B., Simonin Y. One health approach to arbovirus control in Africa: interests, challenges and difficulties. *Microorganisms*. 2023; 11(6):1496. DOI: 10.3390/microorganisms11061496.
18. Mannasse B., Mendelson E., Orshan L., Mor O., Shalom U., Yeger T., Lustig Y. Usutu virus RNA in mosquitoes, Israel, 2014–2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(10):1699–702. DOI: 10.3201/eid2310.171017.
19. Roesch F., Fajardo A., Moratorio G., Vignuzzi M. Usutu virus: an arbovirus on the rise. *Viruses*. 2019; 11(7):640. DOI: 10.3390/v11070640.

20. Engel D., Jöst H., Wink M., Böstler J., Bosch S., Garigliany M.M., Jöst A., Czajka C., Lühken R., Ziegler U., Groschup M.H., Pfeffer M., Becker N., Cadar D., Schmidt-Chanasit J. Reconstruction of the evolutionary history and dispersal of Usutu virus, a neglected emerging arbovirus in Europe and Africa. *mBio*. 2016; 7(1):e01938-15. DOI: 10.1128/mBio.01938-15.
21. Chvala S., Bakonyi T., Bukovsky C., Meister T., Brugger K., Rubel F., Nowotny N., Weissenböck H. Monitoring of Usutu virus activity and spread by using dead bird surveillance in Austria, 2003–2005. *Vet. Microbiol.* 2007; 122(3-4):237–45. DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.01.029.
22. Fros J.J., Miesen P., Vogels C.B., Gaibani P., Sambri V., Martina B.E., Koenraadt C.J., van Rij R.P., Vlak J.M., Takken W., Pijlman G.P. Comparative Usutu and West Nile virus transmission potential by local *Culex pipiens* mosquitoes in north-western Europe. *One Health*. 2015; 1:31–6. DOI: 10.1016/j.onehlt.2015.08.002.
23. Nagy A., Mezei E., Nagy O., Bakonyi T., Csonka N., Kaposi M., Koroknai A., Szomor K., Rigó Z., Molnár Z., Dánielisz A., Takács M. Extraordinary increase in West Nile virus cases and first confirmed human Usutu virus infection in Hungary, 2018. *Euro Surveill.* 2019; 24(28):1900038. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.28.1900038.
24. Vojtišek J., Pečta R., Kejková R., Hubálek Z., Šikutová S., Rudolf I. Usutu virus, another emerging mosquito-borne pathogen in Central Europe. *Mil. Med. Sci. Lett. (Voj. Zdrav. Listy)*. 2022; 91(1):51–64. DOI: 10.31482/mmsl.2021.031.
25. Lindenbach B.D., Rice C.M. Molecular biology of flaviviruses. *Adv. Virus Res.* 2003; 59:23–61. DOI: 10.1016/S0065-3527-(03)59002-9.
26. Calzolari M., Bonilauri P., Bellini R., Albieri A., Defilippo F., Tamba M., Tassinari M., Gelati A., Cordioli P., Angelini P., Dottori M. Usutu virus persistence and West Nile virus inactivity in the Emilia-Romagna region (Italy) in 2011. *PLoS One*. 2013; 8(5):e63978. DOI: 10.1371/journal.pone.0063978.
27. Engel D., Jöst H., Wink M., Böstler J., Bosch S., Garigliany M., Jöst A., Czajka C., Lühken R., Ziegler U., Groschup M.H., Pfeffer M., Becker N., Cadar D., Schmidt-Chanasit J. Reconstruction of the evolutionary history and dispersal of Usutu virus, a neglected emerging arbovirus in Europe and Africa. *mBio*. 2016; 7(1):e01938-15. DOI: 10.1128/mBio.01938-15.
28. Cook C.L., Huang Y.S., Lyons A.C., Alto B.W., Unlu I., Higgs S., Vanlandingham D.L. North American *Culex pipiens* and *Culex quinquefasciatus* are competent vectors for Usutu virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(8):e0006732. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006732.
29. Camp J.V., Kolodziejek J., Nowotny N. Targeted surveillance reveals native and invasive mosquito species infected with Usutu virus. *Parasit. Vectors*. 2019; 12(1):46. DOI: 10.1186/s13071-019-3316-z.
30. Calzolari M., Gaibani P., Bellini R., Defilippo F., Pierro A., Albieri A., Maioli G., Luppi A., Rossini G., Balzani A., Tamba M., Galletti G., Gelati A., Carrieri M., Poglayen G., Cavrini F., Natalini S., Dottori M., Sambri V., Angelini P., Bonilauri P. Mosquito, bird and human surveillance of West Nile and Usutu viruses in Emilia-Romagna Region (Italy) in 2010. *PLoS One*. 2012; 7(5):e38058. DOI: 10.1371/journal.pone.0038058.
31. Cadar D., Simonin Y. Human Usutu virus infections in Europe: a new risk on horizon? *Viruses*. 2023; 15(1):77. DOI: 10.3390/v15010077.
32. Cadar D., Becker N., Campos R. de M., Böstler J., Jöst H., Schmidt-Chanasit J. Usutu virus in bats, Germany, 2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(10):1771–3. DOI: 10.3201/eid2010.140909.
33. Magallanes Argany S., Llorente F., Ruiz-Lopez M.J., Martínez-de la Puente J., Soriguer R.C., Calderon J., Jimenez-Clavero M.A., Aguilera-Sepúlveda P., Figuerola J. Long-term serological surveillance for West Nile and Usutu virus in horses in south-west Spain. *One Health*. 2023; 17(2020):100578. DOI: 10.1016/j.onehlt.2023.100578.
34. European Centre for Disease Prevention and Control. [Электронный ресурс]. URL: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Surveillance_prevention_and_control_of_WNV_and_Usutu_virus_infections_in_the_EU-EEA.pdf.
35. Pecorari M., Longo G., Gennari W., Grottola A., Sabbatini A., Tagliazucchi S., Savini G., Monaco F., Simone M., Lelli R., Rumpianesi F. First human case of Usutu virus neuroinvasive infection, Italy, August–September 2009. *Euro Surveill.* 2009; 14(50):19446.
36. Cavrini F., Gaibani P., Longo G., Pierro A.M., Rossini G., Bonilauri P., Gerunda G.E., Di Benedetto F., Pasetto A., Girardis M., Dottori M., Landini M.P., Sambri V. Usutu virus infection in a patient who underwent orthotopic liver transplantation, Italy, August–September 2009. *Euro Surveill.* 2009; 14(50):19448. Erratum in: *Euro Surveill.* 2012; 17(37). pii: 20267.
37. Simonin Y., Sillam O., Carles M.J., Gutierrez S., Gil P., Constant O., Martin M.F., Girard G., Van de Perre P., Salinas S., Leparc-Goffart I., Foulongne V. Human Usutu virus infection with atypical neurologic presentation, Montpellier, France, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(5):875–8. DOI: 10.3201/eid2405.171122.
38. Zelená H., Kleinerová J., Šikutová S., Straková P., Kocourková H., Stebel R., Husa P., Husa P. Jr, Tesařová E., Lejdarová H., Šebesta O., Juráš P., Čiupěk R., Mrázek J., Rudolf I. First autochthonous West Nile Lineage 2 and Usutu virus infections in humans, July to October 2018, Czech Republic. *Pathogens*. 2021; 10(6):651. DOI: 10.3390/pathogens10060651.
39. Aberle S.W., Kolodziejek J., Jungbauer C., Stiasny K., Aberle J.H., Zoufaly A., Hourfar M.K., Weidner L., Nowotny N. Increase in human West Nile and Usutu virus infections, Austria, 2018. *Euro Surveill.* 2018; 23(43):1800545. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.43.1800545.
40. Taxonomic Information. [Электронный ресурс]. URL: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy> (дата обращения 20.08.2023).
41. Nikolay B. A review of West Nile and Usutu virus co-circulation in Europe: how much do transmission cycles overlap? *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2015; 109(10):609–18. DOI: 10.1093/trstmh/trv066.
42. Barzon L. Ongoing and emerging arbovirus threats in Europe. *J. Clin. Virol.* 2018; 107:38–47. DOI: 10.1016/j.jcv.2018.08.007.
43. Čabanová V., Šikutová S., Straková P., Šebesta O., Vichová B., Zubriková D., Miterpáková M., Mendel J., Hurníková Z., Hubálek Z., Rudolf I. Co-circulation of West Nile and Usutu flaviviruses in mosquitoes in Slovakia, 2018. *Viruses*. 2019; 11(7):639. DOI: 10.3390/v11070639.
44. Venkat H., Krow-Lucal E., Hennessey M., Jones J., Adams L., Fischer M., Sylvester T., Levy C., Smith K., Plante L., Komatsu K., Staples J.E., Hills S. Concurrent outbreaks of St. Louis encephalitis virus and West Nile virus disease – Arizona, 2015. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2015; 64(48):1349–50. DOI: 10.15585/mmwr.mm6448a5.
45. Reusken C., Baronti C., Mogling R., Papa A., Leitmeyer K., Charrel R.N. Toscana, West Nile, Usutu and tick-borne encephalitis viruses: external quality assessment for molecular detection of emerging neurotropic viruses in Europe, 2017. *Euro Surveill.* 2019; 24(50):1900051. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.50.1900051.
46. CDC – About the Arbovirus Reference Collection (ARC). [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/nceiz/dvbd/specimensub/arc> (дата обращения 20.08.2023).
47. Segura Guerrero N.A., Sharma S., Neyts J., Kaptein S.J.F. Favipiravir inhibits *in vitro* Usutu virus replication and delays disease progression in an infection model in mice. *Antiviral Res.* 2018; 160:137–42. DOI: 10.1016/j.antiviral.2018.10.026.
48. Martín-Acebes M.A., Blázquez A.B., Cañas-Arranz R., Vázquez-Calvo A., Merino-Ramos T., Escibano-Romero E., Sobrino F., Saiz J.C. A recombinant DNA vaccine protects mice deficient in the alpha/beta interferon receptor against lethal challenge with Usutu virus. *Vaccine*. 2016; 34(18):2066–73. DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.03.015.
49. Логинова Н.В., Дерябин П.Г., Вашкова В.В. Биологическая характеристика коллекционных штаммов вирусов группы японского энцефалита. *Вопросы вирусологии*. 2015; 60(1):17–20.
50. Козлова А.А., Бутенко А.М., Ларичев В.Ф., Азарян А.Р., Гришанова А.П., Ивашенко Е.И., Шендо Г.Л., Дзагурова Т.К., Пиликова О.М., Василенко Н.Ф. Изучение ареала вируса Западного Нила на территории европейской части России; результаты сероэпидемиологических исследований. Сообщение 1: Астраханская область, Краснодарский край, Ставропольский край, Саратовская область. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2016; 21(5):244–52. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-5-244-252.
51. Горностаева Р.М. Новый список комаров (Diptera: Culicidae) России. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2009; 1:60–2.

References

1. Ramat T.K., Adedokun K.A., Olanrinmoye A.O. Ebola outbreak in West Africa, 2014–2016: Epidemic timeline, differential diagnoses, determining factors, and lessons for future response. *J. Infect. Public Health*. 2020; 13(7):956–62. DOI: 10.1016/j.jiph.2020.03.014.
2. WHO – Dengue and Severe Dengue. (Cited 14 Sept 2023) [Internet]. Available from: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>.
3. Lorenz C., de Azevedo Th. S., Chiaravallotti-Neto F. Impact of climate change on West Nile virus distribution in South America. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2022; 116(11):1043–53. DOI: 10.1093/trstmh/trac044.
4. Negrodo A., Sánchez-Arroyo R., Díez-Fuertes F., de Ory F., Budiño M.A., Vázquez A., Garcinuño A., Hernández L., de la Hoz González C., Gutiérrez-Arroyo A., Grande C., Sánchez-Seco P. Fatal case of Crimean-Congo hemorrhagic fever caused by reassortant virus, Spain, 2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(4):1211–5. DOI: 10.3201/eid2704.203462.
5. Li J., Li S., Yang L., Cao P., Lu J. Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus: a highly lethal bunyavirus. *Crit. Rev. Microbiol.* 2021; 47(1):112–25. DOI: 10.1080/1040841X.2020.1847037.

6. Mora C., McKenzie T., Gaw I.M., Dean J.M., von Hammerstein H., Knudson T.A., Setter R.O., Smith C.Z., Webster K.M., Patz J.A., Franklin E.C. Over half of known human pathogenic diseases can be aggravated by climate change. *Nat. Clim. Chang.* 2022; 12(9):869–75. DOI: 10.1038/s41558-022-01426-1.
7. Lvov D.K., editor. [Guide to Virology. Viruses and Viral Infections of Humans and Animals]. Moscow: Publishing House "Medical News Agency"; 2013. 1200 p.
8. Kartashov M.Yu., Gladysheva A.V., Naidenova E.V., Zakharov K.S., Krivosheina E.I., Shvalov A.N., Senichkina A.M., Bah M.B., Ternovoi V.A., Boumbaly S., Loktev V.B. [Molecular and genetic characteristics of the multicomponent flavivirus-like Kindia tick virus (Flaviviridae) found in ixodid ticks on the territory of the Republic of Guinea]. *Voprosy Virologii [Problems of Virology]*. 2022; 67(6):487–95. DOI: 10.36233/0507-4088-145.
9. Dinçer E., Hacıoğlu S., Kar S., Emanet N., Brinkmann A., Nitsche A., Özkul A., Linton Y.-M., Ergünay K. Survey and characterization of jingmen tick virus variants. *Viruses*. 2019; 11(11):1071. DOI: 10.3390/v11111071.
10. Taxonomic Information. (Cited 20 Aug 2023). [Internet]. Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>.
11. Clé M., Beck C., Salinas S., Lecollinet S., Gutierrez S., Van de Perre P., Baldet T., Foulongne V., Simonin Y. Usutu virus: A new threat? *Epidemiol. Infect.* 2019; 147:e232. DOI: 10.1017/S0950268819001213.
12. Ashraf U., Ye J., Ruan X., Wan S., Zhu B., Cao S. Usutu virus: an emerging flavivirus in Europe. *Viruses*. 2015; 7(1):219–38. DOI: 10.3390/v7010219.
13. McIntosh B.M. Usutu (SAAR 1776); nouvel arbovirus du groupe B. *Int. Cat. Arboviruses*. 1985; 3:1059–60.
14. Nikolay B., Diallo M., Boye C.S., Sall A.A. Usutu virus in Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011; 11(11):1417–23. DOI: 10.1089/vbz.2011.0631.
15. Diagne M.M., Ndione M.H.D., Di Paola N., Fall G., Bedekelabou A.P., Sembène P.M., Faye O., Zannotto P.M.A., Sall A.A. Usutu virus isolated from rodents in Senegal. *Viruses*. 2019; 11(2):181. DOI: 10.3390/v11020181.
16. Tinto B., Kaboré D.P.A., Kagoné T.S., Constant O., Barthelemy J., Kiba-Koumaré A., Van de Perre P., Dabiré R.K., Baldet T., Gutierrez S., Gil P., Kania D., Simonin Y. Screening of circulation of Usutu and West Nile viruses: a one health approach in humans, domestic animals and mosquitoes in Burkina-Faso, West Africa. *Microorganisms*. 2022; 10(10):2016. DOI: 10.3390/microorganisms10102016.
17. Massengo N.R.B., Tinto B., Simonin Y. One health approach to arbovirus control in Africa: interests, challenges and difficulties. *Microorganisms*. 2023; 11(6):1496. DOI: 10.3390/microorganisms11061496.
18. Mannasse B., Mendelson E., Orshan L., Mor O., Shalom U., Yeger T., Lustig Y. Usutu virus RNA in mosquitoes, Israel, 2014–2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23(10):1699–702. DOI: 10.3201/eid2310.171017.
19. Roesch F., Fajardo A., Moratorio G., Vignuzzi M. Usutu virus: an arbovirus on the rise. *Viruses*. 2019; 11(7):640. DOI: 10.3390/v11070640.
20. Engel D., Jöst H., Wink M., Böstler J., Bosch S., Garigliani M.M., Jöst A., Czajka C., Lühken R., Ziegler U., Groschup M.H., Pfeffer M., Becker N., Cadar D., Schmidt-Chanasit J. Reconstruction of the evolutionary history and dispersal of Usutu virus, a neglected emerging arbovirus in Europe and Africa. *mBio*. 2016; 7(1):e01938-15. DOI: 10.1128/mBio.01938-15.
21. Chvala S., Bakonyi T., Bukovsky C., Meister T., Brugger K., Rubel F., Nowotny N., Weissenböck H. Monitoring of Usutu virus activity and spread by using dead bird surveillance in Austria, 2003–2005. *Vet. Microbiol.* 2007; 122(3–4):237–45. DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.01.029.
22. Fros J.J., Miesen P., Vogels C.B., Gaibani P., Sambri V., Martina B.E., Koenraadt C.J., van Rij R.P., Vlak J.M., Takken W., Pijlman G.P. Comparative Usutu and West Nile virus transmission potential by local *Culex pipiens* mosquitoes in north-western Europe. *One Health*. 2015; 1:31–6. DOI: 10.1016/j.onehlt.2015.08.002.
23. Nagy A., Mezei E., Nagy O., Bakonyi T., Csonka N., Kaposi M., Koroknai A., Szomor K., Rigó Z., Molnár Z., Dánielisz A., Takács M. Extraordinary increase in West Nile virus cases and first confirmed human Usutu virus infection in Hungary, 2018. *Euro Surveill.* 2019; 24(28):1900038. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.28.1900038.
24. Vojtišek J., Pečta R., Kejková R., Hubálek Z., Šikutová S., Rudolf I. Usutu virus, another emerging mosquito-borne pathogen in Central Europe. *Mil. Med. Sci. Lett. (Voj. Zdrav. Listy)*. 2022; 91(1):51–64. DOI: 10.31482/mmml.2021.031.
25. Lindenbach B.D., Rice C.M. Molecular biology of flaviviruses. *Adv. Virus Res.* 2003; 59:23–61. DOI: 10.1016/s0065-3527-(03)59002-9.
26. Calzolari M., Bonilauri P., Bellini R., Albieri A., Defilippo F., Tamba M., Tassinari M., Gelati A., Cordioli P., Angelini P., Dottori M. Usutu virus persistence and West Nile virus inactivity in the Emilia-Romagna region (Italy) in 2011. *PLoS One*. 2013; 8(5):e63978. DOI: 10.1371/journal.pone.0063978.
27. Engel D., Jöst H., Wink M., Böstler J., Bosch S., Garigliani M., Jöst A., Czajka C., Lühken R., Ziegler U., Groschup M.H., Pfeffer M., Becker N., Cadar D., Schmidt-Chanasit J. Reconstruction of the evolutionary history and dispersal of Usutu virus, a neglected emerging arbovirus in Europe and Africa. *mBio*. 2016; 7(1):e01938-15. DOI: 10.1128/mBio.01938-15.
28. Cook C.L., Huang Y.S., Lyons A.C., Alto B.W., Unlu I., Higgs S., Vanlandingham D.L. North American *Culex pipiens* and *Culex quinquefasciatus* are competent vectors for Usutu virus. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018; 12(8):e0006732. DOI: 10.1371/journal.pntd.0006732.
29. Camp J.V., Kolodziejek J., Nowotny N. Targeted surveillance reveals native and invasive mosquito species infected with Usutu virus. *Parasit. Vectors*. 2019; 12(1):46. DOI: 10.1186/s13071-019-3316-z.
30. Calzolari M., Gaibani P., Bellini R., Defilippo F., Pierro A., Albieri A., Maioli G., Luppi A., Rossini G., Balzani A., Tamba M., Galletti G., Gelati A., Carrieri M., Poglayen G., Cavrini F., Natalini S., Dottori M., Sambri V., Angelini P., Bonilauri P. Mosquito, bird and human surveillance of West Nile and Usutu viruses in Emilia-Romagna Region (Italy) in 2010. *PLoS One*. 2012; 7(5):e38058. DOI: 10.1371/journal.pone.0038058.
31. Cadar D., Simonin Y. Human Usutu virus infections in Europe: a new risk on horizon? *Viruses*. 2023; 15(1):77. DOI: 10.3390/v15010077.
32. Cadar D., Becker N., Campos R. de M., Böstler J., Jöst H., Schmidt-Chanasit J. Usutu virus in bats, Germany, 2013. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20(10):1771–3. DOI: 10.3201/eid2010.140909.
33. Magallanes Argany S., Llorente F., Ruiz-Lopez M.J., Martínez-de la Puente J., Soriguer R.C., Calderon J., Jimenez-Clavero M.A., Aguilera-Sepúlveda P., Figuerola J. Long-term serological surveillance for West Nile and Usutu virus in horses in south-West Spain. *One Health*. 2023; 17(2020):100578. DOI: 10.1016/j.onehlt.2023.100578.
34. European Centre for Disease Prevention and Control. (Cited 20 Aug 2023). [Internet]. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Surveillance_prevention_and_control_of_WNV_and_Usutu_virus_infections_in_the_EU-EEA.pdf.
35. Pecorari M., Longo G., Gennari W., Gruttola A., Sabbatini A., Tagliazucchi S., Savini G., Monaco F., Simone M., Lelli R., Rumpianesi F. First human case of Usutu virus neuroinvasive infection, Italy, August–September 2009. *Euro Surveill.* 2009; 14(50):19446.
36. Cavrini F., Gaibani P., Longo G., Pierro A.M., Rossini G., Bonilauri P., Gerunda G.E., Di Benedetto F., Pasetto A., Girardis M., Dottori M., Landini M.P., Sambri V. Usutu virus infection in a patient who underwent orthotopic liver transplantation, Italy, August–September 2009. *Euro Surveill.* 2009; 14(50):19448. Erratum in: *Euro Surveill.* 2012; 17(37). pii: 20267.
37. Simonin Y., Sillam O., Carles M.J., Gutierrez S., Gil P., Constant O., Martin M.F., Girard G., Van de Perre P., Salinas S., Leparc-Goffart I., Foulongne V. Human Usutu virus infection with atypical neurologic presentation, Montpellier, France, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(5):875–8. DOI: 10.3201/eid2405.171122.
38. Zelená H., Kleinerová J., Šikutová S., Straková P., Kocourková H., Stebel R., Husa P., Husa P. Jr, Tesařová E., Lejdarová H., Sebesta O., Juráš P., Čiupek R., Mrázek J., Rudolf I. First autochthonous West Nile Lineage 2 and Usutu virus infections in humans, July to October 2018, Czech Republic. *Pathogens*. 2021; 10(6):651. DOI: 10.3390/pathogens10060651.
39. Aberle S.W., Kolodziejek J., Jungbauer C., Stiasny K., Aberle J.H., Zoufaly A., Hourfar M.K., Weidner L., Nowotny N. Increase in human West Nile and Usutu virus infections, Austria, 2018. *Euro Surveill.* 2018; 23(43):1800545. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2018.23.43.1800545.
40. Taxonomic Information. (Cited 20 Aug 2023). [Internet]. Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy>.
41. Nikolay B. A review of West Nile and Usutu virus co-circulation in Europe: how much do transmission cycles overlap? *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2015; 109(10):609–18. DOI: 10.1093/trstmh/trv066.
42. Barzon L. Ongoing and emerging arbovirus threats in Europe. *J. Clin. Virol.* 2018; 107:38–47. DOI: 10.1016/j.jcv.2018.08.007.
43. Čabanová V., Šikutová S., Straková P., Sebesta O., Vichová B., Zubříková D., Miterpáková M., Mendel J., Humíková Z., Hubálek Z., Rudolf I. Co-circulation of West Nile and Usutu flaviviruses in mosquitoes in Slovakia, 2018. *Viruses*. 2019; 11(7):639. DOI: 10.3390/v11070639.
44. Venkat H., Krow-Lucal E., Hennessey M., Jones J., Adams L., Fischer M., Sylvester T., Levy C., Smith K., Plante L., Komatsu K., Staples J.E., Hills S. Concurrent outbreaks of St. Louis encephalitis virus and West Nile virus disease – Arizona, 2015. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2015; 64(48):1349–50. DOI: 10.15585/mmwr.mm6448a5.
45. Reusken C., Baronti C., Mogling R., Papa A., Leitmeyer K., Charrel R.N. Toscana, West Nile, Usutu and tick-borne encephalitis viruses: external quality assessment for molecular detection of emerging neurotropic viruses in Europe, 2017. *Euro Surveill.* 2019; 24(50):1900051. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2019.24.50.1900051.

46. CDC – About the Arbovirus Reference Collection (ARC). (Cited 20 Aug 2023). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/ncezid/dvbd/specimensub/arc>.

47. Segura Guerrero N.A., Sharma S., Neyts J., Kaptein S.J.F. Favipiravir inhibits *in vitro* Usutu virus replication and delays disease progression in an infection model in mice. *Antiviral. Res.* 2018; 160:137–42. DOI: 10.1016/j.antiviral.2018.10.026.

48. Martín-Acebes M.A., Blázquez A.B., Cañas-Arranz R., Vázquez-Calvo A., Merino-Ramos T., Escribano-Romero E., Sobrino F., Saiz J.C. A recombinant DNA vaccine protects mice deficient in the alpha/beta interferon receptor against lethal challenge with Usutu virus. *Vaccine.* 2016; 34(18):2066–73. DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.03.015.

49. Loginova N.V., Deryabin P.G., Vashkova V.V. [The biological characteristic of the collection strains of viruses from the subgroup of Japanese encephalitis]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2015; 60(1):17–20.

50. Kozlova A.A., Butenko A.M., Larichev V.F., Azarian R.A., Grishanova A.P., Ivashchenko E.I., Sando G.L., Dzagurova T.K., Pilikova O.M., Vasilenko N.F. [The study of the area of distribution of West Nile virus in the territory of the European part of Russia; the

results of seroepidemiological research. Report 1: Astrakhan region, Krasnodar region, Stavropol region, Saratov region]. *Epidemiologia i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2016; 21(5):244–52. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-5-244-252.

51. Gornostaeva R.M. [New list of mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Russia]. *Medicinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 2009; (1):60–2.

Authors:

Naidenova E.V., Zakharov K.S., Blinova K.D., Shvidenko I.G., Boiko 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:

Найденова Е.В., Захаров К.С., Блинова К.Д., Швиденко И.Г., Бойко А.В., Щербакова С.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-33-42

УДК 578.833

Л.В. Рубис

Распространение вируса Синдбис в Фенноскандии*ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Российская Федерация*

Во второй половине прошлого века на территории Фенноскандии сформировался стойкий очаг заболеваний, вызываемых вирусом Синдбис. В разных странах заболевание получило названия «болезнь Погоста», «болезнь Окедьбо» и «карельская лихорадка». Наиболее высокая заболеваемость – в Финляндии, где заболевания регистрируются ежегодно в диапазоне от sporadических случаев до крупных вспышек с сотнями пострадавших. В других странах Скандинавии и в России в настоящее время выявляются единичные случаи инфекции. Данные о регистрируемой заболеваемости и результаты сероэпидемиологических исследований свидетельствуют о неравномерном распространении инфекции на территории Фенноскандии, причины которого требуют изучения. В статье приведены современные данные о возбудителе, его распространении среди населения и в биоценозе Фенноскандии, клинических особенностях, диагностике и эпидемиологических характеристиках заболеваемости.

Ключевые слова: вирус Синдбис, карельская лихорадка, болезнь Окедьбо, болезнь Погоста, Фенноскандия.

Корреспондирующий автор: Рубис Людмила Викторовна, e-mail: rubusja@mail.ru.

Для цитирования: Рубис Л.В. Распространение вируса Синдбис в Фенноскандии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:33–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-33-42

Поступила 16.06.2022. Отправлена на доработку 31.10.2022. Принята к публ. 10.03.2023.

L.V. Rubis**Spread of the Sindbis Virus in Fennoscandia***Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, Russian Federation*

Abstract. In the second half of the last century, a persistent focus of the disease caused by Sindbis virus was formed on the territory of Fennoscandia. In different countries, the disease is called Pogosta disease, Ockelbo disease and Karelian fever. The highest incidence rate is in Finland, where diseases are recorded annually, ranging from sporadic cases to large outbreaks with hundreds of patients. In other Scandinavian countries and in Russia, isolated cases of infection are currently being detected. The data on registered incidence and the results of seroepidemiological studies indicate an unequal dissemination of the infection in Fennoscandia, the causes of which need to be investigated. The review presents updated information on the pathogen, its distribution among the population and in the biocenosis of Fennoscandia, clinical features, diagnostics and epidemiological characteristics of the incidence.

Key words: Sindbis virus, Karelian fever, Pogosta disease, Ockelbo disease, Fennoscandia.

Conflict of interest: The author declares no conflict of interest.

Funding: The author declares no additional financial support for this study.

Corresponding author: Lyudmila V. Rubis, e-mail: rubusja@mail.ru.

Citation: Rubis L.V. Spread of the Sindbis Virus in Fennoscandia. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:33–42. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-33-42

Received 16.06.2022. Revised 31.10.2022. Accepted 10.03.2023.

Rubis L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6602-9621>

В 1981 г. в Карельской автономной советской социалистической республике (Карельская АССР, в настоящее время – Республика Карелия) возникла вспышка нового заболевания, названного «карельская лихорадка», охватившая около 200 человек. В последующие годы зарегистрировано лишь несколько случаев инфекции [1–3], в то время как в соседней Финляндии больные болезнью Погоста, вызванной тем же возбудителем, выявляются ежегодно с периодическими вспышками, последняя из которых (566 больных) произошла в 2021 г. [4, 5]. Несмотря на нетяжелый характер заболевания, у части больных оно приводит к хроническому поражению суставов [6–8]. Республика Карелия и Финляндия находятся на территории Фенноскан-

дии – физико-географической страны, включающей также Норвегию, Швецию и некоторые субъекты Российской Федерации: Мурманскую область, часть Архангельской и Ленинградской областей [9]. **Цель работы** – представить современные данные о возбудителе карельской лихорадки, его распространении среди населения и в биоценозе Фенноскандии, клинических особенностях, диагностике и эпидемиологических характеристиках заболеваемости.

Возбудитель карельской лихорадки. Вирус, вызвавший вспышку в Карельской АССР в 1981 г., идентифицирован как вирус Синдбис (SINV) обнаружением антител у больных. Однако из-за некоторых антигенных отличий от прототипного штамма вируса Синдбис AR339, впервые выделенного в Египте

в 1952 г. [10], вирусу было дано самостоятельное название – вирус карельской лихорадки. В 1983 г. вирус был изолирован от комаров [1, 6]. В Финляндии в 1965 г. и 1973–1974 гг. выявлены антитела к вирусу Синдбис у больных с аналогичной клиникой [4]. В Швеции этиология заболевания со схожей клиникой была подтверждена у больных серологически и выделением вируса от комаров в 1982 г. Вирус, изолированный от комаров и названный Edsbyn 5/82, позднее – вирусом Окельбо (NIA), тесно связан с вирусом Синдбис. Титры антител у больных к этому вирусу были выше, чем к прототипному штамму вируса Синдбис [11, 12]. В 1992 г. вирус, подобный вирусу Окельбо, выделен от комаров в Норвегии [13]. В 80-х гг. прошлого века установлено значительное сходство биологических и антигенных характеристик вирусов карельской лихорадки и Окельбо [14]. Позднее установлено, что по нуклеотидной последовательности все выделенные в Северной Европе штаммы схожи более чем на 88 % [15]. Анализ геномов вирусов, выделенных от больных, заразившихся в 2002 г. в Швеции, Финляндии и России, показал, что различия между ними находятся в пределах 0,1–1,4 % по нуклеотидам и 0–2,1 % по аминокислотам [16], что позволяет рассматривать их как серотипы одного возбудителя – вируса Синдбис. Причем российские штаммы LEIV-9298 (выделен от комаров в 1983 г.) и Johannes-2002 (выделен от финского больного, заразившегося в Республике Карелия в 2002 г.) отличались лишь одной аминокислотой, а их аминокислотные последовательности были идентичны с финскими штаммами. Тем не менее универсальная классификация вирусов, принятая Международным комитетом по таксономии вирусов, включает вирусы Синдбис (SINV) и Окельбо (NIA) [17], а в российской классификации групп патогенности микроорганизмов отсутствует вирус Окельбо, но есть вирус карельской лихорадки (СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»). Вирусы Синдбис – мелкие вирусы с одноцепочечной РНК, относятся к роду *Alphavirus* семейства *Togaviridae* и включены в один серокомплекс с вирусом западного энцефаломиелита лошадей [1, 17].

В настоящее время присутствие вируса Синдбис в биоценозе выявлено по серологическим находкам или выделением возбудителя от людей или из фауны в разных странах Африки, Азии, Ближнего Востока и Европы, включая Россию, Финляндию, Швецию, Норвегию, Германию, Эстонию, Великобританию, Австрию, Словакию, Сербию, Белоруссию, Украину, Молдавию, Польшу, Венгрию, Италию (о. Сицилия), Болгарию, Грецию, Румынию, Португалию, Испанию, а также в Австралии [18, 19]. На основании филогенетического анализа в мире идентифицировано шесть генотипов вируса Синдбис (генотипы с I по VI). Генотип I (SINV-I), выделенный в Европе (включает финские, шведские и российские штаммы), характерен для Африки и Ближнего Востока [20].

Это единственный генотип, с которым связаны вспышки заболевания в Южной Африке и на севере Европы [21].

На территории Фенноскандии случаи заболевания людей и присутствие вируса в природе установлены в Финляндии, Швеции, Норвегии и Республике Карелия. В ходе исследований, проведенных в 1985–1989 гг., в Мурманской области присутствие вируса не выявлено, в Ленинградской и Архангельской областях больные не регистрировались, но у 2,3 и 1,1 % обследованного населения соответственно были выявлены антитела к вирусу карельской лихорадки. О присутствии вируса за пределами Фенноскандии в этот период свидетельствуют несколько лабораторно подтвержденных случаев заболевания карельской лихорадкой (2 больных в Вологодской области в 1984 г. и 3 больных в Смоленской области в 1985 г.) [1], а также обнаружение антител к вирусу у населения 9 субъектов Северо-Западного (в том числе в Архангельской и Ленинградской областях), Приволжского и Уральского федеральных округов в 1985–1990 гг. [1, 22]. К настоящему времени присутствие вируса Синдбис в природе или наличие антител у людей (без регистрации заболеваний) установлено в 20 субъектах Северо-Западного, Приволжского, Уральского, Сибирского и Дальневосточного федеральных округов [23–25].

Амплификаторы и переносчики вируса Синдбис. Вирус Синдбис (Окельбо, карельской лихорадки) относится к группе арбовирусов. Первый прототипный штамм вируса Синдбис выделен в Египте от комаров *Culex pipiens* и *Cx. univittatus* [10]. В дальнейшем вирус был изолирован не менее чем от 26 видов комаров родов *Culex*, *Culiseta*, *Coquilletta*, *Aedes*, *Anopheles*, *Fiealbia* и *Ochlerotatus* (ранее считался подродом *Aedes*) в разных частях Африки, Европы, Ближнего Востока и Австралии [18, 19, 26, 27]. В Швеции и Финляндии в разные годы вирус был изолирован от комаров *Culex* (*Cx. pipiens*, *Cx. torrentium*) и *Culiseta morsitans*, *Aedes cinereus* и *Ochlerotatus* [26–29], в том числе от личинок трех видов комаров *Ochlerotatus*: *Oc. communis*, *Oc. punctator* и *Oc. diantaeus* [30]. Комаров родов *Culex* считают основными переносчиками и амплификаторами вируса в биоценозе, *Culiseta* – потенциальным вторичным энзоотическим переносчиком [31], но в заражении людей, возможно, они играют неглавную роль. *Cx. pipiens*, *Cx. torrentium* и *Cs. morsitans* являются орнитофильными комарами, однако *Cx. pipiens* и *Cs. morsitans* редко нападают на человека, а *Cx. torrentium* не кусали людей даже в лабораторных условиях [32]. Наблюдения, свидетельствующие о том, что *Ochlerotatus* spp. является родом, часто нападающим на человека, позволяют предполагать активное вовлечение их в передачу инфекции человеку [27]. В Карельской АССР в 1983 г. вирус карельской лихорадки был изолирован от комаров *Aedes*, в основном *Ae. communis* [1]. Всего было исследовано 37,5 тыс. комаров, но так как *Aedes* является в Карелии

самым многочисленным родом, именно он преобладал в сборах. При исследовании более 5 тыс. комаров *Aedes* spp., собранных в Норвегии, в районе, где регистрируются больные, в 2013–2015 гг. ни в одном случае не удалось выявить РНК вируса [33]. Комары рода *Aedes* имеют жизненный цикл, существенно отличающийся от *Culiseta* и *Culex*: первые зимуют в стадии яйца, в то время как представители последних зимуют в стадии имаго и откладывают яйца весной [32]. Возможность передачи вируса следующим поколениям доказана его обнаружением в зимующих голодных комарах *Cx. pipiens* в Швеции [34] и РНК вируса в личинках комаров *Ochlerotatus* [30]. Данные о возможности сохранения вируса в поколениях комаров *Aedes* отсутствуют. Роль комаров *Aedes* как амплификаторов вируса в связи с их доминированием на территории Северо-Запада России [35] нуждается в изучении.

Вирус Синдбис выделяли от клещей нескольких родов, в том числе *Hyalomma* на Сицилии, в Киргизии и Таджикистане, *Dermacentor* – в России [19], от лягушек [36] и разных видов диких и домашних животных (гребенщикове песчанки, бобры, заяц-беляк, другие мелкие млекопитающие, крупный рогатый скот, свиньи и др.) без выявления у них клинических признаков заболевания [4, 7, 19, 22, 23, 37]. Роль клещей, земноводных и млекопитающих в поддержании циркуляции вируса в биоценозе неизвестна.

Вирус Синдбис или антитела к нему выявляли у птиц разных отрядов, чаще всего воробьиных и воробьинообразных – воробьев, лугового и лесного коньков, вьюрка, дубоноса, певчей камышовки, молочницы, ворон, дроздов (певчие, рябинники, белобровики), скворцов, сизоворонок, и курообразных – тетеревов, глухарей, рябчиков, куропаток (Северная и Центральная Европа). Кроме того, заражение фиксировали у цапель, бакланов, лысух (Таджикистан, Астраханский и Кубанский ареалы России), представителей утиных – гоголя, чирка, гаги (Эстония, Северная Европа), горлицы (Израиль), голубей, удонов, большого пестрого дятла (Северная и Центральная Европа) [19, 28, 31, 37–40]. В эксперименте показана более интенсивная и продолжительная виремия у воробьиных, чем у гусеобразных. Полагают, что источником пищи для комаров чаще являются виды птиц среднего размера, которые более многочисленны, чем крупные, и менее защищены, чем мелкие птицы [31]. Основными амплификаторами вируса в Финляндии считают тетеревов и глухарей, в Швеции – дроздов (рябинника, краснокрыла и певчего) [4, 31, 39]. Частота обнаружения антител к вирусу у глухарей в Финляндии в отдельные годы достигала 65 %, в Швеции у нескольких видов дроздов – 70 % [4, 40].

Гипотезы появления и закрепления вируса в Фенноскандии. По генетической близости изоляты вирусов Синдбис, полученные в разных регионах мира, разделяют на африкано-европейскую и австралийско-азиатскую генолинии [19]. Вирусы,

выделенные в Швеции, Финляндии и на Северо-Западе России, близко связаны с африканским штаммом AR339 [12, 16, 27, 39], но имеют отличие от малазийского штамма MRE16 на 35,6–35,8 % по нуклеотидам и 28,3–28,5 % по аминокислотам [16]. Штаммы из Финляндии тесно сгруппированы не только с российскими и шведскими, но и со штаммами из Германии: к одной кладе принадлежали изоляты вируса, полученные в Финляндии от комаров *Ochlerotatus*, собранных в районе Иломанси в 2005 и 2018 гг., от людей в 2002 и 2018 гг., а также от комаров *Cs. morsitans* в ранее не считавшемся эндемичным районе Швеции в 2013 г., от комаров и диких кабанов в Германии в 2009–2016 гг. [27, 29, 41]. Традиционно считалось, что вирус был занесен в Северную Европу перелетными птицами из Южной Африки [15, 20, 28, 39]. Однако филогенетический анализ 66 геномных последовательностей вируса Синдбис I генотипа (SINV-I), выделенных из регионов по всему географическому ареалу, позволивший проследить эволюционную историю и характер распространения возбудителя, привел шведских исследователей к заключению, что он был завезен в Северную Европу не из Южной, а из Центральной Африки [21].

Неоднозначным является ответ на вопрос о том, когда произошел занос вируса на территорию Фенноскандии и был ли он единичным или происходит регулярно. Ряд исследователей придерживаются идеи, основанной на периодическом выявлении РНК или антител у перелетных птиц, а также на генетическом разнообразии штаммов, выделяемых в Финляндии, о том, что занос вируса из Африки в Северную Европу и обратно происходит непрерывно [15, 39]. Другая гипотеза, опубликованная в 2019 г. [21], заключается в том, что занос вируса произошел однократно в 1920-х гг. в Швецию. После чего он был экспортирован на восток (в Финляндию и Россию) и юг (Германию) в 1960-х и 1970-х гг. Филогенетический анализ вируса и низкая распространенность антител к нему у мигрирующих на север птиц дали основание предполагать, что перенос на север с перелетными птицами, вероятно, является очень редким событием [28, 39]. В качестве предполагаемого пути попадания вируса в Финляндию (а затем в Россию) и обратно рассматривается перенос воздушными потоками зараженных комаров, после чего вирус мог сохраняться зимой в каком-нибудь естественном водоеме [27], что подтверждается обнаружением РНК у личинок и вируса в зимующих голодных комарах [30, 34]. В то же время перенос вируса перелетными птицами осуществляется не только с юга на север, но и в обратном направлении, причем это могут быть разные виды птиц, зимующие как на Африканском континенте, так и в Европе. Шведские зяблики зимуют в Великобритании, скворцы – в южной части Франции и на Пиренеях, дрозды – в Центральной и Юго-Западной Европе, малиновка и молочница в

основном проводят зиму в Западной Европе (некоторые особи мигрируют в Северо-Западную Африку) [21, 37, 39]. Именно с осенней миграцией с севера основных видов-амплификаторов ряд исследователей связывают попадание вируса в Центральную и Юго-Западную Европу [21]. Вопрос о способности эндемичных видов птиц и комаров поддерживать длительную местную циркуляцию на территории Фенноскандии без неоднократной интродукции вируса из Южного полушария требует дальнейшего изучения.

Клинические проявления карельской лихорадки, болезни Погоста и болезни Окедьбо. Описания клинических симптомов карельской лихорадки, болезни Окедьбо и болезни Погоста включают триаду симптомов: лихорадку, сыпь и артралгию [6, 8, 11, 13, 19, 42–44]. Заболевание протекает преимущественно в легкой форме и носит доброкачественный характер, в редких случаях с выраженной интоксикацией и резкими поражениями суставов. При этом лихорадка (температура 37,5–38,0 °С, редко 39,0 °С) развивается лишь у части больных и держится в течение 1–2 дней. У некоторых пациентов, напротив, наблюдается пониженная температура. Часть пациентов жалуются на головную боль, утомляемость, тошноту, парестезии, мышечные боли. Обильная макуло-папулезная сыпь на туловище, бедрах, ладонях и подошвах стоп, щадящая лицо, развивается у 70–75 % больных в 1–3-и сутки, у остальных – в течение 7–12 дней от начала заболевания и обычно не вызывает беспокойства, хотя отдельные пациенты жаловались на сильный зуд. В полости рта могут быть энантемы. Сыпь держится 2–7 дней, чаще – 4 дня (1 день – 3 недели), исчезает без последующего шелушения и пигментации.

Основной жалобой у 94–95 % пациентов являются выраженная болезненность, отек и ограничение движения в суставах. В процесс включаются разные суставы: пальцев рук и ног (до 65 %), голеностопные (62–85 %), лучезапястные (50–58 %), коленные (44–56 %), локтевые, шейных позвонков [7, 11, 16, 42, 43]. У большинства заболевших состояние нормализуется в течение 3–14 суток, однако суставные симптомы могут длиться еще 2–3 недели, у части пациентов – до 3–4 месяцев, у части – сохраняться в течение нескольких лет [7, 8, 11, 43–47]. Так, при повторном обследовании 29 переболевших карельской лихорадкой через 4–5 месяцев у 13 установлен переход в хроническое течение с явлениями артралгий и реже – артритов [6]. У половины из 86 пациентов с лабораторно подтвержденной болезнью Погоста суставные симптомы сохранялись более года при отсутствии других проявлений. Средний возраст пациентов с полным выздоровлением составлял 35 лет, с длительным поражением суставов – 46 лет [7]. Помимо возраста, еще одним возможным фактором риска длительного сохранения суставного синдрома может быть наличие псориаза, о чем свидетельствует более частое обнаружение этого заболевания

у таких пациентов, чем в общей популяции [47]. При обследовании 49 пациентов через 3 года после острой инфекции суставные проявления отмечались у 24,5 % больных в форме болезненности при пальпации или движении в суставе (28,6 %), артралгии (10,5 %) и отека (4,1 %) [47]. Длительное сохранение суставных симптомов описано как для мелких и периферических суставов, так и для крупных суставов (коленные, тазобедренные, плечевые, лучезапястные, голеностопные) с преобладанием нижних конечностей. При этом, несмотря на незначительное нарушение функций суставов, пациенты жаловались на выраженную боль [47, 48].

Клиническая картина заболевания варьирует от выраженных до стертых случаев, что может приводить к гиподиагностике, несвоевременному началу и неверной терапии. Так, при обследовании 136 больных с хроническими поражениями опорно-двигательного аппарата с преимущественным поражением крупных суставов в Карельской АССР в 1981 г. антитела к вирусу Синдбис были выявлены у 18,2 % стационарных и 20 % амбулаторных больных. Наиболее часто антитела выявлялись у пациентов с полиартритом неясной этиологии (22,2 %), артрозами (20 %) и остеохондрозом (19,5 %), в то время как при поражении суставов ревматической этиологии они были выявлены лишь у одного пациента (4,8 %) [49].

У детей симптомы более сглажены до асимптоматического течения, более характерна сыпь, чем развитие симптоматики со стороны суставов [4, 13, 44, 50]. Описаны два случая мертворождения у женщин с серологически подтвержденной болезнью Погоста, но точные причины такого исхода беременности остались неясны [4]. Сообщений о повторных случаях заболеваний не зарегистрировано [19]. Лечение включает симптоматическую противовоспалительную терапию [13, 19]. Результаты изучения действия одной из лекарственных форм альфа-ИФН на репродукцию вируса и синтез вирусных РНК дал основание исследователям рекомендовать препарат для сезонной профилактики заболевания [51].

Возможности верификация диагноза. Подтвердить заболевание обнаружением вируса или его РНК удалось лишь в нескольких случаях: вирус выделили из везикулярной жидкости больных в Южной Африке в 1963 г., из кожного биоптата – в Финляндии в 2002 г., из крови – в Китае в 1992 г. и Финляндии в 2018 г., РНК вируса в крови больных обнаружили в Швеции в 1992 г. и Финляндии в 2002 и 2018 гг. [16, 27, 47]. В последнем исследовании РНК вируса выявлена в сыворотках крови у 2 из 31 пациента с серологически подтвержденным диагнозом и у 5 из 192 – с подозрением на болезнь Погоста, из 3 проб удалось изолировать возбудитель [27]. Возможность верификации диагноза на основании обнаружения РНК ограничивает узкое виремическое окно и значительное различие уровня виремии у разных пациентов [16].

Серологические методы являются основными методами лабораторной диагностики заболевания. Первоначально для этих целей использовали реакцию торможения геммагглютинации (РТГА) и реакцию нейтрализации (РН) [4, 6, 13, 51]. В настоящее время используются методы прямой и непрямой иммунофлуоресценции, реакции энзимомеченных антител и радиоиммунного анализа [50]. В ФГБУ ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, разработаны тест-системы для определения антител класса IgM и IgG к вирусу Синдбис методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) в сыворотке крови и ликворе [24, 52, 53]. В настоящее время наборы не прошли государственную регистрацию и могут использоваться только для научных исследований. Специфические антитела класса IgM к вирусу Синдбис определялись с 6–15-го дня болезни (позднее, чем выявляли антитела в РН) и в течение 5–6 месяцев. В течение 20 месяцев после начала заболевания наблюдалось 2–4-кратное снижение уровня антител, но у трети пациентов IgM выявляли через 2,5 года, а у пациентов с сохраняющимися симптомами со стороны суставов – через 3–4 года после перенесения заболевания [7, 46, 48, 54]. Антитела класса IgG определялись после 9–14-го дня, удерживались на максимальном уровне в течение 1–3 месяцев, затем в течение года их уровень снижался. У части пациентов они определялись и через 2,5 года [7, 46]. Сведений о более продолжительном сроке обнаружения IgG после перенесения заболевания найти не удалось. Продолжительность периода, в течение которого у инфицированных лиц удается обнаружить антитела, важно с точки зрения оценки активности очагов инфекции в условиях отсутствия регистрируемой заболеваемости при проведении сероэпидемиологических исследований.

Эпидемиологические характеристики заболеваемости болезнью Окедьбо, Погоста и карельской лихорадкой на территории Финноскандии. До 60-х гг. прошлого века признаков активности вируса на территории Финноскандии не отмечалось. Серологическое исследование 5000 проб сывороток крови людей и 1000 от птиц и животных, собранных в Финляндии в 1958–1964 гг., не выявило заражения ни в одном случае [55]. Впервые случаи заболевания с клинической триадой в виде лихорадки, экзантемы и полиартрита в Финноскандии описаны в Швеции в 1967 г. Заболевание получило название «болезнь Окедьбо» (Oskelbo disease) по названию населенного пункта, вблизи которого были выявлены случаи болезни. В 1974 г. заболевание с аналогичной симптоматикой описано в Финляндии, где получило название «болезнь Погоста» (Pogosta disease) от русского слова «погост», использовавшегося для обозначения сельского населенного пункта в части восточной Финляндии с большой численностью православного населения [13]. Серологически заболевание было подтверждено в 1973–1974 гг.

у 6 человек и в 1981 г. у 13 человек с сыпью, подозрительной на краснуху [4].

В 1981–1982 гг. возникла вспышка заболевания, охватившая в 1981 г. Финляндию и Карельскую АССР, а в 1982 г. – Швецию. В Финляндии было выявлено около 1000 больных, из них лабораторно подтверждено 383 случая. В следующие два года их число сократилось до 14 и 37 случаев соответственно [4, 44]. В Карельской АССР в 1981 г. подтверждено около 200 случаев заболевания, в 1982–1984 гг. – 6, 5 и 7 случаев ежегодно [1]. В последующем случаи в Республике Карелия были выявлены лишь в 2002 и 2003 гг. – 6 и 16 больных соответственно [2, 3]. Один из больных, выявленных в Финляндии в 2002 г., с большой долей вероятности также подвергся заражению во время путешествия на территории республики [16]. В Швеции в 1982 г. выявлено 65 больных с типичными клиническими проявлениями, у которых диагноз подтвердили серологически, при этом в 1981 и 1983 гг. ситуация была спокойной [11]. Следующая вспышка болезни Окедьбо в этой стране имела место в 2013 г.: при исследовании крови 172 пациентов с подозрением на заболевание у 50 человек выявлены антитела к вирусу. В остальные годы регистрировались лишь единичные случаи, в среднем по 3 случая [45]. В Норвегии выявляются лишь единичные случаи заболевания людей на юге (район Рьюкана) [33].

Заболевание регулярно выявлялось только в Финляндии, где с 1995 г. введена официальная регистрация болезни Погоста. Периодически имели место крупные вспышки в 1995 г. (1310 случаев), 2002 г. (597) и 2021 г. (566), а также выраженные подъемы заболеваемости в 1988 г. (112 случаев), 1997–1998 гг. (264 и 135 случаев соответственно), 2000 г. (123), 2003 г. (210), 2009 г. (106) и 2012 г. (189). В остальные годы число больных колебалось от 1 до 99 человек [4, 5, 56]. Всего с 1981 по 2021 г. в стране зарегистрировано 5116 случаев заболевания [4, 5]. Сопоставление данных о регистрируемых случаях заболеваний в трех странах свидетельствует о том, что в отдельные годы вспышки охватывали несколько стран: 1981–1982 гг. – Финляндия, Швеция, Россия; 2003–2002 гг. – Финляндия и Россия; 2013 г. – Финляндия и Швеция, – а в 1995 и 2021 гг. ограничивались одной Финляндией. Первоначально исследователи обращали внимание на 7-летние циклы заболеваемости болезнью Погоста в Финляндии (1974, 1981, 1988, 1995, 2002 гг.) [4]. Упоминание о 7-летней цикличности болезни Погоста до сих пор фигурирует в ежегодных докладах об инфекционной заболеваемости Финского института здравоохранения и социального обеспечения [56], но выраженные подъемы заболеваемости не всегда имели такую периодичность. Цикличность заболеваемости пытались связать с частотой активизации вируса Синдбис в Южной Африке или с жизненным циклом птиц семейства тетеревиных как наиболее значимых амплификантов вируса [4]. Роль тетеревов в фор-

мировании динамики активизации эпизоотий и заболеваемости людей имеет основание, так как если до конца 1980-х гг. колебания плотности тетерева в Финляндии были выраженными и регулярными, достигая пика каждые 6–7 лет, то в последующем эти колебания стали менее регулярными и выраженными [3, 57].

Случаи заболеваний регистрировались в разных частях трех стран между 60-й и 65-й параллелями на границе северо-таежного и среднетаежного ландшафтного поясов [1, 5, 22, 45]. В Швеции случаи болезни Окедьбо в основном диагностировались в центральной части, но в 2013 г. вспышка возникла севернее обычного ареала [45]. В Финляндии первая вспышка возникла в самой восточной части страны – в коммуне Иломанси земли Северная Карелия [4, 13]. В 1981 г. больные в основном регистрировались в восточной части [4], в последующие годы – в разных районах Финляндии, в основном в южной и центральной части. В последние годы постепенно отмечается некоторое смещение заболеваемости с восточных к западным районам страны [5, 56]. В Карельской АССР в 80-е гг. прошлого века больные выявлялись в нескольких районах, территориально близких к эндемичному региону Финляндии [1]. В 2002–2003 гг. случаи карельской лихорадки зарегистрированы на севере республики [2, 3].

Более полное представление о распространении заболевания получено в результате сероэпидемиологических исследований. В Карельской АССР иммунная прослойка в 1982–1984 гг. (3042 человека обследованы в реакции РН и РТГА) в среднем составила 16,2 % с колебаниями от 2,4–4,4 % в самых северном, южном и восточном районах до 20,7–24,2 % в районах, наиболее приближенных к земле Северная Карелия в Финляндии, и до 54,1 % в спокойном по заболеваемости районе, находящемся в юго-западной части [1, 22]. Частота обнаружения антител у здоровых лиц (доноров крови) в пределах эндемичной зоны в Швеции в 1982–1983 гг. (после вспышки 1982 г.), определявшаяся методами непрямой иммунофлуоресценции и смешанной гемадсорбции, составила 2–3 %, а в очагах с высокой заболеваемостью достигала 8 %, уменьшаясь к югу и северу от этой области [11]. Продление исследования до 1987 г. (всего 2579 человек) показало, что в разных районах Швеции доля серопозитивных лиц колебалась от 0,1 до 3,6 %, но самой высокой она была в центральных частях страны, снижаясь к северу и югу [58]. Аналогичная географическая картина распространенности антител к вирусу Синдбис наблюдалась и у воробьиных птиц [31]. Исследование в северной Швеции, проведенное в 2013 г., показало, что при отсутствии регистрируемой заболеваемости антитела класса IgG выявлялись у 2,9 % обследованных лиц случайно выбранной популяционной когорты [45]. В Финляндии обследование здорового населения коммуны Иломанси показало, что в 1980 г. доля лиц, имеющих антитела к вирусу, среди

взрослых составляла 29 %, а в 1982 г. (после вспышки 1981 г.) выросла до 41 % с максимальными показателями в возрастной группе 60 и 80 лет. У детей частота обнаружения антител была менее 10 % [4]. В 1992 г. при исследовании 5000 проб крови беременных женщин в возрасте 14 лет – 51 года (в среднем 28 лет) в разных районах Финляндии положительный результат выявлен в среднем в 0,6 % с колебаниями от 3,3 % в провинции Северная Карелия и 2 % в соседней провинции Куопио до 1 % в других районах [4]. Исследование, проведенное в 1999–2003 гг. (2529 проб крови), выявило средний уровень серопревалентности по стране 5,2 % с самыми высокими показателями в восточной Финляндии, особенно в провинциях Северная Карелия и Кайнуу, а также в центральной Остроботнии на западе Финляндии [39]. Серопревалентность увеличивалась с возрастом: от 1,4 % в возрасте до 10 лет до 15,4 % среди лиц в возрасте 60–69 лет. Частота обнаружения антител у женщин в возрасте 20–39 лет составила 2,3 %, что оказалось значительно выше результатов исследования 1992 г. Несколько отличаются от этих результатов данные исследования, проведенного в 1994–2000 гг. с использованием иммуноферментного метода (2250 человек) [50]. IgM и IgG были выявлены в среднем у 11 % обследованных с колебаниями от 9 % на севере и юге до 17 % на западе страны. Не выявлено различий в частоте выявления антител среди разных возрастных групп взрослых (15–20 %), у детей и подростков частота составила 12 %. Более высокая частота серопозитивности могла быть связана с тем, что в период исследования, в котором учитывались не только IgG, но и IgM, на территории Финляндии возникла самая крупная вспышка заболевания.

По данным многолетних наблюдений в Финляндии и результатов расследования вспышки в Карельской АССР в 1981 г., большинство заболевших выявлялось среди взрослых, у детей и подростков регистрировались лишь единичные случаи [2, 4, 56]. В 1982 г. в Швеции заболеваемость была самой высокой среди мужчин в возрасте 30–39 лет и женщин в возрасте 50–59 лет [11]. В Финляндии в 1981–1996 гг. наиболее высокая заболеваемость отмечалась среди лиц 35–64 лет с максимумом, приходящимся на возраст 45–54 лет. Среди всех зарегистрированных случаев 56 % приходилось на женщин, причем в возрастной группе 45–59 лет их заболеваемость оказалась значительно выше, чем у мужчин [4]. В 2009–2020 гг. женщины составляли 60 % от всех зарегистрированных в стране случаев [56]. Исследователи связывали гендерные и возрастные различия показателей заболеваемости с особенностями поведения населения, предполагая, что пожилые женщины чаще занимаются сбором ягод и грибов, во время которых подвергаются риску заражения [4]. Однако сероэпидемиологические исследования, проведенные в Финляндии, показали более высокую серопревалентность у мужчин по

сравнению с женщинами: в 1980 г. – 44 и 31 % соответственно [4], в 1999–2003 гг. в возрасте в среднем 41,8 и 44,1 года – 6,0 и 4,1 % соответственно [39]. Последнее исследование привело к предположению о различии клинической выраженности заболевания у мужчин и женщин [39]. Возможно, более высокая регистрируемая заболеваемость женщин 45–59 лет связана с особенностями патогенеза инфекции в период гормональной перестройки у женщин в этом возрасте. Нельзя исключить и более активную обращаемость за медицинской помощью с более тщательным описанием симптомов женщинами по сравнению с мужчинами, которые могли не фиксировать внимание на кратковременной сыпи без зуда при симптомах поражения суставов.

Для карельской лихорадки, болезни Погоста и болезни Окедьбо характерна ярко выраженная сезонность с максимальным числом выявляемых случаев в августе – сентябре [1, 4, 11, 13, 19, 45, 56], что определило второе название заболевания в Швеции и Финляндии – «болезнь август – сентябрь». Сезонность, вероятно, обусловлена особенностями жизненного цикла комаров и увеличением доли инфицированных особей среди их прокормителей в природе. Вылет комаров *Culex*, *Culiseta* и *Aedes* в зависимости от климатических условий начинается со второй половины мая и продолжается до сентября, а иногда и октября, причем *Aedes cinereus* и *Culex pipiens* наиболее многочисленны в период позднего лета и начала осени [32, 59]. В ряде исследований выявлено увеличение числа зараженных птиц в июле – сентябре по сравнению с периодом весенней миграции и началом лета [28, 31, 37]. Погодные условия оказывают влияние на сроки активности и численность комаров, что может обуславливать не только сезонные, но и многолетние колебания заболеваемости людей. К наиболее значимым факторам относят длительность сохранения в первой половине лета временных водоемов, в которых развиваются личинки комаров, зависящую от толщины снежного покрова в конце зимы, температурные условия в мае – июле и обилие водоемов [4, 59]. Климатические особенности лета (температура, осадки) также могут влиять на активность комаров. При описании вспышек инфекции встречались упоминания о необычно высокой численности комаров в годы с дождливым летом [1, 45]. Однако отдельные наблюдения не позволяют сделать какие-либо выводы. Попытка многофакторного анализа риска заболевания населения болезнью Погоста, опубликованная финскими учеными в 2021 г. [59], показала, что высокий риск заражения имеется в районах, где сочетаются благоприятные для комаров условия окружающей среды, наблюдается высокая численность черного тетерева, глухаря и рябчика, высокая пропорция смешанных лесов и большое число озер. Причем условия, наиболее благоприятные для разных видов комаров, оказались несколько разными: для *Ae. cinereus* наибольшее значение имели длина

рек, скорость ветра, для *Cx. pipiens* – плотность тумана, осадки в октябре – феврале и скорость ветра, а для *Cs. morsitans* – солнечная радиация в мае – июле и толщина травяного покрова.

Итак, имеющиеся на сегодняшний день данные о циркуляции вируса Синдбис в природе и случаях заражения людей или обнаружения антител к вирусу свидетельствуют о формировании на территории Фенноскандии стойкого очага инфекции. Ситуация на Северо-Западе России, в частности в Республике Карелия, требует более глубокого изучения в связи с ростом туристической посещаемости региона.

Конфликт интересов. Автор подтверждает отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Автор заявляет об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Львов Д.К., Скворцова Т.М. Карельская лихорадка. В кн.: Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я. Арбовирусы и арбовирусные инфекции. М.: Медицина; 1989. С. 253–6.
2. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Республике Карелия в 2002 году: Государственный доклад. Петрозаводск: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2003. С. 76.
3. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Республике Карелия в 2003 году. Государственный доклад. Петрозаводск: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2004. С. 84.
4. Brummer-Korvenkontio M., Vapalahti O., Kuusisto P., Saikku P., Manni T., Koskela P., Nygren T., Brummer-Korvenkontio H., Vaheri A. Epidemiology of Sindbis virus infections in Finland 1981–96: possible factors explaining a peculiar disease pattern. *Epidemiol. Infect.* 2002; 129(2):335–45. DOI: 10.1017/s0950268802007409.
5. National Institute for Health and Welfare. Finland. Statistical database of the Communicable Diseases Register. [Электронный ресурс]. URL: <https://sampo.thl.fi/pivot/prod/fi/ttr/shp/factshp?row=area-12260&column=time-12059&filter=reportgroup-12074> (дата обращения 01.06.2022).
6. Львов Д.К., Скворцова Т.М., Кондрашина Н.Г., Вершинский Б.В., Лесников А.Л., Деревянский В.С., Березина Л.К., Громашевский В.Л., Андрианова Д.П., Яковлев В.И. Этиология Карельской лихорадки – новой арбовирусной инфекции. *Вопросы вирусологии.* 1982; 27(6):690–2.
7. Kurkela S., Manni T., Myllynen J., Vaheri A., Vapalahti O. Clinical and laboratory manifestations of Sindbis virus infection: prospective study: Finland, 2002–2003. *J. Infect. Dis.* 2005; 191(11):1820–9. DOI: 10.1086/430007.
8. Niklasson B., Espmark A., Lundström J. Occurrence of arthralgia and specific IgM antibodies three to four years after Ockelbo disease. *J. Infect. Dis.* 1988; 157(4):832–5. DOI: 10.1093/infdis/157.4.832.
9. Куликов В.С., Светов С.А., Слабунов А.И., Куликова В.В., Полин А.К., Голубев А.И., Горьковец В.Я., Иващенко В.И., Гоголев М.А. Геологическая карта юго-восточной Фенноскандии масштаба 1:750000: новые подходы к составлению. *Труды Карельского научного центра Российской академии наук.* 2017; 2:3–41. DOI: 10.17076/geo444.
10. Taylor R.M., Hurlbut H.S., Work T.H., Kingston J.R., Frothingham T.E. Sindbis virus: a newly recognized arthropod-transmitted virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1955; 4(5):844–62. DOI: 10.4269/ajtmh.1955.4.844.
11. Espmark A., Niklasson B. Ockelbo disease in Sweden: epidemiological, clinical and virological data from the 1982 outbreak. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1984; 33(6):1203–11. DOI: 10.4269/ajtmh.1984.33.1203.
12. Shirako Y., Niklasson B., Dalrymple J.M., Strauss E.G., Strauss J.H. Structure of the Ockelbo virus genome and its relationship to other Sindbis viruses. *Virology.* 1991; 182(2):753–64. DOI: 10.1016/0042-6822(91)900616-j.
13. Laine M., Luukainen R., Toivanen A. Sindbis viruses and other alphaviruses as cause of human arthritic disease. *J. Intern. Med.* 2004; 256(6):457–71. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2004.01413.x.
14. Lvov D.K., Vladimirtseva E.A., Butenko A.M., Karabatsos N., Trent D.W., Calisher C.H. Identity of Karelian fever and Ockelbo virus determined by serum dilution – plaque reduction neutraliza-

- tion tests and oligonucleotide mapping. *Am. J. Trop. Hyg.* 1988; 39(6):607–10. DOI: 10.4269/ajtmh.1988.39.607.
15. Nordner H., Lundström J.O., Kozuch O., Magnus L.O. Genetic relatedness of Sindbis virus strains from Europe, Middle East, and Africa. *Virology*. 1996; 222(2):440–5. DOI: 10.1006/viro.1996.0441.
16. Kurkela S., Manni T., Vaheri A., Vapalahti O. Causative agent of Pogosta disease isolated from blood and skin lesions. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(5):889–94. DOI: 10.3201/eid1005.030689.
17. Virus Taxonomy: 2020 Release. ICTV. E-mail ratification March 2021. [Электронный ресурс]. URL: <https://ictv.global/taxonomy>.
18. Facts about Sindbis Fever. ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. 2020. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/sindbis-fever/facts> (дата обращения 01.06.2022).
19. Лукин Е.П. Лихорадка Синдбис. *Медицинский академический журнал*. 2009; 9(3):29–41.
20. Lundström J.O., Pfeffer M. Phylogeographic structure and evolutionary history of Sindbis virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(9):889–907. DOI: 10.1089/vbz.2009.0069.
21. Ling J., Smura T., Lundström J.O., Pettersson J.H., Sironen T., Vapalahti O., Lundkvist Å., Hesson J.C. Introduction and dispersal of Sindbis virus from Central Africa to Europe. *J. Virol.* 2019; 93(16):e00620-19. DOI: 10.1128/JVI.00620-19.
22. Львов Д.К., Дерябин П.Г., Аристов В.А., Бутенко А.М., Галкина И.В., Громашевский В.Л., Давыдова А.А., Колобухина Л.В., Львов С.Д., Щелканов М.О. Атлас распространения возбудителей природно-очаговых вирусных инфекций на территории Российской Федерации. М.: 2001. 192 с.
23. Василенко Н.Ф., Прислегина Д.А., Малецкая О.В., Таран Т.В., Платонов А.Е., Куличенко А.Н. Заболеваемость арбовирусными инфекциями на юге европейской части Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(1):84–90. DOI: 10.36233/0372-9311-74.
24. Негоденко А.О., Молчанова Е.В., Прилепская Д.Р., Коновалов П.Ш., Павлюкова О.А., Скрынникова Е.А., Карунина И.В., Фомина В.К., Бородай Н.В., Лучинин Д.Н. Анализ результатов мониторинга арбовирусных инфекций на территории Волгоградской области в 2019 г. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2021; 20(1):51–9. DOI: 10.31631/2073-3046-2021-20-1-51-59.
25. Щербак С.А., Найденова Е.В., Билько Е.А., Водина Е.А., Логунова Т.Е., Потемина Л.П., Кутырев В.В. Выявление специфических антител к арбовирусам в сыворотках крови людей, проживающих на территории Саратовской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011; 2:72–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-2(108)-72-74.
26. Sane J., Kurkela S., Putkuri N., Huhtamo E., Vaheri A., Vapalahti O. Complete coding sequence and molecular epidemiological analysis of Sindbis virus isolates from mosquitoes and humans, Finland. *J. Gen. Virol.* 2012; 93(Pt. 9):1984–90. DOI: 10.1099/vir.0.042853-0.
27. Korhonen E.M., Suvanto M.T., Uusitalo R., Faolotto G., Smura T., Sane J., Vapalahti O., Huhtamo E. Sindbis virus strains of divergent origin isolated from humans and mosquitoes during a recent outbreak in Finland. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2020; 20(11):843–9. DOI: 10.1089/vbz.2019.2562.
28. Francy D.B., Jaenson T.G., Lundström J.O., Schildt E.B., Espmark A., Henriksson B., Niklasson B. Ecologic studies of mosquitoes and birds as hosts of Ockelbo virus in Sweden and isolation of Inkoo and Batai viruses from mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1989; 41(3):355–63. DOI: 10.4269/ajtmh.1989.41.355.
29. Bergqvist J., Forsman O., Larsson P., Näslund J., Lilja T., Engdahl C., Lindström A., Gylfe Å., Ahlm C., Evander M., Bucht G. Detection and isolation of Sindbis virus from mosquitoes captured during an outbreak in Sweden, 2013. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015; 15(2):133–40. DOI: 10.1089/vbz.2014.1717.
30. Tingström O., Wesula Lwande O., Näslund J., Spyckerelle I., Engdahl C., Von Schoenberg P., Ahlm C., Evander M., Bucht G. Detection of Sindbis and Inkoo virus RNA in genetically typed mosquito larvae sampled in Northern Sweden. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16(7):461–7. DOI: 10.1089/vbz.2016.1940.
31. Lundström J.O., Lindström K.M., Olsen B., Dufva R., Krakower D.S. Prevalence of Sindbis virus neutralizing antibodies among Swedish passerines indicates that thrushes are the main amplifying hosts. *J. Med. Entomol.* 2001; 38(2):289–97. DOI: 10.1603/0022-2585-38.2289.
32. Becker N., Petric D., Boase C., Lane J., Zgomba M., Dahl C., Kaiser A. Mosquitoes and Their Control. 2nd ed. Berlin: Springer; 2010. P. 3–8. DOI: 10.1007/978-1-4757-5897-9.
33. Shakya R., Tryland M., Vikse R., Romano J.S., Åsbakk K., Nymo I.H., Mehl R., Evander M., Ahlm C., Vapalahti O., Lwande O.W., Putkuri N., Johansen W., Soleng A., Edgar K.S., Andreassen A.K. Inkoo and Sindbis viruses in semi-domesticated reindeer and mosquitoes in Norway. Preprint. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1064428/v1.
34. Bergman A., Dahl E., Lundkvist Å., Hesson J.C. Sindbis virus infection in non-blood-fed hibernating *Culex pipiens* mosquitoes in Sweden. *Viruses*. 2020; 12(12):1441. DOI: 10.3390/v1212441.
35. Медведев Г.С., Айбулатов С.В., Панюкова Е.В. Экологические особенности и распространение комара *Aedes communis* (de Geer, 1776) на территории Северо-Запада европейской части России. *Паразитология*. 2010; 44(5):441–60.
36. Kozuch O., Labuda M., Nosek J. Isolation of Sindbis virus from the frog *Rana ridibunda*. *Acta Virol.* 1978; 22(1):78.
37. Воинов И.Н., Рытик П.Г., Григорьев А.И., Парнюк-Подольская В.А., Гутковский И.А. Серологические данные по циркуляции вируса Синдбис на западе СССР. В кн.: Львов Д.К., редактор. Этиология, эпидемиология, диагностика и профилактика карельской лихорадки – болезни Погоста. Петрозаводск: Академия медицинских наук; 1984. С. 16–9.
38. Eiden M., Ziegler U., Keller M., Müller K., Granzow H., Jöst H., Schmidt-Chanasit J., Groschup M.H. Isolation of sindbis virus from a hooded crow in Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014; 14(3):220–2. DOI: 10.1089/vzb.2013.1354.
39. Kurkela S., Rätti O., Huhtamo E., Uzcátegui N.Y., Nuorti J.P., Laakkonen J., Manni T., Helle P., Vaheri A., Vapalahti O. Sindbis virus infection in resident birds, migratory birds, and humans, Finland. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(1):41–7. DOI: 10.3201/eid1401.070510.
40. Hesson J.C., Lundström J.O., Tok A., Östman Ö., Lundkvist Å. Temporal variation in Sindbis virus antibody prevalence in bird hosts in an endemic area in Sweden. *PLoS One*. 2016; 11(8):e0162005. DOI: 10.1371/journal.pone.0162005.
41. Jöst H., Bürck-Kammerer S., Hütter G., Lattwein E., Lederer S., Litzba N., Bock-Hensley O., Emmerich P., Günther S., Becker N., Niedrig M., Schmidt-Chanasit J. Medical importance of Sindbis virus in south-west Germany. *J. Clin. Virol.* 2011; 52(3):278–9. DOI: 10.1016/j.jcv.2011.08.002.
42. Леонович А.Л., Вершинский Б.В., Львов Д.К., Скворцова Т.М., Фаворов М.О., Исполатов Д.Ф., Иванов Е.Ф. Клиника и дифференциальная диагностика карельской лихорадки. В кн.: Львов Д.К., редактор. Этиология, эпидемиология, диагностика и профилактика карельской лихорадки – болезни Погоста. Петрозаводск: Академия медицинских наук; 1984. С. 6–7.
43. Turunen M., Kuusisto P., Uggeldahl P.E., Toivanen A. Pogosta disease: clinical observations during an outbreak in the province of North Karelia, Finland. *Br. J. Rheumatol.* 1998; 37(11):1177–80. DOI: 10.1093/rheumatology/37.11.1177.
44. Бруммер-Корвенконно М., Куусисто П. Болезнь Погоста. В кн.: Львов Д.К., редактор. Этиология, эпидемиология, диагностика и профилактика карельской лихорадки – болезни Погоста. Петрозаводск: Академия медицинских наук; 1984. С. 20.
45. Gylfe Å., Ribers Å., Forsman O., Bucht G., Alenius G.M., Wällberg-Jonsson S., Ahlm C., Evander M. Mosquitoborne Sindbis virus infection and long-term illness. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(6):1141–2. DOI: 10.3201/eid2406.170892.
46. Vene S., Franzén C., Niklasson B. Development of specific antibody patterns and clinical symptoms following Ockelbo virus infection. *Arch. Virol.* 1994; 134(1-2):61–71. DOI: 10.1007/BF01379107.
47. Niklasson B., Espmark A. Ockelbo disease: arthralgia 3–4 years after infection with a Sindbis virus related agent. *Lancet*. 1986; 1(8488):1039–40. DOI: 10.1016/S0140-6736(86)91315-2.
48. Kurkela S., Helve T., Vaheri A., Vapalahti O. Arthritis and arthralgia three years after Sindbis virus infection: clinical follow-up of a cohort of 49 patients. *Scand. J. Infect. Dis.* 2008; 40(2):167–73. DOI: 10.1080/00365540701586996.
49. Фаворов М.О., Аракелов С.А., Львов С.Д., Скворцова Т.М., Данилюк О.В., Чашникова Т.Г., Львов Д.К. Клинико-серологическое исследование больных с хроническими поражениями опорно-двигательного аппарата в Карельской АССР. В кн.: Львов Д.К., редактор. Этиология, эпидемиология, диагностика и профилактика карельской лихорадки – болезни Погоста. Петрозаводск: Академия медицинских наук; 1984. С. 14–5.
50. Laine M., Vainionpää R., Oksi J., Luukkainen R., Toivanen A. The prevalence of antibodies against Sindbis-related (Pogosta) virus in different parts of Finland. *Rheumatology (Oxford)*. 2003; 42(5):632–6. DOI: 10.1093/rheumatology/keg143.
51. Соколова Т.М., Шувалов А.Н. Подавление рекомбинантного альфа-2-интерферона репродукции вируса карельской лихорадки в клетках крови человека. *Вопросы вирусологии*. 2012; 57(2):27–32.
52. Галимзянов Х.М., Василькова В.В., Кантемирова Б.И., Акмаева Л.Р. Арбовирусные комариные инфекции. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2016; 4:29–37.
53. Ларичев В.Ф., Козлова А.А., Сайфуллин М.А., Хуторещкая Н.В., Шкинев В.М., Бутенко А.М. Иммуноферментные тест-системы для диагностики эндемичных для России и завозных тропических арбовирусных инфекций. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2015; 20(6):44–6.

54. Heise M.T., Simpson D.A., Johnston R.E. Sindbis-group alphavirus replication in periosteum and endosteum of long bones in adult mice. *J. Virol.* 2000; 74(19):9294–9. DOI: 10.1128/jvi.74.19.9294-9299.2000.

55. Сайку П. Альфавирусы в Европе. В кн.: Львов Д.К., редактор. Этиология, эпидемиология, диагностика и профилактика карельской лихорадки – болезни Погоста. Петрозаводск: Академия медицинских наук; 1984. С. 22–4.

56. National Institute for Health and Welfare. Infectious diseases in Finland publications. Report. 1995–2020. [Электронный ресурс]. URL: <https://thl.fi/en/web/infectious-diseases-and-vaccinations/surveillance-and-registers/infectious-diseases-in-finland-publications> (дата обращения 01.06.2022).

57. Ranta E., Helle P., Lindén H. Forty years of grouse monitoring in Finland (in Finnish with English Summary). *Suomen Riista*. 2000; 50:128–36.

58. Lundström J.O., Vene S., Espmark A., Engvall M., Niklasson B. Geographical and temporal distribution of Ockelbo disease in Sweden. *Epidemiol. Infect.* 1991; 106:567–74. DOI: 10.1017/S0950268800067637.

59. Uusitalo R., Siljander M., Culverwell C.L., Hendrickx G., Lindén A., Dub T., Aalto J., Sane J., Marsboom C., Suvanto M.T., Vajda A., Gregow H., Korhonen E.M., Huhtamo E., Pellikka P., Vapalahti O. Predicting spatial patterns of Sindbis virus (SINV) infection risk in Finland using vector, host and environmental data. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2021; 18(13):7064. DOI: 10.3390/ijerph18137064.

References

1. L'vov D.K., Skvortsova T.M. [Karelian fever]. In: L'vov D.K., Klimenko S.M., Gaidanovich S.Ya. [Arboviruses and Arboviral Infections]. Moscow: "Meditsina"; 1989. P. 253–6.

2. [On Sanitary-Epidemiological Situation in the Republic of Karelia in 2002. State Report]. Petrozavodsk: Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Wellbeing; 2003. P. 76.

3. [On Sanitary-Epidemiological Situation in the Republic of Karelia in 2003. State Report]. Petrozavodsk: Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Wellbeing; 2004. P. 84.

4. Brummer-Korvenkontio M., Vapalahti O., Kuusisto P., Saikku P., Manni T., Koskela P., Nygren T., Brummer-Korvenkontio H., Vaheri A. Epidemiology of Sindbis virus infections in Finland 1981–96: possible factors explaining a peculiar disease pattern. *Epidemiol. Infect.* 2002; 129(2):335–45. DOI: 10.1017/S0950268802007409.

5. National Institute for Health and Welfare. Finland. Registry of communicable diseases, statistical database. (Cited 01 June 2022). [Internet]. Available from: https://sampo.thl.fi/pivot/prod/fi/ttr/shp/fact_shp?row=area-12260&column=time-12059&filter=reportgroup-T2074.

6. Lvov D.K., Skvortsova T.M., Kondrashina N.G., Vershinsky B.V., Lesnikov A.L., Derevyansky V.S., Berezina L.K., Gromashevsky V.L., Andrianova D.P., Yakovlev V.I. [Etiology of Karelian fever, a new arboviral infection]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 1982; 27(6):690–2.

7. Kurkela S., Manni T., Myllynen J., Vaheri A., Vapalahti O. Clinical and laboratory manifestations of Sindbis virus infection: prospective study: Finland, 2002–2003. *J. Infect. Dis.* 2005; 191(11):1820–9. DOI: 10.1086/430007.

8. Niklasson B., Espmark A., Lundström J. Occurrence of arthralgia and specific IgM antibodies three to four years after Ockelbo disease. *J. Infect. Dis.* 1988; 157(4):832–5. DOI: 10.1093/infdis/157.4.832.

9. Kulikov V.S., Svetov S.A., Slabunov A.I., Kulikova V.V., Polin A.K., Golubev A.I., Gor'kovets V.Ya., Ivashchenko V.I., Gogolev M.A. [Geological map of south-eastern Fennoscandia (scale 1:750 000): a new approach to map compilation]. *Trudy Karelskogo Nauchnogo Tsentra RAN [Proceedings of the Karelian Scientific Center of the RAS]*. 2017; (2):3–41. DOI: 10.17076/geo444.

10. Taylor R.M., Hurlbut H.S., Work T.H., Kingston J.R., Frothingham T.E. Sindbis virus: a newly recognized arthropod-transmitted virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1955; 4(5):844–62. DOI: 10.4269/ajtmh.1955.4.844.

11. Espmark A., Niklasson B. Ockelbo disease in Sweden: epidemiological, clinical and virusological data from the 1982 outbreak. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1984; 33(6):1203–11. DOI: 10.4269/ajtmh.1984.33.1203.

12. Shirako Y., Niklasson B., Dalrymple J.M., Strauss E.G., Strauss J.H. Structure of the Ockelbo virus genome and its relationship to other Sindbis viruses. *Virology*. 1991; 182(2):753–64. DOI: 10.1016/0042-6822(91)900616-j.

13. Laine M., Luukkainen R., Toivanen A. Sindbis viruses and other alphaviruses as cause of human arthritic disease. *J. Intern. Med.* 2004; 256(6):457–71. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2004.01413.x.

14. Lvov D.K., Vladimirtseva E.A., Butenko A.M., Karabatsos N., Trent D.W., Calisher C.H. Identity of Karelian fever and Ockelbo virus determined by serum dilution – plaque reduction neutralization tests and oligonucleotide mapping. *Am. J. Trop. Hyg.* 1988; 39(6):607–10. DOI: 10.4269/ajtmh.1988.39.607.

15. Norder H., Lundström J.O., Kozuch O., Magnus L.O. Genetic relatedness of Sindbis virus strains from Europe, Middle East, and Africa. *Virology*. 1996; 222(2):440–5. DOI: 10.1006/viro.1996.0441.

16. Kurkela S., Manni T., Vaheri A., Vapalahti O. Causative agent of Pogosta disease isolated from blood and skin lesions. *Emerg. Infect. Dis.* 2004; 10(5):889–94. DOI: 10.3201/eid1005.030689.

17. Virus Taxonomy: 2020 Release. ICTV. E-mail ratification March 2021. [Internet]. Available from: <https://ictv.global/taxonomy>.

18. Facts about Sindbis Fever. ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control. 2020. (Cited 01 June 2022). [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/sindbis-fever/facts>.

19. Lukin E.P. [Sindbis fever]. *Meditsinsky Akademicheskyy Zhurnal [Medical Academic Journal]*. 2009; 9(3):29–41.

20. Lundström J.O., Pfeffer M. Phylogeographic structure and evolutionary history of Sindbis virus. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2010; 10(9):889–907. DOI: 10.1089/vbz.2009.0069.

21. Ling J., Smura T., Lundström J.O., Pettersson J.H., Sironen T., Vapalahti O., Lundkvist Å., Hesson J.C. Introduction and dispersal of Sindbis virus from Central Africa to Europe. *J. Virol.* 2019; 93(16):e00620-19. DOI: 10.1128/JVI.00620-19.

22. Lvov D.K., Deryabin P.G., Aristova V.A., Butenko A.M., Galkina I.V., Gromashevsky V.L., Davydova A.A., Kolobukhina L.V., Lvov S.D., Shchelkanov M.Yu. [Atlas of the Spread of Agents of Natural-Focal Viral Infections on the Territory of the Russian Federation]. Moscow; 2001. 192 p.

23. Vasilenko N.F., Prilegina D.A., Maletskaya O.V., Taran T.V., Platonov A.E., Kulichenko A.N. [Arbovirus infections incidence in the south of the European part of the Russian Federation]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2021; 98(1):84–90. DOI: 10.36233/0372-9311-74.

24. Negodenko A.O., Molchanova E.V., Prilepskaya D.R., Konovalov P.Sh., Pavlyukova O.A., Skrynnikova E.A., Karunina I.V., Fomina V.K., Boroday N.V., Luchinin D.N. [Analysis of the results of monitoring of arbovirus infections in the territory of the Volgograd Region in 2019]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2021; 20(1):51–9. DOI: 10.31631/2073-3046-2021-20-1-51-59.

25. Shcherbakova S.A., Naidenova E.V., Bil'ko E.A., Vodina E.A., Logunova T.E., Potemina L.P., Kuttyev V.V. [Detection of specific antibodies to arboviruses in blood sera of people living in the territory of the Saratov Region]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2011; (2):72–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-2(108)-72-74.

26. Sane J., Kurkela S., Putkuri N., Huhtamo E., Vaheri A., Vapalahti O. Complete coding sequence and molecular epidemiological analysis of Sindbis virus isolates from mosquitoes and humans, Finland. *J. Gen. Virol.* 2012; 93(Pt. 9):1984–90. DOI: 10.1099/vir.0.042853-0.

27. Korhonen E.M., Suvanto M.T., Uusitalo R., Faolotto G., Smura T., Sane J., Vapalahti O., Huhtamo E. Sindbis virus strains of divergent origin isolated from humans and mosquitoes during a recent outbreak in Finland. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2020; 20(11):843–9. DOI: 10.1089/vbz.2019.2562.

28. Francy D.B., Jaenson T.G., Lundström J.O., Schildt E.B., Espmark A., Henriksson B., Niklasson B. Ecologic studies of mosquitoes and birds as hosts of Ockelbo virus in Sweden and isolation of Inkoo and Batai viruses from mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1989; 41(3):355–63. DOI: 10.4269/ajtmh.1989.41.355.

29. Bergqvist J., Forsman Q., Larsson P., Näslund J., Lilja T., Engdahl C., Lindström A., Gylfe Å., Ahlm C., Evander M., Bucht G. Detection and isolation of Sindbis virus from mosquitoes captured during an outbreak in Sweden, 2013. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2015; 15(2):133–40. DOI: 10.1089/vbz.2014.1717.

30. Tingström O., Wesula Lwande O., Näslund J., Spyckerelle I., Engdahl C., Von Schoenberg P., Ahlm C., Evander M., Bucht G. Detection of Sindbis and Inkoo virus RNA in genetically typed mosquito larvae sampled in Northern Sweden. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16(7):461–7. DOI: 10.1089/vbz.2016.1940.

31. Lundström J.O., Lindström K.M., Olsen B., Dufva R., Krakower D.S. Prevalence of Sindbis virus neutralizing antibodies among Swedish passerines indicates that thrushes are the main amplifying hosts. *J. Med. Entomol.* 2001; 38(2):289–97. DOI: 10.1603/0022-2585-38.2289.

32. Becker N., Petric D., Boase C., Lane J., Zgomba M., Dahl C., Kaiser A. Mosquitoes and Their Control. 2nd ed. Berlin: Springer; 2010. P. 3–8. DOI: 10.1007/978-1-4757-5897-9.

33. Shakya R., Tryland M., Vikse R., Romano J.S., Åsbakk K., Nymo I.H., Mehl R., Evander M., Ahlm C., Vapalahti O.,

- Lwande O.W., Putkuri N., Johansen W., Soleng A., Edgar K.S., Andreassen A.K. Inkoo and Sindbis viruses in semi-domesticated reindeer and mosquitoes in Norway. Preprint. DOI: 10.21203/rs.3.rs-1064428/v1.
34. Bergman A., Dahl E., Lundkvist Å., Hesson J.C. Sindbis virus infection in non-blood-fed hibernating *Culex pipiens* mosquitoes in Sweden. *Viruses*. 2020; 12(12):1441. DOI: 10.3390/v1212441.
35. Medvedev S.G., Aibulatov S.V., Panyukova E.V. [Ecological characteristics and distribution of the mosquito *Aedes communis* (de Geer, 1776) in the north-western part of European Russia. *Parazitologiya [Parazitology]*. 2010; 44(5):441–60.
36. Kozuch O., Labuda M., Nosek J. Isolation of Sindbis virus from the frog *Rana ridibunda*. *Acta Virol.* 1978; 22(1):78.
37. Voinov I.N., Rytik P.G., Grigoriev A.I., Parnyuk-Podol'skaya V.A., Gutkovsky I.A. [Serological evidence on Sindbis virus circulation in the West of USSR]. In: Lvov D.K., editor. [Etiology, Epidemiology, Diagnostics and Prophylaxis of Karelian Fever – Pogosta Disease]. Petrozavodsk: Academy of Medical Sciences, USSR; 1984. P. 16–9.
38. Eiden M., Ziegler U., Keller M., Müller K., Granzow H., Jöst H., Schmidt-Chanasit J., Groschup M.H. Isolation of sindbis virus from a hooded crow in Germany. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014; 14(3):220–2. DOI: 10.1089/vzb.2013.1354.
39. Kurkela S., Rätti O., Huhtamo E., Uzcátegui N.Y., Nuorti J.P., Laakkonen J., Manni T., Helle P., Vaheri A., Vapalahti O. Sindbis virus infection in resident birds, migratory birds, and humans, Finland. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14(1):41–7. DOI: 10.3201/eid1401.070510.
40. Hesson J.C., Lundström J.O., Tok A., Östman Ö., Lundkvist Å. Temporal variation in Sindbis virus antibody prevalence in bird hosts in an endemic area in Sweden. *PLoS One*. 2016; 11(8):e0162005. DOI: 10.1371/journal.pone.0162005.
41. Jöst H., Bürck-Kammerer S., Hütter G., Lattwein E., Lederer S., Litzba N., Bock-Hensley O., Emmerich P., Günther S., Becker N., Niedrig M., Schmidt-Chanasit J. Medical importance of Sindbis virus in south-west Germany. *J. Clin. Virol.* 2011; 52(3):278–9. DOI: 10.1016/j.jcv.2011.08.002.
42. Lesnikov A.L., Vershinsky B.V., Lvov D.K., Skvortsova T.M., Favorov M. O., Ispolatov D.F., Ivanov E.F. [The clinical picture and differential diagnosis of Karelian fever]. In: Lvov D.K., editor. [Etiology, Epidemiology, Diagnostics and Prophylaxis of Karelian Fever – Pogosta Disease]. Petrozavodsk: Academy of Medical Sciences, USSR; 1984. P. 6–7.
43. Turunen M., Kuusisto P., Uggeldahl P.E., Toivanen A. Pogosta disease: clinical observations during an outbreak in the province of North Karelia, Finland. *Br. J. Rheumatol.* 1998; 37(11):1177–80. DOI: 10.1093/rheumatology/37.11.1177.
44. Brummer-Korvenkontio M., Kuusisto P. [Pogosta Disease]. In: Lvov D.K., editor. [Etiology, Epidemiology, Diagnostics and Prophylaxis of Karelian Fever – Pogosta Disease]. Petrozavodsk: Academy of Medical Sciences, USSR; 1984. P. 20.
45. Gylfe Å., Ribers Å., Forsman O., Bucht G., Alenius G.M., Wällberg-Jonsson S., Ahlm C., Evander M. Mosquitoborne Sindbis virus infection and long-term illness. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(6):1141–2. DOI: 10.3201/eid2406.170892.
46. Vene S., Franzén C., Niklasson B. Development of specific antibody patterns and clinical symptoms following Ockelbo virus infection. *Arch. Virol.* 1994; 134(1-2):61–71. DOI: 10.1007/BF01379107.
47. Niklasson B., Espmark A. Ockelbo disease: arthralgia 3–4 years after infection with a Sindbis virus related agent. *Lancet*. 1986; 1(8488):1039–40. DOI: 10.1016/S0140-6736(86)91315-2.
48. Kurkela S., Helve T., Vaheri A., Vapalahti O. Arthritis and arthralgia three years after Sindbis virus infection: clinical follow-up of a cohort of 49 patients. *Scand. J. Infect. Dis.* 2008; 40(2):167–73. DOI: 10.1080/00365540701586996.
49. Favorov O.M., Arakelov S.A., Lvov S.D., Skvortsova T.M., Danilyuk O.V., Chashnikova T.G., Lvov D.K. [Clinical and serological examination of patients with chronic damage to musculoskeletal system in the Karelian ASSR]. In: Lvov D.K., editor. [Etiology, Epidemiology, Diagnostics and Prophylaxis of Karelian Fever – Pogosta Disease]. Petrozavodsk: Academy of Medical Sciences, USSR; 1984. P. 14–5.
50. Laine M., Vainionpää R., Oksi J., Luukkainen R., Toivanen A. The prevalence of antibodies against Sindbis-related (Pogosta) virus in different parts of Finland. *Rheumatology (Oxford)*. 2003; 42(5):632–6. DOI: 10.1093/rheumatology/keg143.
51. Sokolova T.M., Shuvalov A.N. [Suppression of Karelian fever virus reproduction in human blood cells by recombinant alpha-2-interferon]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2012; 57(2):27–32.
52. Galimzyanov Kh.M., Vasil'kova V.V., Kantemirova B.I., Akmaeva L.R. [Arbovirus mosquito infections]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions Training]*. 2016; (4):29–37.
53. Larichev V.F., Kozlova A.A., Saifullin M.A., Khutoretskaya N.V., Shkinev V.M., Butenko A.M. [Immuno-enzyme test-systems for serodiagnosis of endemic for Russia and imported tropical arboviral infections]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2015; 20(6):44–6.
54. Heise M.T., Simpson D.A., Johnston R.E. Sindbis-group alphavirus replication in periosteum and endosteum of long bones in adult mice. *J. Virol.* 2000; 74(19):9294–9. DOI: 10.1128/jvi.74.19.9294-9299.2000.
55. Saikku P. [Alphaviruses in Europe]. In: Lvov D.K., editor. [Etiology, Epidemiology, Diagnostics and Prophylaxis of Karelian Fever – Pogosta Disease]. Petrozavodsk: Academy of Medical Sciences, USSR; 1984. P. 22–4.
56. National Institute for Health and Welfare. Infectious diseases in Finland publications. Report. 1995–2020. (Cited 01 June 2022). [Internet]. Available from: <https://thl.fi/en/web/infectious-diseases-and-vaccinations/surveillance-and-registers/infectious-diseases-in-finland-publications>.
57. Ranta E., Helle P., Lindén H. Forty years of grouse monitoring in Finland (in Finnish with English Summary). *Suomen Riista*. 2000; 50:128–36.
58. Lundström J.O., Vene S., Espmark A., Engvall M., Niklasson B. Geographical and temporal distribution of Ockelbo disease in Sweden. *Epidemiol. Infect.* 1991; 106:567–74. DOI: 10.1017/s0950268800067637.
59. Uusitalo R., Siljander M., Culverwell C.L., Hendrickx G., Lindén A., Dub T., Aalto J., Sane J., Marsboom C., Suvanto M.T., Vajda A., Gregow H., Korhonen E.M., Huhtamo E., Pellikka P., Vapalahti O. Predicting spatial patterns of Sindbis virus (SINV) infection risk in Finland using vector, host and environmental data. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2021; 18(13):7064. DOI: 10.3390/ijerph18137064.

Authors:

Rubis L.V. Petrozavodsk State University, 33, Lenina Avenue, Petrozavodsk, 185910, Russian Federation. E-mail: rublusja@mail.ru.

Об авторах:

Рубис Л.В. Петрозаводский государственный университет. Российская Федерация, 185910, Петрозаводск, пр. Ленина, 33. E-mail: rublusja@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-43-50

УДК 616.98:579.834.115(470)

Д.В. Транквилевский¹, Е.Ю. Киселева², В.М. Корзун², Н.В. Бренёва², Ю.А. Вержуцкая²,
И.Д. Зарва^{2,3}, О.Н. Скударева⁴, С.В. Балахонов²

Эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по лептоспирозам в Российской Федерации в период с 2013 по 2022 г. и прогноз на 2023 г.

¹ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ³ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет», Иркутск, Российская Федерация;

⁴Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Российская Федерация

Цель работы – проанализировать эпизоотолого-эпидемиологическую ситуацию по лептоспирозам на территории Российской Федерации в 2013–2022 гг. и дать прогноз ее развития в 2023 г. Многолетняя динамика заболеваемости лептоспирозами в Российской Федерации имеет тенденцию к снижению. Больные зарегистрированы в 58 субъектах Российской Федерации, во всех федеральных округах. Наиболее высокие показатели инцидентности отмечены в Северо-Западном федеральном округе. При исследовании материала от мелких млекопитающих бактериологическими, иммунологическими и молекулярно-биологическими методами циркуляция лептоспир выявлена в 52 субъектах Российской Федерации, во всех федеральных округах. В 2023 г. возможны спорадические случаи заражения на территориях Северо-Западного, Центрального, Южного федеральных округов, не исключены завозные случаи инфекции из стран с субэкваториальным и экваториальным климатом.

Ключевые слова: лептоспирозная инфекция, заболеваемость, прогноз.

Корреспондирующий автор: Киселева Евгения Юрьевна, e-mail: e.kisseleva.2010@mail.ru.

Для цитирования: Транквилевский Д.В., Киселева Е.Ю., Корзун В.М., Бренёва Н.В., Вержуцкая Ю.А., Зарва И.Д., Скударева О.Н., Балахонов С.В. Эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по лептоспирозам в Российской Федерации в период с 2013 по 2022 г. и прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:43–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-43-50

Поступила 19.06.2023. Отправлена на доработку 13.07.2023. Принята к публ. 17.07.2023.

D.V. Trankvilevsky¹, E.Yu. Kiseleva², V.M. Korzun², N.V. Breneva², Yu.A. Verzhutskaya², I.D. Zarva^{2,3}, O.N. Skudareva⁴, S.V. Balakhonov²

Epizootiological and Epidemiological Situation on Leptospirosis in the Russian Federation over the Period of 2013–2022 and the Forecast for 2023

¹Federal Center of Hygiene and Epidemiology, Moscow, Russian Federation;

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

³Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation;

⁴Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to analyze the epizootic and epidemiological situation on leptospirosis in the territory of the Russian Federation in 2013–2022 and to forecast its development in 2023. The long-term dynamics of leptospirosis incidence in the Russian Federation tends to decrease. Cases were registered in 58 constituent entities of the Russian Federation, in all federal districts. The highest incidence rates were noted in the North-Western Federal District. When studying the material from small mammals using bacteriological, immunological and molecular-biological methods, *Leptospira* circulation was detected in 52 entities of the Russian Federation, in all federal districts. In 2023, sporadic cases of infection are to be expected in the territories of the North-Western Federal District, the Central Federal District, and the Southern Federal District; imported cases of infection from countries with subequatorial and equatorial climates are not excluded.

Key words: leptospirosis infection, morbidity, forecast.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Evgeniya Yu. Kiseleva, e-mail: e.kisseleva.2010@mail.ru.

Citation: Trankvilevsky D.V., Kiseleva E.Yu., Korzun V.M., Breneva N.V., Verzhutskaya Yu.A., Zarva I.D., Skudareva O.N., Balakhonov S.V. Epizootiological and Epidemiological Situation on Leptospirosis in the Russian Federation over the Period of 2013–2022 and the Forecast for 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 3:43–50. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-43-50

Received 19.06.2023. Revised 13.07.2023. Accepted 17.07.2023.

Trankvilevsky D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4896-9369>
Kiseleva E.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3965-9801>
Korzun V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1947-5252>
Breneva N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9207-7536>

Verzhutskaya Yu.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9573-4696>
Zarva I.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4225-5998>
Balakhonov S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Лептоспирозы – группа природноочаговых не-трансмиссивных зоонозных инфекций бактериальной этиологии [1–4]. Природные очаги инфекции разной степени эпидемического проявления рас-

пространены во всех федеральных округах страны [1–3, 5, 6]. Эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация во многом зависит от разнообразия и эколого-биологических особенностей восприимчи-

вых животных-носителей и резервуарных хозяев в определенных географических условиях [1–11].

В последние годы закономерности эпизоотических и эпидемических проявлений лептоспирозов претерпели существенные изменения [12]. В прошедшем десятилетии прослеживается тенденция к снижению показателей заболеваемости лептоспирозной инфекцией среди людей на большинстве территорий России. Следует принять во внимание, что легкие формы лептоспирозов могут оставаться невыявленными [6]. Регистрируются обычно среднетяжелые и тяжелые случаи, когда люди вынуждены обратиться за медицинской помощью в связи с угрозой для жизни. Проблема лептоспирозов остается актуальной, поскольку сохраняется эпизоотическая активность отдельных природных и антропоургических очагов в нашей стране [5, 13, 14], кроме того, увеличивается риск завоза инфекций из регионов с субэкваториальным и экваториальным климатом, пользующихся в настоящее время популярностью у российских туристов [15–17].

Цель работы – проанализировать эпизоотолого-эпидемиологическую ситуацию по лептоспирозам на территории Российской Федерации в 2013–2022 гг. и дать прогноз ее развития в 2023 г.

Анализировали информацию форм федерального и отраслевого статистического наблюдения № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях» и № 29-20 «Результаты зоолого-эпидемиологического, эпизоотологического мониторинга в природных очагах инфекционных болезней», а также материалы, обобщаемые в соответствии с приказом Роспотребнадзора от 14.01.2013 № 6 «Об утверждении инструкции по оформлению обзора и прогноза численности мелких млекопитающих и членистоногих».

Статистическая обработка материалов выполнена стандартными методами вариационной статистики в программе Microsoft Excel 2016. При анализе использованы показатель средней арифметической и величины ее ошибки ($M \pm m$), построены уравнения линейной регрессии [18]. Значения показателя инцидентности определены числом больных в расчете на 100 тыс. населения (‰_{0000}). Среднеголетний показатель (СМП) заболеваемости рассчитывался для 85 субъектов России за десятилетний период. Дифференциацию субъектов проводили, используя интервал значений между доверительными границами медианы [18, 19].

Ретроспективный анализ заболеваемости лептоспирозами в Российской Федерации с 2013 по 2022 г. За последние 10 лет зарегистрирован 1551 случай лептоспирозной инфекции, среднеголетний показатель заболеваемости с 2013 по 2022 г. составил $(0,11 \pm 0,014)$ на 100 тыс. населения. Максимальное значение отмечено в 2014 г. – $0,18 \text{ ‰}_{0000}$ (259 случаев), минимальное – в 2022 г. – $0,06 \text{ ‰}_{0000}$ (90 случаев). При этом эпидемические проявления лептоспирозов носили характер спорадических и

групповых случаев. За исследуемый период многолетняя динамика заболеваемости лептоспирозной инфекцией в целом по Российской Федерации имеет тенденцию к снижению ($b = -0,011 \pm 0,0033$; $df = 8$; $t = 3,29$; $p = 0,013$) (рис. 1). Такой характер изменений представляет собой продолжение более длительного тренда, наблюдающегося как минимум с середины прошлого столетия [12].

С 2013 г. случаи лептоспирозов зарегистрированы в 58 субъектах Российской Федерации, во всех федеральных округах. Большинство из них приходится на европейскую часть России – более 96 %.

Наиболее высокие показатели заболеваемости отмечены в Северо-Западном федеральном округе (СЗФО), экстенсивный показатель в последнее десятилетие составляет около 21 % от всей заболеваемости по стране (рис. 1), среднеголетний интенсивный показатель – $(0,23 \pm 0,020) \text{ ‰}_{0000}$. В 2014 и 2021 гг. в СЗФО зарегистрированы максимальные величины инцидентности за анализируемый период по всем округам России – $0,33 \text{ ‰}_{0000}$. Значимый тренд на снижение заболеваемости отсутствует. Максимальные показатели зарегистрированы в Вологодской ($0,76 \text{ ‰}_{0000}$) и Новгородской областях ($0,26 \text{ ‰}_{0000}$), в г. Санкт-Петербурге ($0,24 \text{ ‰}_{0000}$). Ни одного больного лептоспирозом с 2013 по 2022 г. не выявлено в Ненецком автономном округе.

На втором месте по интенсивным показателям заболеваемости находится Южный федеральный округ (ЮФО). Среднеголетний показатель равен $(0,18 \pm 0,030) \text{ ‰}_{0000}$ при наличии существенной тенденции к снижению ($b = -0,024 \pm 0,0074$; $df = 8$; $t = 3,27$; $p = 0,014$). Наибольшее количество случаев инфекции выявлено в Краснодарском крае ($0,39 \text{ ‰}_{0000}$). Единичные заболевания в отдельные годы регистрировали в Республике Адыгея, Волгоградской и Ростовской областях, г. Севастополе.

В Центральном федеральном округе (ЦФО) среднеголетней уровень заболеваемости составил $(0,13 \pm 0,025) \text{ ‰}_{0000}$, выраженная тенденция к снижению показателя инцидентности не обнаруживается. Случаи лептоспирозов ежегодно регистрируются в 15 субъектах округа. Наибольшие показатели заболеваемости выявлены в Смоленской ($0,65 \text{ ‰}_{0000}$), Ярославской ($0,51 \text{ ‰}_{0000}$) и Калужской ($0,47 \text{ ‰}_{0000}$) областях.

В Приволжском федеральном округе (ПФО) среднеголетний показатель заболеваемости составил $(0,11 \pm 0,027) \text{ ‰}_{0000}$, существенных изменений ее уровня за исследуемый период не проявляется. Наибольшее количество заболевших выявлено в Республике Мордовия ($0,79 \text{ ‰}_{0000}$) и Удмуртской Республике ($0,31 \text{ ‰}_{0000}$). Случаи инфекции зарегистрированы в 10 субъектах округа, исключение составили республики Марий Эл, Башкортостан и Чувашская Республика, а также Оренбургская и Саратовская области.

В Северо-Кавказском федеральном округе (СКФО) в 2013–2022 гг. на территории четырех субъ-

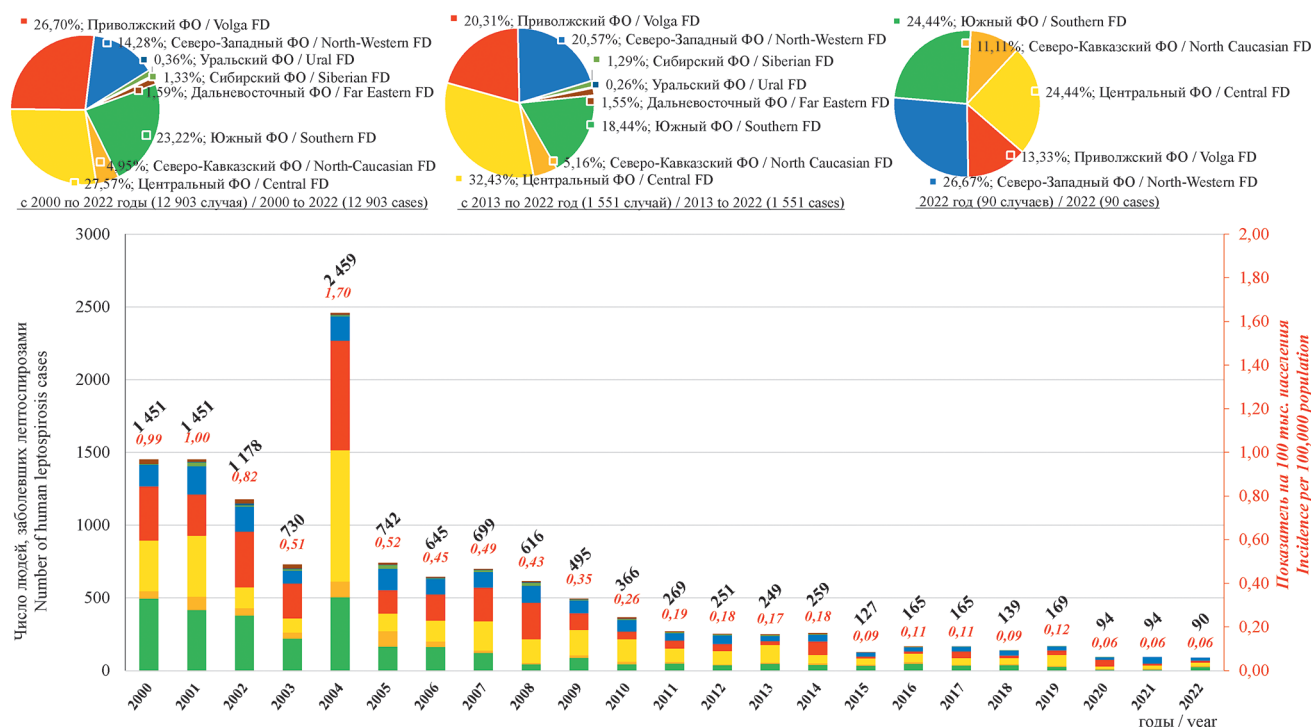


Рис. 1. Число случаев лептоспироза и показатели заболеваемости с 2000 по 2022 г. на территориях Российской Федерации (данные формы государственной статистической отчетности № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», в том числе по Республике Крым – с 2014 г.):

по основной оси ординат приведено число случаев заболеваний, по вспомогательной оси ординат – относительные значения заболеваемости (курсив)

Fig. 1. The number of leptospirosis cases and morbidity rates between 2000 and 2022 in the territories of the Russian Federation (according to the state statistical reporting form No. 2 “Information on infectious and parasitic diseases”, 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)

ектов (Кабардино-Балкарская, Карачаево-Черкесская республики, Республика Северная Осетия – Алания, Ставропольский край) зафиксированы единичные случаи лептоспирозов. На долю Ставропольского края приходится 84 % от всех зарегистрированных случаев в округе за 10 лет ($0,24 \text{ ‰}$). Среднеголетний уровень заболеваемости в округе составил ($0,08 \pm 0,008 \text{ ‰}$), значимого тренда не наблюдается.

В общей структуре заболеваемости по стране показатели по Дальневосточному федеральному округу (ДФО) составляют не более 2 %. Среднеголетняя заболеваемость – ($0,04 \pm 0,017 \text{ ‰}$), при этом за рассматриваемый период отмечено снижение показателя ($b = -0,014 \pm 0,0048$; $df = 8$; $t = 2,97$; $p = 0,021$). Единичные случаи инфекции в отдельные годы регистрировались в Приморском, Хабаровском и Забайкальском краях, Сахалинской области и Республике Бурятия.

На территории Сибирского федерального округа (СФО) за последнее десятилетие лептоспироз выявлен в четырех субъектах: в Кемеровской, Новосибирской, Иркутской областях и Алтайском крае (расположены в порядке снижения абсолютных показателей). Среднеголетний уровень заболеваемости в округе низкий и составил ($0,01 \pm 0,003 \text{ ‰}$), тем не менее проявляется достоверный тренд на сни-

жение показателя ($b = -0,002 \pm 0,0005$; $df = 8$; $t = 4,02$; $p = 0,005$).

Наименьшее количество случаев лептоспирозной инфекции с 2013 по 2022 г. зарегистрировано в границах Уральского федерального округа (УФО) – всего четыре: по одному случаю в Свердловской, Челябинской, Тюменской областях и Ханты-Мансийском автономном округе.

Для ранжирования по среднеголетним показателям заболеваемости лептоспирозами в субъектах Российской Федерации за последнее десятилетие использовали интервал значений между доверительными границами медианы. В результате выделены следующие группы: I – низкая, II – средняя, III – высокая инцидентность, и в отдельной группе – территории, где заболеваемость лептоспирозами не регистрируется (рис. 2).

На 27 территориях страны случаи лептоспирозной инфекции в исследуемый период не зарегистрированы. Группа включает по 6 субъектов из ДФО и СФО, 5 субъектов – ПФО, по 3 – ЦФО и СКФО, 2 – УФО, по 1 – СЗФО и ЮФО (таблица).

В I группе – 21 субъект, СМП заболеваемости в диапазоне от $0,002$ до $0,032 \text{ ‰}$. Группа включает по 4 субъекта из УФО и СФО, по 3 субъекта – ДФО и СЗФО, по 2 – ЦФО, ЮФО и ПФО, 1 – СКФО (таблица).

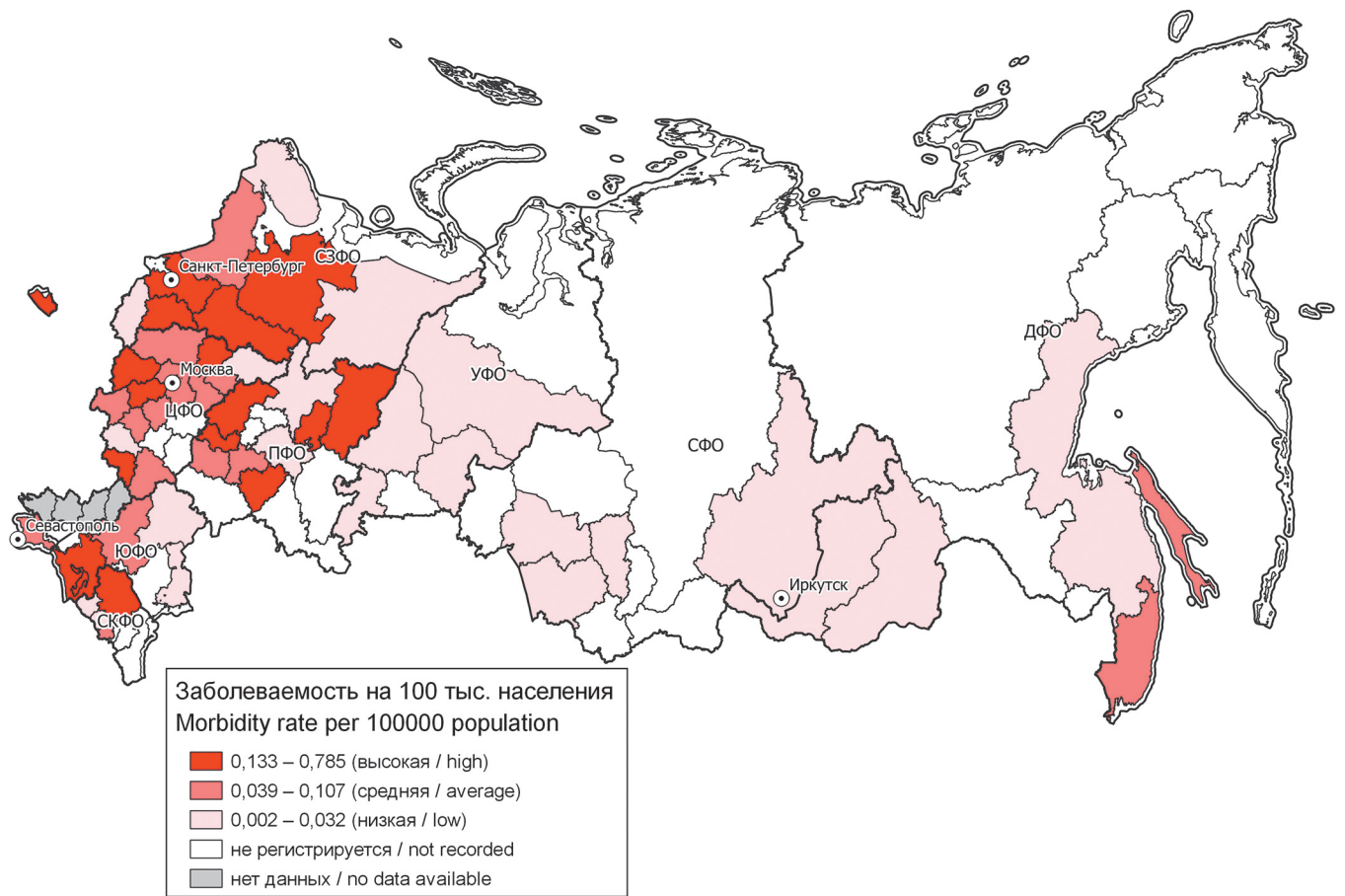


Рис. 2. Ранжирование субъектов Российской Федерации по среднемуголетним показателям заболеваемости лептоспирозами в 2013–2022 гг.

Fig. 2. Ranking of the constituent entities of the Russian Federation by the average long-term indicators of leptospirosis incidence in 2013–2022

Среднеуголетние показатели заболеваемости лептоспирозами по федеральным округам России
Long-term average annual (LTAA) incidence rates of leptospirosis by the federal districts of Russia

Территория Territory	СМП заболеваемости с 2013 по 2022 г., ‰ LTAA morbidity rates over 2013–2022, ‰	Количество субъектов в определенной группе ранжирования по медиане The number of subjects in a certain ranking group by median			
		Случаи не регистрируются Cases are not registered	I группа 0,002–0,032 ‰ Group I	II группа 0,039–0,107 ‰ Group II	III группа 0,133–0,785 ‰ Group III
ЦФО / Central Federal District	0,13±0,025	3	2	8	5
СЗФО / North-Western Federal District	0,23±0,020	1	3	1	6
ЮФО / Southern Federal District	0,18±0,030	1	2	2	3
СКФО / North-Caucasian Federal District	0,08±0,008	3	1	2	1
ПФО / Volga Federal District	0,11±0,027	5	2	2	5
УФО / Ural Federal District	0,00±0,002	2	4	0	0
СФО / Siberian Federal District	0,01±0,003	6	4	0	0
ДФО / Far Eastern Federal District	0,04±0,017	6	3	2	0
Россия Russia	0,11±0,014	27	21	17	20

Во II группу вошли 17 субъектов с показателями от 0,039 до 0,107 ‰. Итого 8 субъектов – из ЦФО, по 2 субъекта – из ЮФО, СКФО, ПФО и ДФО, 1 – СЗФО, не вошел ни один субъект УФО и СФО (таблица).

В III группе представлены 20 субъектов с показателями от 0,133 до 0,785 ‰. В III группу не вошел ни один субъект УФО, СФО и ДФО. Наибольшее количество субъектов – 6 – из СЗФО; по 5 субъектов –

из ЦФО и ПФО, 3 – ЮФО, 1 – СКФО. Максимальные показатели выявлены в Вологодской области (СЗФО) и Республике Мордовия (ПФО), однако при оценке они не выпадают из III группы ранжирования (таблица).

Результаты эпидемиологического мониторинга за лептоспирозами в Российской Федерации в 2022 г. Общее число случаев лептоспирозной инфекции на территории России составило 90 (в 2021 г. – 94 случая), показатель заболеваемости – 0,06 ‰ (рис. 1). В 2022 г. у детей в возрасте 0–17 лет выявлено 5 случаев заболевания (0,02 ‰). Среди выявленных больных по абсолютным показателям преобладало городское население (73,3 %), при пересчете в относительные показатели заболеваемость у сельских жителей выше – это объясняется более низкой численностью населения в сельской местности. Наибольшая доля заболевших (26,67 %) выявлена в СЗФО (рис. 1). В СФО, УФО и ДФО больных лептоспирозами в 2022 г. не зафиксировано.

За прошедший год зарегистрировано три летальных исхода болезни (по одному в городах Москва и Санкт-Петербург, Краснодарском крае); летальность составила 3,33 %, смертность – 0,002 ‰. В феврале 2022 г. – от желтушно-геморрагической формы лептоспироза у 69-летнего жителя г. Москвы, проживавшего на территории Московской области в г. Черноголовка в частном доме, где были выявлены грызуны и признаки их жизнедеятельности. В г. Санкт-Петербурге – от желтушной формы лептоспироза у 52-летнего жителя, который пострадал от укуса крысы при попытке ее поймать. В Краснодарском крае – от желтушной формы лептоспироза, осложненной острой дыхательной недостаточностью (III степень), острой почечно-печеночной недостаточностью и отеком головного мозга у 38-летнего мужчины, отдыхавшего на природе в Анапском районе. У всех пострадавших наблюдалось тяжелое течение болезни.

Эпизоотологический мониторинг за лептоспирозами в Российской Федерации в 2022 г. С целью обеспечения эпидемиологического надзора за лептоспирозами, лабораторные исследования материала от мелких млекопитающих (ММ) в 2022 г. проводились бактериологическими, иммунологическими и молекулярно-биологическими методами в 76 субъектах Российской Федерации (2021 г. – в 74, 2020 г. – в 73). Всего исследовано 38,8 тыс. проб органов от ММ, определенных до вида (2021 г. – 32,1 тыс., 2020 г. – 26,8 тыс.). Не осуществлялись исследования на 8 территориях: в Ненецком автономном округе, республиках Дагестан, Ингушетия, Карачаево-Черкесия, Северная Осетия – Алания и Чувашия, Курганской и Магаданской областях (2021 г. – на 8, 2020 г. – на 9). Инфицированные мелкие млекопитающие выявлены в 52 субъектах Российской Федерации (2021 г. – в 39, 2020 г. – в 40), во всех округах (2021 и 2020 гг. – во всех). Кроме 8 территорий, в которых не вели исследования ма-

териала от ММ на лептоспироз, отрицательные результаты лабораторных исследований получены в 24 субъектах России: в Липецкой, Тамбовской, Мурманской, Псковской, Ростовской, Саратовской, Ульяновской, Челябинской, Кемеровской, Новосибирской и Сахалинской областях, Чеченской Республике, республиках Коми, Калмыкия, Кабардино-Балкария, Марий Эл, Мордовия, Татарстан, Алтай, Тыва, Хакасия и Саха (Якутия), Красноярском крае, Чукотском автономном округе (2021 г. – в 35, 2020 г. – в 33). В период с 2013 по 2022 г. из 24 перечисленных территорий при исследовании материала от ММ не получено положительных результатов на 7 территориях (Ростовская, Челябинская и Сахалинская области, республики Калмыкия, Кабардино-Балкария и Марий Эл, Красноярский край).

По результатам эпизоотологического мониторинга в Ханты-Мансийском автономном округе в 2022 г. наблюдался достоверный рост серопозитивных проб от мелких млекопитающих.

Всего в 2022 г. в Российской Федерации в исследованной выборке выявлено 2,0 % инфицированных ММ (2,3 % – в 2021 г., 1,8 % – в 2020 г.), которые относились к 31 таксону (31 – в 2021 г., 27 – в 2020 г.). В структуре лептоспиноносителей на долю рыжей полевки приходится 31,4 %, полевой мыши – 16,2 %, обыкновенной бурозубки – 7,0 % (рис. 3).

Бактериологические исследования осуществляли на 13 территориях (на 11 – в 2021 и 2020 гг.), при этом культуры лептоспир удалось изолировать в Архангельской области при исследовании материала от обыкновенной бурозубки, рыжей и красной полевок, серой полевки, полевки-экономки, а также в г. Санкт-Петербурге – от серой крысы (в 2021 и 2020 гг. – в Архангельской области). В Санкт-Петербурге выделенные культуры не удалось идентифицировать, в Архангельской области из материала от обыкновенной бурозубки изолировали лептоспир серогруппы *Pomona*, от вышеперечисленных полевок – *Tarassovi*, *Icterohaemorrhagiae* и *Grippytyphosa*.

Проведение рациональных противоэпидемических мероприятий осуществляется с учетом этиологической структуры циркулирующих лептоспир и экологических особенностей животных-носителей. Сведения об этиологической структуре и ее динамике – ключевая часть результатов мониторинга эпидемиологической и эпизоотологической ситуации. Эти данные необходимы для подбора антигенной композиции вакцинных и диагностических препаратов, соответствующей спектру циркулирующих на данной территории возбудителей. На ряде территорий в 2022 г. проводили иммунологические и молекулярно-биологические исследования материала от ММ, при этом среди выявленных положительных образцов последующее определение серогрупповой принадлежности лептоспир не осуществляли.

Иммунологические методы с целью выявления антигенов лептоспир в материале от ММ применя-

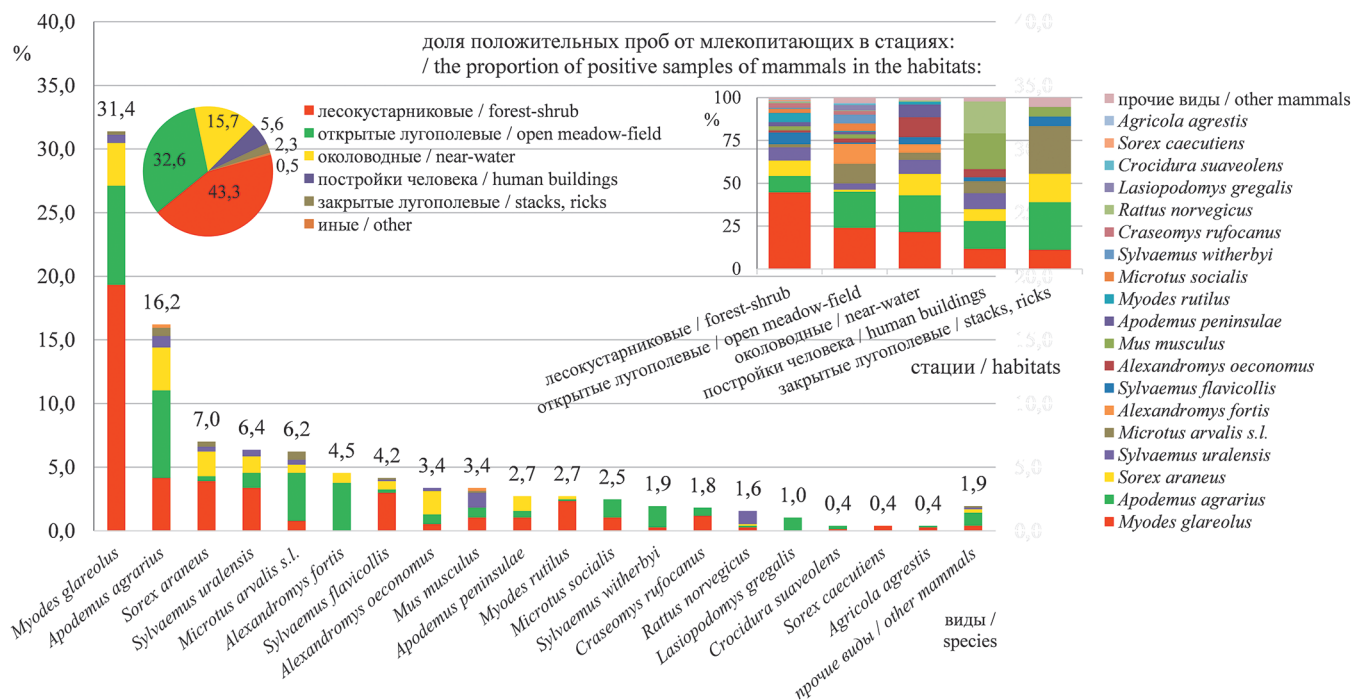


Рис. 3. Структура млекопитающих-лептоспиноносителей в 2022 г. в различных стациях. Прочие 11 видов: ондатра, малая бурозубка, курганчиковая мышь, полевка Брандта, азиатский бурундук, обыкновенная кутора, равнозубая бурозубка, кавказская мышь, обыкновенный хомяк, серый хомячок, европейский крот

Fig. 3. Structure of mammals – carriers of leptospirosis – in various habitats in 2022. Other 11 species: *Ondatra zibethicus*, *Sorex minutus*, *Mus spicilegus*, *Lasiopodomys brandtii*, *Eutamias sibiricus*, *Neomys fodiens*, *Sorex isodon*, *Sylvaemus ponticus*, *Cricetus cricetus*, *Cricetulus migratorius*, *Talpa europaea*

ли на 5 территориях: в Белгородской, Новгородской, Псковской и Ульяновской областях, Кабардино-Балкарской Республике (на 5 территориях – в 2021 г., на 14 – в 2020 г.). Проведено исследование 3,0 тыс. проб, в одном случае получен положительный результат – материал от рыжей полевки из Новгородской области, возбудитель не типирован (в 2021 г. – на 2 территориях – 2,8 % проб, в 2020 г. – на 5 – 1 % проб).

Молекулярно-биологическими методами (ПЦР) исследовали 15,3 тыс. проб в 49 субъектах (в 37 – в 2021 г., в 35 – в 2020 г.), получено 2,3 % положительных результатов на 30 территориях (на 17 – в 2021 г., на 22 – в 2020 г.), из которых типирование лептоспир провели только в Ленинградской области. Не удалось провести идентификацию лептоспир в 29 из 30 субъектов Российской Федерации (на 17 территориях в 2021 г., на 21 – в 2020 г.): в Амурской, Белгородской, Брянской, Владимирской, Воронежской, Ивановской, Калужской, Костромской, Курской, Московской, Калининградской, Астраханской, Волгоградской, Нижегородской, Свердловской, Тюменской, Иркутской, Омской и Томской областях, республиках Башкортостан, Бурятия, Карелия и Крым, Ямало-Ненецком автономном округе, Алтайском, Забайкальском, Камчатском, Приморском и Хабаровском краях.

Основная роль в поддержании природных очагов лептоспирозов принадлежала эвритопным и гемисинантропным видам, предпочитающим увлажненные

местообитания – околоводные стаии. В 2022 г. видовой состав был разнообразен и отличался по стациям. На долю лептоспиноносителей приходилось:

– в лесостепных стациях – 43,3 % от всех исследованных проб, выявлена 771 особь 19 видов на 36 территориях (21 вид на 31 территории – в 2021 г., 17 на 30 – в 2020 г.);

– в открытых луговых стациях – 32,6 %, выявлена 251 особь 24 видов на 24 территориях (23 вида на 23 территориях – в 2021 г., 15 на 18 – в 2020 г.);

– в околоводных стациях – 15,7 %, выявлена 121 особь 13 видов на 18 территориях (15 видов на 18 территориях – в 2021 г., 14 на 17 – в 2020 г.);

– в постройках человека – 5,6 %, выявлено 43 особи 10 видов на 13 территориях (7 видов на 10 территориях – в 2021 г., 6 на 13 – в 2020 г.);

– в закрытых луговых стациях – 2,3 %, выявлено 18 особей 7 видов на 7 территориях (3 вида на 3 территориях – в 2021 г., 3 на 3 – в 2020 г.).

В структуре инфицированных животных в различных стациях выявлены виды, относящиеся к разным формам синантропии и обладающие той или иной степенью эвритопности, что может значительно изменяться в направлении от оптимума к периферии ареала и отличаться в географических зонах.

Среди инфицированных проб от ММ основную долю в лесах составляет рыжая полевка (44,6 %). Этот вид преобладал в открытых луго-полевых и

околоводных станциях наряду с полевой мышью, где их доля соответственно составила 23,9 и 21,1 %. Больше всего инфицированных рыжих полевков – 20,1 % от всех лептоспириносителей в стране – выявлено в СЗФО. При постановке РМА определено, что единичные особи этого вида имели специфические антитела к патогенным лептоспирам серогрупп *Tarassovi*, *Javanica*, *Icterohaemorrhagiae*, *Sejroe*, *Pomona* и *Grippotyphosa*.

Полевая мышь на большей части территорий – эвритопный вид, инфицированные особи зарегистрированы во всех станциях, экстенсивный показатель в луго-полевых и околоводных станциях составил более 20,0 %. Максимальное количество позитивных проб от полевой мыши выявлено в ДФО – 9,1 % от всех проб ММ в стране; в ЦФО – 4,4 %. В субъектах ДФО идентификацию лептоспир проводили до 2016 г., по этим данным, среди полевых мышей, отловленных в Хабаровском крае, выявили лептоспириносителей серогрупп *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae*, *Grippotyphosa* и *Bataviae*. В ЦФО в 2022 г. обнаружены единичные носители серогрупп *Pomona*, *Javanica* и *Icterohaemorrhagiae*.

Инфицированные особи обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*) выявлены во всех местообитаниях, значительная доля отмечалась в околоводных и лесокустарниковых станциях – 12,4 и 9,0 % соответственно. Больше всего *S. araneus*, инфицированных возбудителями серогрупп *Pomona*, *Tarassovi*, *Javanica*, *Icterohaemorrhagiae* и *Grippotyphosa*, обнаружили в СЗФО (3,2 %), и *Javanica*, *Sejroe* и *Autumnalis* – в ЦФО (1,2 %).

Среди малых лесных мышей (*Sylvaeus uralensis*) единичные позитивные особи выявлены во всех местообитаниях, кроме скирд и ометов, во всех федеральных округах, кроме УФО и ДФО. В ЦФО в материале от *S. uralensis* выявляли специфические антитела к лептоспирам серогрупп *Pomona* и *Grippotyphosa*, в СЗФО – *Sejroe* и *Grippotyphosa*, в Краснодарском крае – *Grippotyphosa* и *Australis*, в Ставропольском – *Icterohaemorrhagiae* и *Sejroe*, в ПФО – *Australis*, *Icterohaemorrhagiae* и *Grippotyphosa*.

Лептоспириносителей среди видов-двойников (обыкновенная и восточно-европейская полевки) выявили во всех станциях, больше всего – в полях, на территории всех федеральных округов, кроме СКФО. Серогруппы *Canicola*, *Icterohaemorrhagiae* и *Grippotyphosa* обнаружены у этих полевков в ЦФО, *Javanica*, *Tarassovi*, *Sejroe* – в СЗФО, *Grippotyphosa* – в Краснодарском крае (ЮФО).

Среди остальных видов (рис. 3) обнаружены единичные особи – носители отдельных перечисленных серогрупп.

Прогноз на 2023 г. Общая тенденция к снижению заболеваемости в Российской Федерации сохранится. Вряд ли можно ожидать значительного повышения уровня инцидентности.

Существование природных и антропоургических очагов лептоспирозов на многих территориях

обуславливает возможность возникновения спорадических случаев инфекции. В большинстве субъектов Российской Федерации, где проводили зоолого-эпизоотологическое обследование и лабораторное исследование зоологического материала, подтверждена активность природных очагов лептоспирозов. В эпизоотический процесс патогенных для человека лептоспир вовлечены ММ, относящиеся к разным формам синантропии, в основном эвритопные виды. В постройках человека выявлены единичные лептоспириносители среди синантропных видов (домовая мышь и серая крыса) и обитатели природных станций. В населенных пунктах, в том числе в сельской местности, существует возможность заражения людей патогенными лептоспирами от мигрирующих и инфицированных ММ. Наиболее вероятно заражение людей на территориях СЗФО (Архангельская и Новгородская области, г. Санкт-Петербург), ЦФО (Калужская и Ярославская области) и ЮФО (Краснодарский край, г. Севастополь). На территориях, где не уделяют должного внимания плановой вакцинации сельскохозяйственных и домашних животных, увеличивается вероятность возникновения случаев заражения среди людей.

Сохраняются эпидемиологические риски завоза инфекции из регионов с субэкваториальным и экваториальным климатом, обусловленные ростом популярности отдыха россиян в экзотических странах, интенсивным развитием международного экологического туризма.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Ананьин В.В., редактор. Лептоспирозы людей и животных. М.: Медицина; 1971. 352 с.
2. Ананьина Ю.В. Лептоспирозы. В кн.: Брико Н.И., Онищенко Г.Г., Покровский В.И. Руководство по эпидемиологии инфекционных болезней. М.: Медицинское информационное агентство; 2019. Т. 2. С. 106–15.
3. Ананьина Ю.В. Лептоспиры – возбудители лептоспирозов человека. В кн.: Лабинская А.С., Костюкова Н.Н., Иванова С.М., редакторы. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга II. М.: БИНОМ; 2022. С. 821–43.
4. Adler B., de la Peña Moctezuma A. Leptospira and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 2010; 140(3-4):287–96. DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.03.012.
5. Транквиловский Д.В. Об инфицированности мелких млекопитающих возбудителями зоонозов в Российской Федерации. *Здоровье населения и среда обитания.* 2016; 10:53–6.
6. Ананьина Ю.В. Лептоспирозы людей и животных: тенденции распространения и проблемы профилактики. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2010; 2:13–6.
7. Кучерук В.В. Структура, типология и районирование природных очагов болезней человека. В кн.: Петрищева П.А., редактор. Итоги развития учения о природной очаговости болезней человека и дальнейшие задачи. М.: Медицина; 1972. С. 180–212.
8. Соболева Г.Л., Ананьина Ю.В., Непоклонова И.В. Актуальные вопросы лептоспироза людей и животных. *Российский ветеринарный журнал.* 2017; 8:14–8.
9. Городин В.Н., Мойсова Д.Л., Бахтина В.А., Зотов С.В. Тренды современного лептоспироза. *Эпидемиология и инфек-*

ционные болезни. 2018; 23(2):93–100. DOI: 10.18821/1560-9529-2018-23-2-93-100.

10. Дмитриев П.П. Избранные главы медицинской зоологии. Позвоночные животные в природных очагах болезней человека: От чумы до COVID-19. М.: Ленанд; 2021. 200 с.

11. Коренберг Э.И. Природная очаговость инфекций: современные проблемы и перспективы исследований. *Зоологический журнал*. 2010; 89(1):5–17.

12. Бренёва Н.В., Балахонов С.В. Вопросы эндемичности и энзоотичности лептоспирозов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2019; 5:118–25. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-5-118-125.

13. Никитина А.А., Корякина Л.П. Этиологическая структура лептоспир, циркулирующих в популяциях сельскохозяйственных животных в Якутии. *Вестник НГАУ*. 2022; 3:111–7. DOI: 10.31677/2072-6724-2022-64-3-111-117.

14. Горковенко Н.Е., Макаров Ю.А. Мониторинг циркуляции лептоспир в популяции крупного рогатого скота и дикой фауне Приамурья. *Научный журнал КубГАУ*. 2017; 125(01):464–73. DOI: 10.21515/1990-4665-125-031.

15. Колясникова Н.М., Карань Л.С., Федорова М.В., Сайфуллин М.А., Беляева Н.Н. Расшифровка завозных случаев ряда тропических инфекционных заболеваний (лихорадка денге, цуцугамуши, висцеральный лейшманиоз, лептоспироз) у туристов. *Инфекция и иммунитет*. Материалы международной конференции «Молекулярная эпидемиология актуальных инфекций». 2013; 3(2):140–141.

16. Киселева Е.Ю., Бренёва Н.В., Лемешевская М.В., Бурданова Т.М. Завозной случай лептоспироза с летальным исходом из Вьетнама в Иркутскую область. *Инфекционные болезни*. 2014; 12(3):95–9.

17. Никулина М.А., Гранитов В.М., Танашкин С.Ф., Волчкова Е.В., Немилостива Е.А. Проблемы диагностики завозного случая лептоспироза (анализ клинического наблюдения). *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2017; 22(1):36–41. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-1-36-41.

18. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976. 600 с.

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

References

1. Anan'in V.V. [Human and Animal Leptospirosis]. Moscow: "Medicine"; 1971. 352 p.

2. Anan'ina Yu.V. [Leptospirosis]. In: Briko N.I., Onishchenko G.G., Pokrovsky V.I. [A Guide to the Epidemiology of Infectious Diseases]. Moscow: Publishing House "Medical Information Agency" LLC; 2019. Vol. 2. P. 106–15.

3. Anan'ina Yu.V. [Leptospira – causative agents of human leptospirosis]. In: Labinskaya A.S., Kostyukova N.N., Ivanova S.M., editors. [A Guide to Medical Microbiology. Private Medical Microbiology and Etiological Diagnostics of Infections. Book II]. Moscow: "BINOM Publishing House"; 2022. P. 821–43.

4. Adler B., de la Peña Moctezuma A. Leptospira and leptospirosis. *Vet. Microbiol.* 2010; 140(3-4):287–96. DOI: 10.1016/j.vetmic.2009.03.012.

5. Trankvilevsky D.V. [On the rate of infection of small mammals with agents of zoonotic diseases]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2016; (10):53–6.

6. Ananyina Yu.V. [Leptospirosis of humans and animals: trends in the spread and problems of prevention]. *Epidemiologiya i Vakcinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccination Prevention]*. 2010; (2):13–6.

7. Kucheruk V.V. [Structure, typology and zoning of natural foci of human diseases]. In: Petrishcheva P.A., editor. [The Results of the Development of the Doctrine of the Natural Focality of Human Diseases and Future Tasks]. Moscow: "Medicine"; 1972. P. 180–212.

8. Soboleva G.L., Anan'ina Yu.V., Nepoklonova I.V. [Relevant issues of human and animal leptospirosis]. *Rossiyskiy Veterinarny Zhurnal [Russian Veterinary Journal]*. 2017; (8):14–8.

9. Gorodin V.N., Moysova D.L., Bakhtina V.A., Zotov S.V. [Trends of contemporary leptospirosis]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2018; 23(2):93–100. DOI: 10.18821/1560-9529-2018-23-2-93-100.

10. Dmitriev P.P. [Selected Chapters of Medical Zoology. Vertebrates in Natural Foci of Human Diseases: From Plague to COVID-19]. Moscow: "Lenand"; 2021. 200 p.

11. Korenberg E.I. [Natural focality of infections: modern problems and research prospects]. *Zoologicheskyy Zhurnal [Zoological Journal]*. 2010; 89(1):5–17.

12. Breneva N.V., Balakhonov S.V. [Issues of endemicity and enzooticity of leptospirosis]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2019; (5):118–25. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-5-118-125.

13. Nikitina A.A., Koryakina L.P. [Etiological structure of Leptospira circulating in populations of farm animals in Yakutia]. *Vestnik Novosibirskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta [Bulletin of the Novosibirsk State Agrarian University]*. 2022; (3):111–7. DOI: 10.31677/2072-6724-2022-64-3-111-117.

14. Gorkovenko N.E., Makarov Yu.A. [Monitoring of Leptospira circulation in the cattle population and wild fauna of the Amur region]. *Nauchny Zhurnal Kubanskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta [Scientific Journal of Kuban State Agrarian University]*. 2017; 125(01):464–73. DOI: 10.21515/1990-4665-125-031.

15. Kolyasnikova N.M., Karan' L.S., Fedorova M.V., Saifullin N.M., Belyaeva A.N. [Decoding of imported cases of a number of tropical infectious diseases (Dengue fever, Tsutsugamushi, visceral leishmaniasis, leptospirosis) in tourists]. *Infektsiya i Immunitet [Infection and Immunity]*. Proceedings of the international conference "Molecular Epidemiology of Tropical Infections". 2013; 3(2):140–141.

16. Kiseleva E.Yu., Breneva N.V., Lemeshevskaya M.V., Burdanova T.M. [An imported from Vietnam to the Irkutsk Region case of leptospirosis with fatal outcome]. *Infektsionnye Bolezni [Infectious Diseases]*. 2014; 12(3):95–9.

17. Nikulina M.A., Granitov V.M., Tanashkin S.F., Volchkova E.V., Nemilostiva E.A. [Problems of diagnosis of imported case of leptospirosis (analysis of clinical observation)]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2017; 22(1):36–42. DOI: 10.18821/1560-9529-2017-22-1-36-41.

18. Zaks L. [Statistical Estimation]. Moscow: "Statistika"; 1976. 600 p.

19. Savilov E.D., Astaf'ev V.A., Zhdanov S.N., Zarudnev E.A. [Epidemiological Analysis: Methods of Statistical Processing of the Material]. Novosibirsk: "Science Center"; 2011. 156 p.

Authors:

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

Kiseleva E.Yu., Korzun V.M., Breneva N.V., Verzhutskaya Yu.A., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and the 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 the Far East; 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Irkutsk State Medical University; 1, Krasnogo Vosstaniya St., Irkutsk, 664003, Russian Federation.

Skudareva O.N. Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being. Bld. 5 and 7, 18, Vadkovsky Lane, Moscow, 127994, Russian Federation.

Об авторах:

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

Киселева Е.Ю., Корзун В.М., Бренёва Н.В., Вержущая Ю.А., 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; Российская Федерация, 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, 1.

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-51-58

УДК 578(665.7)

Т.А.Л. Balde¹, Ю.В. Останкова², S. Boumbaly^{1,3}, Д.Э. Валутите², В.С. Давыденко², А.Н. Щемелев²,
Е.Н. Серикова², Е.Б. Зуева², Е.В. Ануфриева², Е.В. Астапчик², О.В. Арбузова², В.В. Скворода²,
Д.А. Васильева², Е.В. Эсауленко², А.В. Семенов⁴, Арег А. Тотолян²

Распространенность маркеров некоторых гемоконтактных вирусных инфекций у беременных женщин и их партнеров в Гвинейской Республике

¹Научно-исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика;

²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ³Международный исследовательский центр по тропическим инфекциям в Гвинее, Н'Зерекоре, Гвинейская Республика; ⁴ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Вирум», Екатеринбург, Российская Федерация

Цель – оценить распространенность маркеров вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусного гепатита В (ВГВ) и С (ВГС) среди беременных женщин и их партнеров мужчин в Гвинейской Республике. **Материалы и методы.** Использована плазма крови 140 беременных женщин, сообщивших о половом контакте своих партнеров с ВИЧ-инфицированными лицами (без указания пола), а также образцы крови (60), полученные от партнеров указанных женщин. Образцы исследовали на наличие серологических (HBsAg, HBeAg, антитела анти-HBs IgG, анти-HBcore IgG, анти-HBe IgG, анти-HCV IgG, Ag/Ab-HIV) и молекулярных (ДНК ВГВ, РНК ВГС и ВИЧ) маркеров. **Результаты и обсуждение.** Возраст обследованных беременных женщин варьировал от 13 до 55 лет и составил в среднем (26,29±9,67) года, мужчин – от 15 до 60 лет, в среднем – (29,05±11,99) года. Антитела к ВГС выявлены у 2,14 % женщин и 3,33 % мужчин, к ВИЧ – у 6,43 % женщин и 6,67 % мужчин. Серологические маркеры, связанные с ВГВ, определены у 80,71 % (HBsAg – 13,57 %) женщин и 81,67 % (15 %) мужчин. В группе женщин не выявили РНК ВГС, РНК ВИЧ обнаружена в 1 случае (1,67 %), ДНК ВГВ определена в 26 случаях (18,57 %), в том числе 5 % HBsAg-негативного гепатита В. В группе мужчин РНК ВГС и ВИЧ выявлены в 3,33 и 6,67 % случаев соответственно, а ДНК ВГВ определена у 16,67 % лиц, в том числе у одного человека определен скрытый гепатит В. Показана достоверно более высокая встречаемость ВИЧ у мужчин по сравнению с женщинами ($\chi^2=3,907$ при $p<0,05$). Относительный риск инфицирования ВИЧ у мужчин выше, чем у женщин (RR=9,333; $p=0,0291$; 95 % ДИ: 1,065–81,815 %). В четырех из пяти выявленных случаев ВИЧ-инфекции определена коинфекция с ВГВ и/или ВГС. Необходимо внедрение скрининга на ВИЧ, ВГВ, включая скрытый гепатит В, при обследовании беременных женщин и их партнеров с последующим консультированием пар и вакцинацией против вируса гепатита В.

Ключевые слова: ВГВ, ВГС, ВИЧ, серологические маркеры, молекулярно-генетические маркеры, лабораторная диагностика, беременные женщины, партнеры беременных женщин, Гвинейская Республика.

Корреспондирующий автор: Останкова Юлия Владимировна, e-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Для цитирования: Balde T.A.L., Останкова Ю.В., Boumbaly S., Валутите Д.Э., Давыденко В.С., Щемелев А.Н., Серикова Е.Н., Зуева Е.Б., Ануфриева Е.В., Астапчик Е.В., Арбузова О.В., Скворода В.В., Васильева Д.А., Эсауленко Е.В., Семенов А.В., Тотолян Арег А. Распространенность маркеров некоторых гемоконтактных вирусных инфекций у беременных женщин и их партнеров в Гвинейской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:51–58. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-51-58

Поступила 13.03.2023. Принята к публ. 05.06.2023.

Т.А.Л. Balde¹, Yu.V. Ostankova², S. Boumbaly^{1,3}, D.E. Valutite², V.S. Davydenko², A.N. Shchemelev²,
E.N. Serikova², E.B. Zueva², E.V. Anufrieva², E.V. Astapchik², O.V. Arbuzova², V.V. Skvoroda²,
D.A. Vasil'eva², E.V. Esaulenko², A.V. Semenov⁴, Areg A. Totolian²

Prevalence of Markers of Certain Blood-Borne Viral Infections in Pregnant Women and Their Partners in the Republic of Guinea

¹Research Institute of Applied Biology, Kindia, Republic of Guinea;

²Saint Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Saint Petersburg, Russian Federation;

³Centre International de Recherche sur les Infections Tropicales en Guinée, Republic of Guinea / International Research Center on Tropical Infections in the Republic of Guinea, N'Zerekore, Republic of Guinea;

⁴Federal Research Institute of Viral Infections "Virom", Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to estimate the prevalence of HIV, HBV and HCV markers among pregnant women and their male partners in the Republic of Guinea. **Materials and methods.** The material of the study was blood plasma samples from 140 pregnant women living in Kindia prefecture and N'Zerekore prefecture, as well as 60 male partners who reported sexual contact with HIV-infected persons. The samples were examined for the presence of serological (HBsAg, HBeAg, antibodies anti-HBs IgG, anti-HBcore IgG, anti-HBe IgG, anti-HCV IgG, Ag/Ab-HIV) and molecular (HBV DNA, HCV RNA, HIV RNA) markers. **Results and discussion.** The age of the examined pregnant women ranged from 13 to 55 years and was on average (26.29±9.67) years. The age of men varied from 15 to 60 years,

on average – (29.05±11.99) years. When assessing the prevalence of serological markers, antibodies to HCV were detected in 2.14 % cases in women and in 3.33 % cases in men. Antibodies to HIV were found in 6.43 % and 6.67 % women and men, respectively. Serological markers associated with HBV were detected in 80.71 % (HBsAg – 13.57 %) of women and 81.67 % (15 %) of men. In the pregnant women, HCV RNA was not detected, HIV RNA was revealed in 1 case, HBV DNA was identified in 26 cases (18.57 %), including 5 % HBsAg-negative hepatitis B cases. In the men group, HCV RNA and HIV RNA were detected in 3.33 % and 6.67 % cases, respectively. HBV DNA was determined in 16.67 % of men, including latent hepatitis B in one person. A significantly higher incidence of HIV in men compared to women is shown ($\chi^2=3.907$ at $p<0.05$). The relative risk of HIV infection in men is nine times higher than in women: $RR=9.333$; $p=0.0291$; 95 % CI: 1.065–81.815 %. Four out of five identified HIV infection cases were co-infected with HBV and/or HCV. There is an obvious need to introduce screening for HIV, HCV, HBV, including latent hepatitis B, into routine laboratory diagnostics during examination of pregnant women and their partners, followed by couples counseling and vaccination against hepatitis B virus.

Key words: HBV, HCV, HIV, serological markers, molecular-genetic markers, laboratory diagnostics, pregnant women, partners of pregnant women, Republic of Guinea.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Bioethics: The consent of the National Ethics Committee of the Ministry of Health of the Republic of Guinea (protocol dated August 31, 2015 No. 129/CNERS/16) and the local ethics committee of the Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology was obtained for the study. All the examined persons gave written informed consent to participate in the study.

Corresponding author: Yulia V. Ostankova, e-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Citation: Balde T.A.L., Ostankova Yu.V., Boumbaly S., Valutite D.E., Davydenko V.S., Shchemelev A.N., Serikova E.N., Zueva E.B., Anufrieva E.V., Astapchik E.V., Arbuzova O.V., Skvoroda V.V., Vasil'eva D.A., Esaulenko E.V., Semenov A.V., Totolian Areg A. Prevalence of Markers of Certain Blood-Borne Viral Infections in Pregnant Women and Their Partners in the Republic of Guinea. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:51–58. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-51-58

Received 13.03.2023. Accepted 05.06.2023.

Balde T.A.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3808-4380>
Ostankova Yu.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2270-4380>
Boumbaly S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4506-6033>
Valutite D.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0931-102X>
Davydenko V.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0078-9681>
Shchemelev A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3139-3674>
Serikova E.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0547-3945>
Zueva E.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0579-110X>

Anufrieva E.V., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-1882-529X>
Astapchik E.V., ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8281-4241>
Arbuzova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-8462-371X>
Skvoroda V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3450-8446>
Vasil'eva D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6292-6165>
Esaulenko E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3669-1993>
Semenov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>
Totolian Areg A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4571-8799>

Одной из глобальных проблем здравоохранения во всем мире являются гемоконтактные инфекции, в первую очередь вызванные вирусами гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС), а также вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) [1–3]. Как известно, ВИЧ, ВГС и ВГВ имеют общие эпидемиологические характеристики, в том числе и пути передачи за счет обмена биологическими жидкостями при переливании крови, употреблении инъекционных наркотических препаратов, незащищенном половом контакте, использовании острых предметов гигиены без стерилизации [4]. Этот факт способствует тому, что в ряде случаев могут возникать микст-инфекции [5], причем ВГВ и ВГС являются одной из основных причин гибели пациентов с ВИЧ. Наиболее пострадавшими территориями с высокими показателями ВИЧ, а также хронических инфекций ВГВ и ВГС являются страны Африки, особенно к югу от Сахары, Центральной и Восточной Азии [6–8].

К частым причинам инфицирования детей ВИЧ, ВГС и ВГВ в странах Африки относят вертикальную передачу вирусов. Поскольку в указанных странах около 76 % беременных женщин хотя бы один раз посещают больницы с так называемым дородовым визитом, эти учреждения становятся местом, где женщины могут получить доступ к тестированию на ВИЧ, ВГС, ВГВ и, в случае выявления инфекции, получить помощь по профилактике передачи патогена от матери ребенку [9]. Несмотря на общемировые

успехи в профилактике вертикальной передачи гемоконтактных инфекций, в странах Африки к югу от Сахары беременные женщины и роженицы сталкиваются с высоким риском заражения ВИЧ, ВГВ, ВГС от инфицированных партнеров, с последующей передачей патогена от матери ребенку [10]. Вовлечение мужчин – партнеров беременных и рожениц в тестирование на ВИЧ и парентеральные вирусные гепатиты может быть значимым шагом к улучшению профилактики передачи вирусов детям. Однако в странах Африки менее 30 % мужчин, имеющих беременных или недавно родивших жен, сообщают о тестировании на ВИЧ [11], не говоря уже о тестировании на ВГВ и ВГС. Регулярно собираемые данные о скрининге на ВИЧ в этом регионе постоянно демонстрируют более высокие показатели тестирования для женщин, чем для мужчин [12]. Проблема заключается в том, как сохранить ВИЧ-отрицательный статус беременных женщин, если лишь немногие мужчины соглашаются на тестирование.

Гвинейская Республика – страна, расположенная на Атлантическом побережье Западной Африки, с населением более 13,6 млн человек [13]. В настоящее время государство остается одной из наименее развитых стран мира. Ликвидация эпидемии болезни, вызванной вирусом Эбола (БВЭ), бушевавшей в Гвинее в 2014–2016 гг., потребовала дополнительных материальных вложений со стороны органов здравоохранения страны [14], а пандемия COVID-19

в 2020 г. стала еще одним испытанием для медиков Гвинейской Республики. Активно разворачивались стационары для лечения больных, оснащались лаборатории, ориентированные на экспресс-методы выявления возбудителей опасных инфекционных болезней (необходимые для выдачи быстрых результатов и проведения противоэпидемических мероприятий) [15, 16]. Но, несмотря на помощь, оказанную мировым сообществом, были отмечены неудачи при оценке вклада сектора здравоохранения и социальной работы в ВВП страны [17]. Так, например, несмотря на значимость профилактики вертикального инфицирования гемоконтактными патогенами, в настоящее время такие услуги минимизированы [18]. Более того, медицинские учреждения, предоставляющие услуги дородовой помощи, сообщают об уменьшении среднего количества посещений беременными женщинами [19]. В связи с вышесказанным **цель** нашей работы – проанализировать распространенность маркеров ВИЧ, ВГВ и ВГС среди беременных женщин и их партнеров в Гвинейской Республике.

Материалы и методы

В работе использована плазма крови 140 беременных женщин, проживающих в префектурах Киндия и Н'Зерекоре и сообщивших о половом контакте их партнеров с ВИЧ-инфицированными лицами (без указания пола). Кроме того, в работу включены образцы крови, полученные от партнеров указанных женщин, однако из 140 мужчин пройти обследование согласились только 60, что является характерной ситуацией для региона.

Лабораторные исследования проводили на базе Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней, расположенного на территории Института прикладной биологии Гвинеи (IRBAG), в префектуре Киндия. Методом ИФА определяли серологические маркеры ВИЧ и вирусных гепатитов (HBsAg, антител анти-HBs IgG, анти-HBcore IgG, анти-HCV IgG, Ag/Ab-HIV) с использованием ряда диагностических наборов (НПО «Диагностические Системы» и АО «Вектор-Бест», Россия), как было описано ранее [20]. Определение ДНК ВГВ, а также РНК ВГС и ВИЧ проводили методом ПЦР с использованием диагностического набора «АмплиСенс® HCV/HBV/HIV-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия), предварительно экстрагируя нуклеиновые кислоты с помощью коммерческого набора «АмплиПрайм Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) согласно инструкции производителя. Выявление ДНК ВГВ при низкой вирусной нагрузке осуществляли с использованием разработанной в ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» методики, позволяющей выявлять указанный маркер в биологическом материале при HBsAg-негативном хроническом вирусном гепатите (ХГВ) [21].

Статистическая обработка данных производилась с помощью пакета программ MS Excel, Prizm 5.0 (GraphPad Software Inc., <https://www.graphpad.com/support/prism-5-updates>). При оценке статистической погрешности использовали точный интервал Клоппера – Пирсона. Результаты представлены с указанием 95 % доверительного интервала (95 % ДИ). Для оценки достоверности различий численных данных, полученных при парных сравнениях, использовали, в зависимости от характеристик выборок, точный критерий Фишера или критерий Хи-квадрат с поправкой Йетса. В качестве порога достоверности отличий определено значение вероятности $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Возраст обследованных беременных женщин варьировал от 13 до 55 лет и составил в среднем $(26,29 \pm 9,67)$ года, а мужчин – от 15 до 60 лет, в среднем $(29,05 \pm 11,99)$ года. При этом средний возраст женщин и мужчин из региона Киндия составил 25,44 и 30,5 года соответственно, а из Н'Зерекоре – 26,55 и 28,68 года соответственно.

При оценке распространенности серологических маркеров антитела к ВГС выявлены в трех случаях у женщин, что составило 2,14 % (95 % ДИ: 0,44–6,13 %), и в двух случаях у мужчин – 3,33 % (95 % ДИ: 0,41–11,53 %). Антитела к ВИЧ показаны у 6,43 % (95 % ДИ: 2,98–11,85 %) женщин и 6,67 % (95 % ДИ: 1,85–16,2 %) мужчин. Серологические маркеры, связанные с ВГВ, определены у 80,71 % (95 % ДИ: 73,2–86,89 %) обследуемых женского пола и 81,67 % (95 % ДИ: 69,56–90,48 %) – мужского. Результат анализа распространенности исследованных маркеров гепатита В в обследованной группе представлен в таблице. Таким образом, не выявлено разницы в распространенности серологических маркеров ВИЧ, ВГС и ВГВ в зависимости от гендерной принадлежности.

При оценке распространенности серологических маркеров в зависимости от возраста получены данные, что среди девочек-подростков антител к ВИЧ и ВГС не выявлено, однако у трех обнаружены HBsAg, что составило 18,75 % (95 % ДИ: 4,05–45,65 %) от всех девочек 13–17 лет. Среди мальчиков в одном случае выявлены антитела к ВИЧ, в то время как HBsAg и антитела к ВГС не обнаружены.

При молекулярно-биологическом анализе в группе беременных женщин не выявили РНК ВГС, РНК ВИЧ обнаружена в 1 случае, ДНК ВГВ определена в 26 случаях, что составило 18,57 % (95 % ДИ: 12,50–26,01 %), в том числе 5 % (95 % ДИ: 2,03–10,03 %) случаев HBsAg-негативного ВГВ. При этом у женщины с ВИЧ выявлена ВГВ-коинфекция с неопределяемым HBsAg и крайне низкой вирусной нагрузкой ВГВ. В группе мужчин РНК ВГС и РНК ВИЧ выявлены в 3,33 % (95 % ДИ: 0,41–11,53 %) и 6,67 % (95 % ДИ: 1,85–16,20 %) случаев соответ-

Распространенность серологических маркеров ГВ (HBsAg, анти-HBcore IgG, анти-HBs IgG, HBeAg, анти-HBe IgG) в обследованной группе
HBV serological markers (HBsAg, anti-HBcore IgG, anti-HBs IgG, HBeAg, anti-HBe IgG) prevalence in the examined group

Выявленные серологические маркеры Revealed serological markers	Беременные женщины (n=140), доля от общего числа обследованных, 95 % ДИ Pregnant women (n=140), proportion out of the total surveyed number, 95 % CI	Мужчины – партнеры беременных женщин (n=60), доля от общего числа обследованных, 95 % ДИ Male partners of pregnant women (n=60), proportion out of the total surveyed number, 95 % CI
HBsAg+	19 (13,57 %, ДИ/CI: 8,37–20,38 %)	9 (15 %, ДИ/CI: 7,1–26,57 %)
HBs IgG+	46 (32,86 %, ДИ/CI: 25,16–41,3 %)	28 (46,67 %, ДИ/CI: 33,67–60 %)
HBcore IgG+	107 (76,43 %, ДИ/CI: 68,52–83,18 %)	44 (73,33 %, ДИ/CI: 60,34–83,93 %)
HBeAg+,	7 (5 %, ДИ/CI: 2,03–10,03 %)	4 (6,67 %, ДИ/CI: 1,85–16,2 %)
HBe IgG+	43 (30,71 %, ДИ/CI: 23,2–39,06 %)	19 (31,67 %, ДИ/CI: 20,26–44,96 %)
Серонегативные Seronegative	27 (19,29 %, ДИ/CI: 13,11–26,8 %)	11 (18,33 %, ДИ/CI: 9,52–30,44 %)

ственно. ДНК ВГВ определена у 10 мужчин, что составило 16,67% (95% ДИ: 8,29–28,52 %) случаев, в том числе у одного мужчины определен HBsAg-негативный гепатит В. Отметим, что у одного из четырех мужчин с ВИЧ выявлена коинфекция с ВГВ, а у двух – одновременно ВГВ и ВГС. Таким образом, при сравнительном анализе показано, что, несмотря на тенденцию к большей встречаемости ВГС у мужчин по сравнению с женщинами, достоверных отличий не выявлено, $p > 0,05$. Не выявлено отличий и по встречаемости ДНК ВГВ, хотя показано незначительное преобладание указанного маркера у женщин по сравнению с мужчинами. Однако в обследуемой группе показана достоверно более высокая встречаемость ВИЧ у мужчин по сравнению с женщинами ($\chi^2=3,907$ при $p < 0,05$). Относительный риск инфицирования ВИЧ у мужчин в девять раз выше, чем у женщин (RR=9,333; $p=0,0291$; 95 % ДИ: 1,065–81,815 %).

При анализе нуклеотидных последовательностей вирусов показано, что все изоляты ВГС относятся к генотипу 2, ВГВ – к генотипу Е, а выявленные ВИЧ представлены субгенотипами А1 (один случай) и циркулирующей рекомбинантной формой CRF02_AG (четыре случая).

В то время как Гвинея Республика остается регионом с высокой распространенностью многих инфекционных вирусных болезней, в том числе вызываемых ВИЧ и гепатотропными вирусами, медицинская помощь в стране не является обязательной, а мужчины по ряду религиозных и социально-культурных особенностей могут запрещать женщинам обращаться к врачам, в том числе и для дородовой помощи, и для диагностики инфекций [22–24]. В этом случае остается путь опосредованного выявления ВИЧ или вирусных гепатитов у беременных женщин – за счет тестирования их мужчин-партнеров. Кроме того, было описано, что беременность являлась важнейшим мотиватором для прохождения мужчинами программы самотестирования на ВИЧ [25].

В настоящей работе отмечено преобладание ВИЧ-инфекции среди мужчин (6,67 %) обследованной группы по сравнению с женщинами (0,71 %),

что в целом составило 2,5 %. Полученные результаты соответствуют данным о распространенности ВИЧ в Гвинеяской Республике [26, 27]. Выявленные субтипы ВИЧ также согласуются с данными о генетических вариантах вируса, циркулирующих в стране [28].

Показано, что частота встречаемости ВГС и ВГВ у беременных женщин и их партнеров мужчин в целом схожи. При этом обнаружение РНК ВГС только в одном случае у женщин и в двух случаях у мужчин демонстрирует крайне низкую распространенность вируса по сравнению с предыдущими данными, полученными при оценке количества вирусных биомаркеров в популяции (в среднем 5,48 %). Однако в недавней нашей работе мы также определяли низкую распространенность РНК ВГС – 0,32 % – у беременных женщин в Гвинеяской Республике [20], что в целом характерно для данного региона.

Наибольший интерес представляет высокая распространенность в обследованных группах маркеров ХГВ. Основным лабораторным маркером для индикации возбудителя вирусного гепатита В является определение поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), встречаемость которого в популяции варьирует в зависимости от географического региона. Его выявление в крови считается признаком вирусной активности. В периферической крови HBsAg можно обнаружить за 2–4 недели до появления клинических признаков, при этом его концентрация при остром гепатите В (ОГВ) достигает максимальных значений, а с началом выздоровления или элиминацией HBsAg (в среднем в течение 4–6 мес.) снижается до уровней, неопределяемых коммерческими тест-системами. Однако следует иметь в виду, что отсутствие определяемых уровней HBsAg в периферической крови не означает полного выздоровления, так как может также свидетельствовать о развитии скрытой инфекции гепатита В (СкГВ) [20]. СкГВ характеризуется неопределяемым уровнем HBsAg в плазме крови при наличии ДНК ВГВ в ткани печени и крайне низкой вирусной нагрузкой в крови (возможно, неопределяемой) вне зависимости от наличия или отсутствия других серологических маркеров [21]. В этом свете проблема СкГВ кажется

особенно значимой, поскольку ДНК ВГВ обнаруживается более чем у 75 % HBsAg-негативных пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой (ГЦК). Что делает его особенно значимым, так это тот факт, что большинство пациентов с ГЦК в странах Африки умирают в течение нескольких недель после постановки диагноза, т.е. смертность сопоставима с заболеваемостью. Это связано с ранним заражением ВГВ, поздним обращением к врачу и выявлением вируса и неправильным лечением.

Среди беременных женщин и их партнеров маркеры ГВ выявлены в 80,71 и 81,67 % случаев соответственно. В то же время у большинства из них (более 80 %) обнаружены антитела анти-HBs IgG, анти-HBcore IgG или их комбинация. Антитела к HBsAg и их количественное определение в крови используют как маркер перенесенной инфекции или как свидетельство вакцинации против вирусного гепатита В. Антитела к HBcAg являются косвенным маркером контакта больного с ВГВ, когда другие маркеры отрицательны. Обследованные нами лица сообщили, что они не были вакцинированы против ВГВ. Таким образом, высокая встречаемость этих серологических маркеров в группе указывает на то, что большинство обследуемых контактировали с вирусом, что подтверждает данные о распространенности возбудителя в Африканском регионе. В то же время представленность HBsAg в этом исследовании (13,57 % у женщин, 15 % у мужчин) соответствовала данным других исследователей: в конце XX в. уровень встречаемости HBsAg в разных регионах Гвинеи в среднем составлял 16,7% и в настоящее время остается стабильно высоким [29]. Ранее было показано, что распространенность HBsAg в африканских странах выше у мужчин, чем у женщин, особенно в сельской местности. Это связывали с различиями в племенном и сексуальном поведении между мужчинами и женщинами. Мы не обнаружили различий во встречаемости маркеров ГВ в зависимости от пола. По всей видимости, социальные характеристики обследуемой группы не играют достаточно существенной роли для снижения или повышения вирусной распространенности у того или иного пола. Заболеваемость СкГВ в настоящей работе оказалась ниже (5 %), чем у беременных женщин в Конакри, где составила 9,84 % [20]. Относительно низкая частота СкГВ и выявленных нами маркеров ВГВ в обследуемой группе может быть обусловлена несколькими причинами. Во-первых, может быть связана с небольшим размером исследуемой группы. Во-вторых, менее половины мужчин – партнеров беременных женщин согласились участвовать в обследовании: можно предположить, что некоторые из отказавшихся мужчин инфицированы ВИЧ, ВГВ или ВГС, знали о своем инфекционном статусе и поэтому отклонили наше предложение. В-третьих, на результаты могла повлиять недостаточная чувствительность используемых нами методов, которая составляла примерно 5 МЕ/мл. Таким образом, об-

разцы с более низкой вирусной нагрузкой были исключены из нашего поля зрения.

Отдельный интерес представляют случаи коинфекции. Как уже отмечено выше, ВГВ и ВГС являются одной из основных причин гибели пациентов с ВИЧ. Одновременная циркуляция в организме больного указанных патогенов теоретически может влиять на патофизиологические механизмы развития инфекционной болезни и приводить к различным клиническим проявлениям [30]. Коинфекция ВГВ и ВГС с ВИЧ ассоциирована с повышенным риском поражения печени и гепатотоксичности, связанной с антиретровирусной терапией (АРТ) [31]. При наличии передовых антиретровирусных препаратов (АРП) и препаратов прямого противовирусного действия (ПППД), эффективных инструментов для надлежащей профилактики, своевременной диагностики и терапии сопутствующих заболеваний, а также ухода за пациентами возможно предотвращение сотен тысяч смертей. ВИЧ-инфицированные люди могут прожить долгую и здоровую жизнь. Однако для достижения этих целей необходим постоянный мониторинг, позволяющий оценивать распространенность патогенов и развитие эпидемической ситуации с учетом молекулярно-генетических особенностей вирусов в регионе. Выявленные в настоящей работе случаи коинфекции ВИЧ+ВГВ, ВИЧ+ВГС, ВИЧ+ВГС+ВГВ представлены у мужчин, однако, учитывая, что эти мужчины являются партнерами беременных женщин, высок риск развития коинфекции как у самих женщин, так и у детей.

Полученные результаты подтверждают высокую распространенность ВГВ в Гвинейской Республике при сравнительно низкой встречаемости ВИЧ и ВГС. Выявленные уровни представленности вирусов у беременных женщин в целом сходны с показанными нами ранее, однако меньшая встречаемость HBsAg-негативного гепатита В в обследованной группе по сравнению с женщинами из Конакри может свидетельствовать о некоторых региональных отличиях в циркуляции вируса.

Анализ встречаемости маркеров гемоконтактных вирусных инфекций у беременных женщин и их партнеров необходим как для профилактики передачи патогенов неинфицированным партнерам и детям, так и для определения путей передачи вирусов с целью контроля и предотвращения их распространения. Определение моно- и коинфекции вирусов у мужчин – партнеров беременных женщин при дорожном обследовании позволяет обратить внимание на такие пары и дает возможность лечащим врачам вмешаться для предотвращения вертикальной передачи патогена.

Очевидна необходимость внедрения скрининга на ВИЧ, ВГС, ВГВ, включая скрытый гепатит В, в рутинную лабораторную диагностику при обследовании беременных женщин и их партнеров с последующим консультированием пар и вакцинацией против вирусного гепатита В.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Биоэтика. На проведение исследования получено согласие Национального этического комитета Министерства здравоохранения Гвинейской Республики (протокол от 31 августа 2015 г. № 129/CNERS/16) и локального этического комитета ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Все обследованные дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Список литературы

1. World Health Organization. Hepatitis B. Key facts. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b> (дата обращения 08.09.2022).
2. World Health Organization. Hepatitis C. Key facts. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c> (дата обращения 08.09.2022).
3. World Health Organization. HIV. Key facts. [Электронный ресурс]. URL: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/hq-hiv-hepatitis-and-stis-library/key-facts-hiv-2020.pdf?sfvrsn=582c3f6e_3 (дата обращения 08.09.2022).
4. Raizada A., Dwivedi S., Bhattacharya S. The hepatitis B, hepatitis C and HIV co-infection at an antiretroviral centre in Delhi. *Trop. Doct.* 2011; 41(3):154–6. DOI: 10.1258/td.2011.100440.
5. Degenhardt L., Charlson F., Stanaway J., Larney S., Alexander L.T., Hickman M., Cowie B., Hall W.D., Strang J., Whiteford H., Vos T. Estimating the burden of disease attributable to injecting drug use as a risk factor for HIV, hepatitis C, and hepatitis B: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Infect. Dis.* 2016; 16(12):1385–98. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30325-5.
6. Roser M., Ritchie H. HIV/AIDS. [Электронный ресурс]. URL: <https://ourworldindata.org/hiv-aids> (дата обращения 08.09.2022).
7. GBD 2019 Hepatitis B Collaborators. Global, regional, and national burden of hepatitis B, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2022; 7(9):796–829. DOI: 10.1016/S2468-1253(22)00124-8.
8. The Polaris Observatory HCV Collaborators. Global change in hepatitis C virus prevalence and cascade of care between 2015 and 2020: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2022; 7(5):396–415. DOI: 10.1016/S2468-1253(21)00472-6.
9. Nkuoh G.N., Meyer D.J., Nshom E.M. Women's attitudes toward their partners' involvement in antenatal care and prevention of mother-to-child transmission of HIV in Cameroon, Africa. *J. Midwifery Womens Health.* 2013; 58(1):83–91. DOI: 10.1111/j.1542-2011.2012.00208.x.
10. Hershow R.B., Zimba C.C., Mweemba O., Chibwe K.F., Phanga T., Dunda W., Matenga T., Mutale W., Chi B.H., Rosenberg N.E., Maman S. Perspectives on HIV partner notification, partner HIV self-testing and partner home-based HIV testing by pregnant and postpartum women in antenatal settings: a qualitative analysis in Malawi and Zambia. *J. Int. AIDS Soc.* 2019; 22 Suppl 3(Suppl 3):e25293. DOI: 10.1002/jia2.25293.
11. Amano A., Musa A. Male involvement in PMTCT and associated factors among men whom their wives had ANC visit 12 months prior to the study in Gondar town, North west Ethiopia, December, 2014. *Pan Afr. Med. J.* 2016; 24:239. DOI: 10.11604/pamj.2016.24.239.8460.
12. Drammeh B., Medley A., Dale H., De A.K., Diekmann S., Yee R., Aholou T., Lasry A., Auld A., Baack B., Duffus W., Shahul E., Wong V., Grillo M., Al-Samarrai T., Ally S., Nyangulu M.; MCHD2; Nyirenda R., Olivier J., Chidarikire T., Khanyile N., Kayange A.A., Rwabiyago O.E., Kategile U., Bisimba J., Weber R.A., Ncube G., Maguwa O., Pietersen I., Mali D., Dzinotyiweyi E., Nelson L., Bosco M.J., Dalsone K., Apolot M., Anangwe S., Soo L.K., Mugambi M., Mbayiha A., Mugwaneza P., Malamba S.S., Phiri A.; MCD28; Chisenga T., Boyd M., Temesgan C., Shimelis M., Weldegebreel T., Getachew M., Balachandra S., Eboi E., Shasha W., Doumatey N., Adjoua D., Meribe C., Gwamna J., Gado P., John-Dada I., Mukinda E., Lukusa L.F.K., Kalenga L., Bunga S., Achyut V., Mondji J., Loeto P., Mogomotsi G., Ledikwe J., Ramphalla P., Tlhomola M., Mirembe J.K., Nkwah T., Eno L., Bonono L., Honwana N., Chicucue N., Simbine A., Malimane I., Dube L., Mirira M., Mndzebele P., Frawley A., Cardo Y.M.R., Behel S. Sex differences in HIV testing – 20 PEPFAR-supported sub-Saharan African countries, 2019. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2020; 69(48):1801–6. DOI: 10.15585/mmwr.mm6948a1.
13. Guinea Population. [Электронный ресурс]. URL: <https://countrymeters.info/en/Guinea> (дата обращения 18.08.2022).
14. Chersich M.F., Gray G., Fairlie L., Eichbaum Q., Mayhew S., Allwood B., English R., Scorgie F., Luchters S., Simpson G., Haghighi M.M., Pham M.D., Rees H. COVID-19 in Africa: care and protection for frontline healthcare workers. *Global. Health.* 2020; 16(1):46. DOI: 10.1186/s12992-020-00574-3.
15. Найденова Е.В., Лопатин А.А., Сафронов В.А., Коломоец Е.В., Левковский А.Е., Силла А.Л., Старшинов В.А., Щербакова С.А., Малеев В.В. Обеспечение биологической безопасности при проведении противоэпидемических мероприятий в период ликвидации эпидемии лихорадки Эбола в Гвинейской Республике. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение.* 2018; 7(3):102–8. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13015.
16. Коломоец Е.В., Ицков Я.Ю., Найденова Е.В., Kononov V., Keita S., Lamah R. Создание и обеспечение функционирования госпитальной сети для лечения больных COVID-19 в Гвинейской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 3:66–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-66-71.
17. Annuaire Statistique 2021. [Электронный ресурс]. URL: http://www.stat-guinee.org/images/Documents/Publications/INS/annees/annuaire/Annuaire_Statistique_2021_vf.pdf (дата обращения 20.08.2022).
18. Leno N.N., Delamou A., Koita Y., Diallo T.S., Kaba A., Delyaux T., Van Damme W., Laga M. Ebola virus disease outbreak in Guinea: what effects on prevention of mother-to-child transmission of HIV services? *Reprod. Health.* 2018; 15(1):60. DOI: 10.1186/s12978-018-0502-y.
19. Camara B.S., Delamou A., Diro E., Béavogui A.H., El Ayadi A.M., Sidibé S., Grovogui F.M., Takarinda K.C., Bouedouno P., Sandouno S.D., Okumura J., Baldé M.D., Van Griensven J., Zachariah R. Effect of the 2014/2015 Ebola outbreak on reproductive health services in a rural district of Guinea: an ecological study. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2017; 111(1):22–9. DOI: 10.1093/trstmh/trx009.
20. Balde T.A.L., Boumbaly S., Серикова Е.Н., Валутите Д.Э., Щемелев А.Н., Останкова Ю.В., Зуева Е.Б., Семенов А.В. Сравнительный анализ вертикального риска передачи некоторых гемоконтактных инфекций в Гвинейской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 1:87–94. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-87-94.
21. Останкова Ю.В., Серикова Е.Н., Семенов А.В., Тотолян Арег А. Метод выявления в биологическом материале ДНК вируса гепатита В при низкой вирусной нагрузке на основе гнездовой ПЦР с детекцией по трем вирусным мишеням в режиме реального времени. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2022; 67(9):530–7. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-9-530-537.
22. Mbange A.E., Kaba D., Diouara A.A.M., Diop-Ndiaye H., Ngom-Nguyene N.F., Dieng A., Lo S., Toure K.N., Fall M., Mbacham W.F., Diallo M.S., Cisse M., Mboup S., Kane C.T. Surveillance of transmitted HIV-1 antiretroviral drug resistance in the context of decentralized HIV care in Senegal and the Ebola outbreak in Guinea. *BMC Res. Notes.* 2018; 11(1):723. DOI: 10.1186/s13104-018-3804-9.
23. Ingasia L.A.O., Kostaki E.G., Paraskevis D., Kramvis A. Global and regional dispersal patterns of hepatitis B virus genotype E from and in Africa: A full-genome molecular analysis. *PLoS One.* 2020; 15(10):e0240375. DOI: 10.1371/journal.pone.0240375.
24. Clifford G.M., Waterboer T., Dondog B., Qiao Y.L., Kordzaia D., Hammouda D., Keita N., Khodakarami N., Raza S.A., Sherpa A.T., Zatonski W., Pawlita M., Plummer M., Franceschi S. Hepatitis C virus seroprevalence in the general female population of 9 countries in Europe, Asia and Africa. *Infect. Agent. Cancer.* 2017; 12:9. DOI: 10.1186/s13027-017-0121-1.
25. Naughton B., Bulterys M.A., Mugisha J., Mujugira A., Boyer J.D., Celum C., Weiner B., Sharma M. 'If there is joy... I think it can work well': a qualitative study investigating relationship factors impacting HIV self-testing acceptability among pregnant women and male partners in Uganda. *BMJ Open.* 2023; 13(2):e067172. DOI: 10.1136/bmjopen-2022-067172.
26. UNAIDS data 2020. UNAIDS. Jul 2020. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2020/unaids-data> (дата обращения 18.08.2022).
27. Bekolo C.E., Soumah M.M., Tiemore O.W., Diallo A., Yuma J.D., Di Stefano L., Metcalf C., Cisse M. Assessing the outcomes of HIV-infected persons receiving treatment for Kaposi sarcoma in Conakry-Guinea. *BMC Cancer.* 2017; 17(1):806. DOI: 10.1186/s12885-017-3771-x.
28. Shchemelev A.N., Boumbaly S., Ostankova Y.V., Zueva E.B., Semenov A.V., Totolian A.A. Prevalence of drug resistant HIV-1 forms in patients without any history of antiretroviral therapy in the Republic of Guinea. *J. Med. Virol.* 2022; 95(1):e28184. DOI: 10.1002/jmv.28184.
29. Бумбали С., Серикова Е.Н., Семенов А.В., Останкова Ю.В., Валутите Д.Э., Щемелев А.Н., Зуева Е.Б., Балде Т.А.Л., Баимова Р.Р., Тотолян А.А. Значимость лабораторной диа-

гностики парентеральных вирусных гепатитов в Гвинейской Республике. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(4):440–9. DOI: 10.36233/0372-9311-116.

30. Sanjuán R. The social life of viruses. *Annu. Rev. Virol.* 2021; 8(1):183–99. DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-071712.

31. Huy B.V., Vernavong K., Kinh N.V. HBV and HCV coinfection among HIV/AIDS patients in the National hospital of tropical diseases, Vietnam. *AIDS Res. Treat.* 2014; 2014:581021. DOI: 10.1155/2014/581021.

References

1. World Health Organization. Hepatitis B. Key facts. (Cited 08 Sept 2022). [Internet]. Available from: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>.

2. World Health Organization. Hepatitis C. Key facts. (Cited 08 Sept 2022). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-c>.

3. World Health Organization. HIV. Key facts. (Cited 08 Sept 2022). [Internet]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/hq-hiv-hepatitis-and-stis-library/key-facts-hiv-2020.pdf?sfvrsn=582c3f6e_3.

4. Raizada A., Dwivedi S., Bhattacharya S. The hepatitis B, hepatitis C and HIV co-infection at an antiretroviral centre in Delhi. *Trop. Dis.* 2011; 41(3):154–6. DOI: 10.1258/td.2011.100440.

5. Degenhardt L., Charlson F., Stanaway J., Larney S., Alexander L.T., Hickman M., Cowie B., Hall W.D., Strang J., Whiteford H., Vos T. Estimating the burden of disease attributable to injecting drug use as a risk factor for HIV, hepatitis C, and hepatitis B: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Infect. Dis.* 2016; 16(12):1385–98. DOI: 10.1016/S1473-3099(16)30325-5.

6. Roser M., Ritchie H. HIV/AIDS. Published online at OurWorldInData.org. (Cited 08 Sept 2022). [Internet]. Available from: <https://ourworldindata.org/hiv-aids>.

7. GBD 2019 Hepatitis B Collaborators. Global, regional, and national burden of hepatitis B, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2022; 7(9):796–829. DOI: 10.1016/S2468-1253(22)00124-8.

8. The Polaris Observatory HCV Collaborators. Global change in hepatitis C virus prevalence and cascade of care between 2015 and 2020: a modelling study. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2022; 7(5):396–415. DOI: 10.1016/S2468-1253(21)00472-6.

9. Nkuoh G.N., Meyer D.J., Nshom E.M. Women's attitudes toward their partners' involvement in antenatal care and prevention of mother-to-child transmission of HIV in Cameroon, Africa. *J. Midwifery Womens Health.* 2013; 58(1):83–91. DOI: 10.1111/j.1542-2011.2012.00208.x.

10. Hershow R.B., Zimba C.C., Mweemba O., Chibwe K.F., Phanga T., Dunda W., Matenga T., Mutale W., Chi B.H., Rosenberg N.E., Maman S. Perspectives on HIV partner notification, partner HIV self-testing and partner home-based HIV testing by pregnant and postpartum women in antenatal settings: a qualitative analysis in Malawi and Zambia. *J. Int. AIDS Soc.* 2019; 22 Suppl 3(Suppl Suppl 3):e25293. DOI: 10.1002/jia2.25293.

11. Amano A., Musa A. Male involvement in PMTCT and associated factors among men whom their wives had ANC visit 12 months prior to the study in Gondar town, North west Ethiopia, December, 2014. *Pan Afr. Med. J.* 2016; 24:239. DOI: 10.11604/pamj.2016.24.239.8460.

12. Drammeh B., Medley A., Dale H., De A.K., Diekman S., Yee R., Aholou T., Lasry A., Auld A., Baack B., Duffus W., Shahul E., Wong V., Grillo M., Al-Samarrai T., Ally S., Nyangulu M., MCHD2, Nyirenda R., Olivier J., Chidarikire T., Khanyile N., Kayange A.A., Rwabiyago O.E., Kategile U., Bisimba J., Weber R.A., Ncube G., Maguwu O., Pietersen I., Mali D., Dzintoyiwey E., Nelson L., Bosco M.J., Dalsone K., Apolot M., Anangwe S., Soo L.K., Mugambi M., Mbayiha A., Mugwaneza P., Malamba S.S., Phiri A., MCD28, Chisenga T., Boyd M., Temesgan C., Shimelis M., Weldegebreel T., Getachew M., Balachandra S., Eboi E., Shasha W., Doumatey N., Adjoua D., Meribe C., Gwamna J., Gado P., John-Dada I., Mukinda E., Lukusa L.F.K., Kalenga L., Bunga S., Achyut V., Mondji J., Loeto P., Mogomotsi G., Ledikwe J., Ramphalla P., Tlhomola M., Mirembe J.K., Nkwah T., Eno L., Bonono L., Honwana N., Chicuecue N., Simbine A., Malimane I., Dube L., Mirira M., Mndzebele P., Frawley A., Cardo Y.M.R., Behel S. Sex differences in HIV testing – 20 PEPFAR-supported sub-Saharan African countries, 2019. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2020; 69(48):1801–6. DOI: 10.15585/mmwr.mm6948a1.

13. Guinea Population. (Cited 18 Aug 2022). [Internet]. Available from: <https://countrymeters.info/en/Guinea>.

14. Chersich M.F., Gray G., Fairlie L., Eichbaum Q., Mayhew S., Allwood B., English R., Scorgie F., Luchters S., Simpson G., Haghighi M.M., Pham M.D., Rees H. COVID-19 in Africa: care and protection for frontline healthcare workers. *Global Health.* 2020; 16(1):46. DOI: 10.1186/s12992-020-00574-3.

15. Naidenova E.V., Lopatin A.A., Safronov V.A., Kolomoets E.V., Levkovskiy A.E., Silla A.L., Starshinov V.A., Shcherbakova

S.A., Maleyev V.V. [Biological safety at carrying out anti-epidemic measures during the liquidation of the epidemic Ebola fever in the Republic of Guinea]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2018; 7(3):102–8. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13015.

16. Kolomoets E.V., Itskov Y.Yu., Naidenova E.V., Konomou V., Keita S., Lamah R. [Creation and support of operation of a hospital net to treat COVID-19 patients in Guinea]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (3):66–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-66-71.

17. Annuaire Statistique 2021. (Cited 20 Aug 2022). [Internet]. Available from: http://www.stat-guinee.org/images/Documents/Publications/INS/annuelles/annuaire/Annuaire_Statistique_2021_vf.pdf.

18. Leno N.N., Delamou A., Koita Y., Diallo T.S., Kaba A., Delvaux T., Van Damme W., Laga M. Ebola virus disease outbreak in Guinea: what effects on prevention of mother-to-child transmission of HIV services? *Reprod. Health.* 2018; 15(1):60. DOI: 10.1186/s12978-018-0502-y.

19. Camara B.S., Delamou A., Diro E., Béavogui A.H., El Ayadi A.M., Sidibé S., Grovogui F.M., Takarinda K.C., Bouedouo P., Sandouno S.D., Okumura J., Baldé M.D., Van Griensven J., Zachariah R. Effect of the 2014/2015 Ebola outbreak on reproductive health services in a rural district of Guinea: an ecological study. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2017; 111(1):22–9. DOI: 10.1093/trstmh/trx009.

20. Balde T., Boumbaly S., Serikova E.N., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Ostankova Yu.V., Zueva E.B., Semenov A.V. [Comparative Analysis of the Vertical Risk of Transmission of Some Blood-Borne Infections in the Republic of Guinea]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):87–94. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-87-94.

21. Ostankova Yu.V., Serikova E.N., Semenov A.V., Totolian Areg A. [Method for detecting hepatitis B virus DNA in biological material at low viral load based on nested PCR with real-time detection of three viral targets]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2022; 67(9):530–7. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-9-530-537.

22. Mbange A.E., Kaba D., Diouara A.A.M., Diop-Ndiaye H., Ngom-Nguyé N.F., Dieng A., Lo S., Toure K.N., Fall M., Mbacham W.F., Diallo M.S., Cisse M., Mboup S., Kane C.T. Surveillance of transmitted HIV-1 antiretroviral drug resistance in the context of decentralized HIV care in Senegal and the Ebola outbreak in Guinea. *BMC Res. Notes.* 2018; 11(1):723. DOI: 10.1186/s13104-018-3804-9.

23. Ingasia L.A.O., Kostaki E.G., Paraskevis D., Kramvis A. Global and regional dispersal patterns of hepatitis B virus genotype E from and in Africa: A full-genome molecular analysis. *PLoS One.* 2020; 15(10):e0240375. DOI: 10.1371/journal.pone.0240375.

24. Clifford G.M., Waterboer T., Dondog B., Qiao Y.L., Kordzaia D., Hammouda D., Keita N., Khodakarami N., Raza S.A., Sherpa A.T., Zatonski W., Pawlita M., Plummer M., Franceschi S. Hepatitis C virus seroprevalence in the general female population of 9 countries in Europe, Asia and Africa. *Infect. Agent. Cancer.* 2017; 12:9. DOI: 10.1186/s13027-017-0121-1.

25. Naughton B., Bulterys M., Mugisha J., Mujigira A., Boyer J., Celum C., Weiner B., Sharma M. 'If there is joy... I think it can work well': a qualitative study investigating relationship factors impacting HIV self-testing acceptability among pregnant women and male partners in Uganda. *BMJ Open.* 2023; 13(2):e067172. DOI: 10.1136/bmjopen-2022-067172.

26. UNAIDS data 2020. UNAIDS. Jul 2020. (Cited 18 Aug 2022). [Internet]. Available from: <https://www.unaids.org/en/resources/documents/2020/unaids-data>.

27. Bekolo C.E., Soumah M.M., Tiemtore O.W., Diallo A., Yuma J.D., Di Stefano L., Metcalf C., Cisse M. Assessing the outcomes of HIV-infected persons receiving treatment for Kaposi sarcoma in Conakry-Guinea. *BMC Cancer.* 2017; 17(1):806. DOI: 10.1186/s12885-017-3771-x.

28. Shchemelev A.N., Boumbaly S., Ostankova Y.V., Zueva E.B., Semenov A.V., Totolian A.A. Prevalence of drug resistant HIV-1 forms in patients without any history of antiretroviral therapy in the Republic of Guinea. *J. Med. Virol.* 2022; 95(1):e28184. DOI: 10.1002/jmv.28184.

29. Boumbaly S., Serikova E.N., Semenov A.V., Ostankova Yu.V., Valutite D.E., Shchemelev A.N., Zueva E.B., Balde T.A.L., Baimova R.R., Totolian A.A. [Significance of laboratory diagnosis of parenteral viral hepatitis in the Republic of Guinea]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2021; 98(4):440–9. DOI: 10.36233/0372-9311-116.

30. Sanjuán R. The social life of viruses. *Annu. Rev. Virol.* 2021; 8(1):183–99. DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-071712.

31. Huy B.V., Vernavong K., Kinh N.V. HBV and HCV coinfection among HIV/AIDS patients in the National hospital of tropical diseases, Vietnam. *AIDS Res. Treat.* 2014; 2014:581021. DOI: 10.1155/2014/581021.

Authors:

Balde T.A.L. Research Institute of Applied Biology. BP 146, Kindia, Republic of Guinea. E-mail: thiernoamadoulabe.balde@gmail.com.

Ostankova Yu.V., Valutite D.E., Davydenko V.S., Shchemelev A.N., Serikova E.N., Zueva E.B., Anufrieva E.V., Astapchik E.V., Arbuzova O.V., Skvoroda V.V., Vasil'eva D.A., Esaulenko E.V., Totolian Areg A. Saint Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 14, Mira St., Saint Petersburg, 197101, Russian Federation. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Boumbaly S. Research Institute of Applied Biology; BP 146, Kindia, Republic of Guinea. Centre International de Recherche sur les Infections Tropicales en Guinée, Republic of Guinea / International Research Center on Tropical Infections in the Republic of Guinea; N'Zerekore, Republic of Guinea; e-mail: drboumbaly@yahoo.fr.

Semenov A.V. Federal Research Institute of Viral Infections "Virom". 23, Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. E-mail: virus@eniivi.ru.

Об авторах:

Balde T.A.L. Научно-исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи. Гвинейская Республика, Киндия. E-mail: thiernoamadoulabe.balde@gmail.com.

Останкова Ю.В., Валутите Д.Э., Давыденко В.С., Щемелев А.Н., Серикова Е.Н., Зуева Е.Б., Ануфриева Е.В., Астапчик Е.В., Арбузова О.В., Скворода В.В., Васильева Д.А., Эсауленко Е.В., Тотолян Арег А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14. E-mail: pasteur@pasteurorg.ru.

Boumbaly S. Научно-исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи; Гвинейская Республика, Киндия. Международный исследовательский центр по тропическим инфекциям в Гвинее; Гвинейская Республика, Н'Зерекоре. E-mail: drboumbaly@yahoo.fr.

Семенов А.В. Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром». Российская Федерация, 620030, Екатеринбург, ул. Летняя, 23. E-mail: virus@eniivi.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-59-65

УДК 616.98:579.841.95

А.С. Водопьянов, Р.В. Писанов, С.О. Водопьянов, М.В. Цимбалистова, Н.Л. Пичурина,
В.М. Сорокин, Н.В. Павлович, А.К. Носков**Сравнительный молекулярно-генетический анализ штаммов *Francisella tularensis*,
изолированных в Ростовской области в 2020 г., и последовательностей геномов штаммов,
выделенных в различных регионах мира**

ФКВЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

В 2020 г. при проведении эпизоотологического мониторинга в очаге степного типа на юго-востоке Ростовской области на фоне разлитой эпизоотии в популяциях обыкновенной полевки *Microtus arvalis obscurus* и общественной полевки *Microtus socialis* изолировано шесть культур туляремийного микроба от павших и отловленных живыми животными. Цель работы состояла в разработке схемы SNP-типирования и сравнительном изучении филогенетических связей штаммов *Francisella tularensis*, изолированных в Ростовской области (2020 г.), со штаммами из других регионов. Материалы и методы. Полногеномное секвенирование проводили на платформе MiSeq Illumina. Для анализа применяли авторское программное обеспечение GeneExpert, PrimerM и VirtualPCR, написанное на языке программирования Java. Результаты и обсуждение. Штаммы возбудителя туляремии, выделенные на территории Ростовской области в 2020 г., можно распределить между двумя различными кластерами. Установлено, что два штамма возбудителя туляремии (F0884 и F0889), выделенные на территории Турции, генетически близки к некоторым изолятам, циркулирующим в Ростовской области. Выявлен уникальный INDEL-маркер, характерный для данной группы штаммов. Проведенное сравнение предлагаемой нами схемы типирования со схемой «канонических» SNP показало довольно хорошее схождение результатов в пределах больших кластеров, при этом использование набора из 6626 SNP позволяет дифференцировать штаммы внутри одного canSNP-типа. Выявлено, что вакцинный штамм имеет общий canSNP-тип с клиническими и природными штаммами. Подобран набор SNP-маркеров для проведения сравнительного анализа. Обнаружен новый INDEL-маркер, позволяющий проводить внутривидовое типирование *F. tularensis*, и доказана возможность его использования *in vitro* и *in silico*.

Ключевые слова: *Francisella tularensis*, INDEL, полногеномное секвенирование, ПЦР, генотипирование, SNP.

Корреспондирующий автор: Водопьянов Алексей Сергеевич, e-mail: vodopyanov_as@antiplague.ru.

Для цитирования: Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Цимбалистова М.В., Пичурина Н.Л., Сорокин В.М., Павлович Н.В., Носков А.К. Сравнительный молекулярно-генетический анализ штаммов *Francisella tularensis*, изолированных в Ростовской области в 2020 г., и последовательностей геномов штаммов, выделенных в различных регионах мира. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 3:59–65. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-59-65
Поступила 04.04.2022. Отправлена на доработку 18.05.2022. Принята к публ. 06.02.2023.

A.S. Vodop'yanov, R.V. Pisanov, S.O. Vodop'yanov, M.V. Tsimbalistova, N.L. Pichurina, V.M. Sorokin,
N.V. Pavlovich, A.K. Noskov**Comparative Molecular-Genetic Analysis of *Francisella tularensis* Strains Isolated
in the Rostov Region in 2020 and Genome Sequences of the Strains Collected
in Various Regions of the World**

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

Abstract. Six cultures of tularemia microbe from fallen and captured live animals were isolated during epizootiological monitoring in the steppe focus in the south-east of the Rostov Region in 2020 against the background of extensive epizootics in the populations of the common vole *Microtus arvalis obscurus* and the public vole *Microtus socialis*. The aim of the work was to develop an SNP-typing scheme and to conduct a comparative study of the phylogenetic relations between *Francisella tularensis* strains isolated in the Rostov Region (2020) and strains from other regions. **Materials and methods.** Genome-wide sequencing was performed on the MiSeq Illumina platform. The author's software GeneExpert, PrimerM and VirtualPCR, written in the Java programming language, were used for the analysis. **Results and discussion.** The strains of tularemia agent, isolated on the territory of the Rostov Region in 2020, can be allocated to two different clusters. It is established that two strains of tularemia pathogen (F0884 and F0889) isolated in Turkey are genetically close to some isolates circulating in the Rostov Region. A unique INDEL marker characteristic of this group of strains has been identified. The comparison of our proposed typing scheme with the scheme of "canonical" SNPs has showed a fairly good consistency and convergence of results within large clusters, meanwhile using a set of 6626 SNPs allows for differentiating the strains within one canSNP type. It is revealed that the vaccine strain has a common canSNP type with clinical and natural strains. A set of SNP markers has been selected for comparative analysis. A new INDEL marker that enables intraspecific typing of *F. tularensis* has been discovered and the possibility of its application *in vitro* and *in silico* has been confirmed.

Key words: *Francisella tularensis*, INDEL, whole-genome sequencing, PCR, genotyping, SNP.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Aleksey S. Vodop'yanov, e-mail: vodop'yanov_as@antiplague.ru.

Citation: Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Vodop'yanov S.O., Tsimbalistova M.V., Pichurina N.L., Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Noskov A.K. Comparative Molecular-Genetic Analysis of *Francisella tularensis* Strains Isolated in the Rostov Region in 2020 and Genome Sequences of the Strains Collected in Various Regions of the World. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:59–65. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-59-65

Received 04.04.2022. Revised 18.05.2022. Accepted 06.02.2023.

Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>
Pisanov R.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>
Vodop'yanov S.O., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>
Tsimbalistova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4091-649X>

Pichurina N.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1876-5397>
Sorokin V.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1835-1496>
Pavlovich N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8287-4294>
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Туляремия относится к вакциноконтролируемым болезням, однако ежегодно регистрируемые спорадическая и вспышечная заболеваемости определяют актуальность этой инфекции для общественного здравоохранения. Возбудитель туляремии – *Francisella tularensis* – характеризуется высокой патогенностью для человека и широкого круга животных и относится к микроорганизмам II группы патогенности (опасности). В связи с этим он включен в список А наиболее опасных потенциальных агентов биотерроризма, что требует более пристального внимания к исследованию различных аспектов биологии данного микроорганизма [1].

Широкое распространение природных очагов на территории Российской Федерации диктует необходимость постоянного эпизоотологического мониторинга с целью своевременного проведения противоэпидемических и профилактических мероприятий. Современная эпидемиологическая обстановка по туляремии в ряде регионов страны оценивается как неблагоприятная. Так, в 2020 г. на территории России зарегистрирован 41 случай заболевания людей, а эпизоотические проявления зарегистрированы в 55 субъектах РФ [2].

На базе ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в течение многих лет проводится мониторинг природных очагов туляремии Ростовской области. При этом необходимо отметить, что на протяжении последних десятилетий при сохранении активности природных очагов пойменно-болотного и степного типов, подтверждаемых периодическими обнаружениями маркеров туляремиального микроба в пробах от носителей и переносчиков, выделить культуры *F. tularensis* удалось только в 2017 и 2020 гг.

В 2020 г. при проведении эпизоотологического мониторинга в очаге степного типа на юго-востоке Ростовской области на фоне разлитой эпизоотии в популяциях обыкновенной полевки *Microtus arvalis obscurus* и общественной полевки *Microtus socialis* изолировано шесть культур туляремиального микроба из проб указанных носителей, найденных павшими и отловленных живыми.

Для получения всесторонней характеристики изолированных штаммов актуальным является проведение молекулярно-генетического анализа с целью определения их родственных связей. Использование подобного подхода позволит выявить особенности циркуляции в природном очаге на территории Ростовской области различных популяций возбудителя, что может быть полезным при проведении эпидемиологических расследований. Например,

при генотипировании штаммов, выделенных в Финляндии, установлено различное географическое распространение разных генотипов [3]. Ранее на примере Ростовской области с помощью метода анализа вариабельных тандемных повторов было показано, что на ограниченной территории чаще всего циркулируют штаммы одного либо близкородственных генотипов [4]. Вместе с тем во время разлитых эпизоотий происходит резкое увеличение генетической гетерогенности выделяемых штаммов [5]. Однако существенным недостатком такого типирования является сложность определения генотипа при анализе данных полногеномного секвенирования, что ограничивает возможность сопоставления данных, полученных из базы данных NCBI (ГенБанк).

Альтернативным методом является анализ единичных нуклеотидных замен (SNP). Так, например, G.A. Pandya *et al.* [6] использовали около 20 тыс. SNP, обнаруженных в геномах 40 штаммов возбудителя туляремии, и разработали 32 пары праймеров для дифференциации клад и субклад *F. tularensis*.

В настоящее время широкое распространение получил способ оценки данных полногеномного секвенирования штаммов *F. tularensis* на основе небольшого перечня «канонических» SNP. Данная схема впервые предложена A.J. Vogler *et al.* [7] и в дальнейшем дополнена другими исследователями, причем пополнения происходят за счет зарубежных штаммов [3, 8, 9]. Существенным недостатком данной схемы является весьма сложная номенклатура – довольно сложно понять по номеру группы родственные отношения между различными штаммами [10]. Вместе с тем наличие данных полногеномного секвенирования позволяет использовать значительно большее количество SNP для анализа, что, на наш взгляд, повышает точность и достоверность результатов. В связи с этим **цель** настоящей работы состояла в разработке схемы SNP-типирования на основе данных полногеномного секвенирования и сравнительном изучении филогенетических связей штаммов *F. tularensis*, изолированных в Ростовской области (2020 г.), со штаммами из других регионов.

Материалы и методы

В работе использовали девять штаммов возбудителя туляремии, выделенных из различных источников в Ростовской области.

Полногеномное секвенирование проводили на платформе MiSeq Illumina в лаборатории диагностики особо опасных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Сборку геномов, представленных в виде ридов, проводили с использованием программы Spades [11]. Для сравнительного анализа использовали данные, полученные из базы данных NCBI.

Для анализа применяли авторское программное обеспечение GeneExpert, PrimerM и VirtualPCR, написанное на языке программирования Java. Кластерный анализ проводили с использованием метода UPGMA, для построения дендрограммы использовали программу MEGA 5 [12]. Для определения «канонических» SNP использовано свободное программное обеспечение CanSNPer2 [13].

Выделение ДНК проводили коммерческими наборами реагентов «Проба НК» (ООО «ДНК-Технология», Россия) и «ДНК-Сорб-В» («АмплиСенс®», Россия).

Полимеразную цепную реакцию проводили в объеме 15 мкл в полистироловых микроцентрифужных пробирках на программируемом многоканальном термоджеле «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия).

Инкубационная смесь (15 мкл) для ПЦР содержала 20 mM трис-HCl, pH 8,6; 2 mM MgCl₂; 10 mM (NH₄)₂SO₄; 0,5 mM ЭДТА; 100 мкг/мл БСА; по 250 мкМ смеси дезоксинуклеозидтрифосфатов, 0,1–1 мкМ соответствующего праймера, 2 ед. Taq-полимеразы и 1–10 нг хромосомальной ДНК исследуемого штамма. Режим амплификации после внесения минерального масла: денатурация – плюс 94 °C, 35 с; отжиг – плюс 60 °C, 25 с; синтез – плюс 72 °C, 35 с (всего 40 циклов).

Валидацию размера ампликонов INDEL-маркера «1095» проводили с помощью автоматической электрофорезной станции Experion™ (Bio-Rad, США) с применением набора реагентов Experion DNA 1K на 10 чипов согласно инструкции производителя.

Визуализацию ампликонов и разделение аллелей по заданному локусу проводили в неденатурирующем 11 % полиакриламидном геле (ПААГ) (2 мкл постреакционной смеси на дорожку геля, длина геля – 15 см, 15–20 В/см). В качестве аллельного маркера использовали «аллельную лестницу», представляющую собой смесь всех выявленных аллелей анализируемого локуса. Определение генотипа штамма проводили путем сопоставления длины пробега полученных ампликонов аллелей с маркерной ДНК после окрашивания геля бромистым этидием (1 мкг/мл) и визуализации в проходящем ультрафиолете (220 нм) GelDoc EZ Imager (Bio-Rad, США).

Результаты и обсуждение

В рамках настоящего исследования проведено полногеномное секвенирование шести штаммов (№ 210, 211, 249, 251, 256 и 257), выделенных в 2020 г., и трех штаммов (№ 27 – 1996 г.; № 1238 – 1997 г.; № 250 – 1988 г.), изолированных в Ростовской области в предыдущие годы.

С использованием традиционных методов и ПЦР-анализа установлено, что выделенные в сезон 2020 г. культуры туляремиального микроба являются типичными представителями *F. tularensis* subsp. *holarctica* биовара Ery^R.

Дальнейшее исследование посвящено анализу распределения единичных нуклеотидных замен (SNP, single nucleotide polymorphism). Данный метод на сегодняшний день является трудоемким, но одним из самых точных методов генотипирования микроорганизмов. Важным моментом подобного подхода, влияющим на его результативность, является подбор перечня SNP, используемых для анализа.

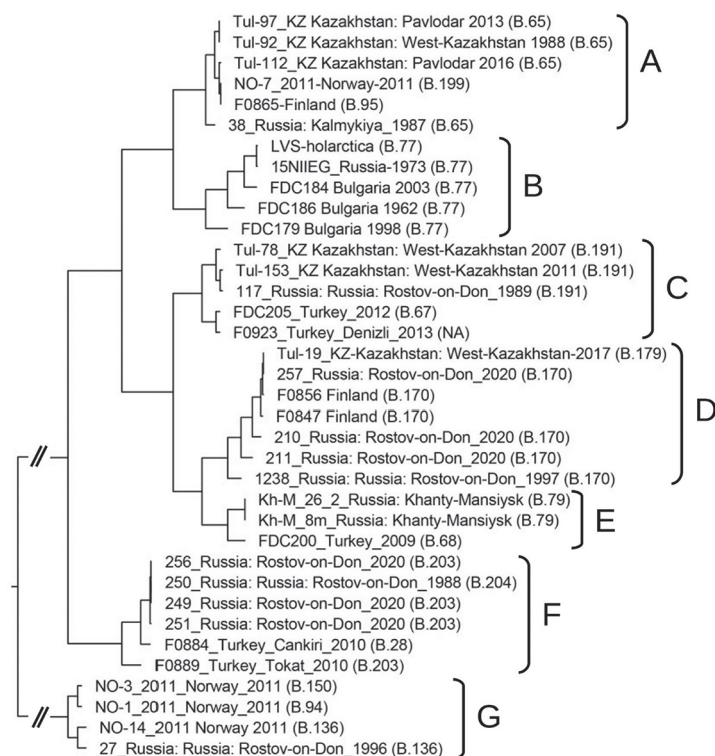
В рамках настоящего исследования нами использован метод отбора SNP, основанный на анализе первичных данных секвенирования (ридах), показавший ранее достоверные результаты на модели холерного вибриона [14]. Это позволило для дальнейшего изучения и выявления филогенетических связей между штаммами отобрать 6626 SNP.

Для сравнительного анализа составлена коллекция геномов возбудителя туляремии голарктического подвида, содержащая как имеющиеся в нашем распоряжении штаммы, так и последовательности из базы данных NCBI. Проведение генотипирования по подобранному перечню SNP показало довольно высокую разрешающую способность – количество уникальных генотипов практически совпало с количеством изучаемых геномов. По итогам кластерного анализа построена дендрограмма, что позволило объединить изучаемые штаммы в 7 условных групп, обозначенных буквами с А по G (рисунок).

Одновременно проведено генотипирование по схеме «канонических» SNP (canSNP), результаты которого отражены в таблице. Для каждого штамма определен полный SNP-путь (SNP path), при этом последнее значение и является canSNP-типом. Для удобства визуального анализа для каждого штамма на дендрограмме в скобках указан canSNP-тип.

Проведение сравнительного анализа показало довольно хорошую сопоставимость результатов. Так, две основные ветви на дендрограмме соответствовали делению на группы В12 и В6 в схеме «канонических» SNP.

На наш взгляд, построение дендрограммы по большому количеству SNP является более удобным инструментом для проведения анализа по сравнению со схемой «канонических» SNP, так как дает возможность оценивать как взаимосвязи между различными группами, так и близость штаммов внутри кластеров. Например, штамм 38 (Россия, Республика Калмыкия, 1987 г.) имеет одинаковый canSNP-тип со штаммами из Казахстана, однако исходя из дендрограммы видно, что они далеко не идентичны друг с другом. И наоборот, два штамма, также входящие в этот кластер, имеют canSNP-типы В.199 и В.95, однако оба этих типа являются дочерними для canSNP-типа В.65. Фактически все пять штаммов, входящих в кластер А, имеют canSNP-тип В.65 (таблица).



Дендрограмма, построенная на основе 6626 SNP. Для каждого штамма указаны название, место и год выделения (при наличии). В скобках указан canSNP-тип

Dendrogram based on 6626 SNP. The designation, site and year of isolation are indicated for each strain (if available). The canSNP type is indicated in parentheses

Не менее интересным является кластер В на дендрограмме, образованный двумя вакцинными (LVS и 15NIEG) и тремя природными штаммами. При этом все эти штаммы имеют идентичный canSNP-тип В.77, что может привести к ошибочному выводу об идентичности этих штаммов. В то время как использование предлагаемой нами схемы SNP-типирования показало, что данные штаммы формируют отдельные ветки внутри кластера, что может быть связано с образованием у природных штаммов делеций областей дифференциации туляремиального микроба.

По данным Е.А. Нарышкиной и соавт. [15], у вакцинного штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ выявлено пять уникальных SNP и две протяженные делеции (RD18 и RD19), отличающие его от всех остальных изолятов туляремиального микроба. У трех природных штаммов, входящих в кластер В (FDC179, FDC184 и FDC186), обнаружены три мутации, идентичные вакцинному штамму, и две – характерные для вирулентных штаммов, а также наличие одной из указанных делеций: RD18 – штамм FDC186, RD19 – штаммы FDC179 и FDC184.

Штаммы возбудителя туляремии, выделенные на территории Ростовской области в 2020 г., распределились между двумя различными кластерами. Так, штаммы *F. tularensis* № 210, 211 и 257 попали в общий кластер со штаммом *F. tularensis* № 1238, изолированным в Ростовской области в 1997 г. В этот же кластер попали штаммы из Финляндии и Казахстана. Это не противоречит схеме «канонических» SNP, согласно которой все они имеют тип В.170 (тип В.179 является дочерним для В.170).

Штаммы № 249, 251 и 256 сгруппировались со штаммом *F. tularensis* № 250, изолированным

также в этом же субъекте РФ в 1988 г. Интересно отметить, что в этот же кластер попали два штамма возбудителя туляремии (F0884 и F0889), циркулировавшие в 2010 г. на достаточно удаленной территории Турции. Причем пять из шести этих штаммов имеют одинаковый canSNP-тип (тип В.204 входит в тип В.203). Данная ситуация (выявление близкородственных штаммов с разницей в 32 года) побудила нас более прицельно изучить данные геномы, что позволило выявить короткую делецию 6 п.о. в гене BZ14_825, кодирующем glycosyl hydrolases 18 family protein. Нами сконструированы праймеры, фланкирующие указанную делецию (прямой – 5'-ttgtgcacttatcttagcctact-3'; обратный – 5'-gggtgctgacatcataacaaaagg-3'). При этом у штаммов № 249, 250, 251 и 256, входящих в кластер F по результатам ПЦР, образовывался ампликон размером 93 п.о., в то время как у всех других штаммов из Ростовской области ампликон имел длину 99 п.о.

Для подтверждения размера получаемых ампликонов проведены дополнительные эксперименты с использованием автоматической электрофорезной станции Experion™, которые подтвердили наличие делеции в гене glycosyl hydrolases 18 family protein.

Важным преимуществом INDEL-типирования является возможность проведения анализа штаммов *in silico* на основе данных полногеномного секвенирования. С этой целью нами были использованы для анализа все полногеномные последовательности штаммов возбудителя туляремии, имеющиеся в базе данных NCBI, что позволило создать локальную коллекцию из 997 геномов. Проведение «виртуальной ПЦР» среди этих геномов позволило выявить указанную делецию только у двух (штаммы F0884 и F0889, выделенные в Турции и также входящие в кластер F)

Результаты определения «канонических» SNP
Results of determination of the “canonical” SNPs

Штамм / Strain	Группа и «путь» на основе «канонических» SNP / canSNP path and group
Tul-97_KZ	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.65
Tul-92_KZ	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.65
Tul-112_KZ	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.65
NO-7_2011	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.65; B.199
F0865	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.65; B.199; B.201; B.95
Ft38	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.65
LVS	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.24; B.77
15NIEG	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.24; B.77
FDC184	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.24; B.77
FDC186	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.24; B.77
FDC179	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.23; B.196; B.24; B.77
Tul-78_KZ	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.66; B.190; B.191
Tul-153_KZ	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.66; B.190; B.191
Ftul117	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.66; B.190; B.191
FDC205	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.66; B.190; B.67
F0923	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.13; B.26; B.42; B.168; B.66; B.190
Kh-M_26_2	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.79
Kh-M_8m	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.79
FDC200	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.79; B.68
Tul-19_KZ	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.21; B.170; B.179
257	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.21; B.170
F0847	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.21; B.170
F0856	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.21; B.170
Ft1238	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.21; B.170
210	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.21; B.170
211	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.26; B.42; B.168; B.21; B.170
256	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.27; B.203
250	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.27; B.203; B.204
249	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.27; B.203
251	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.27; B.203
F0884	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.27; B.28
F0889	B.1; B.2; B.3; B.5; B.12; B.72; B.13; B.27; B.203
NO-3_2011	B.1; B.2; B.3; B.5; B.6; B.7; B.133; B.81; B.135; B.139; B.150
NO-1_2011	B.1; B.2; B.3; B.5; B.6; B.7; B.133; B.81; B.135; B.139; B.94
NO-14_2011	B.1; B.2; B.3; B.5; B.6; B.7; B.133; B.81; B.136
27	B.1; B.2; B.3; B.5; B.6; B.7; B.133; B.81; B.136

из 997 геномов. Таким образом, полученный результат полностью совпал с данными SNP-типирования, согласно которому ростовские (№ 249, 250, 251, 256) и турецкие (№ F0884, F0889) штаммы образуют отдельную обособленную группу, имеющую редко встречающийся генотип. На наш взгляд, полученные данные показывают возможность циркуляции близкородственных штаммов туляремии микроба в природных очагах инфекции, располагающихся в отдаленных ландшафтно-географических районах, что определяет перспективы дальнейшего изучения.

Согласно существующей классификации, подвид *holarctica* разделен на три биовара: различаю-

щиеся по чувствительности к эритромицину bv.I EryS, bv.II EryR и bv.japonica (штаммы, выделенные в Японии). На территории России циркулируют в основном штаммы EryR, а штаммы EryS встречаются только на Дальнем Востоке и в Сибири.

Современная схема генетического типирования *F. tularensis* subsp. *holarctica* определяет четыре основные филогенетические группы в пределах этого подвида (B.4, B.6, B.12 и B.16). Группа B.12 представлена исключительно EryR-штаммами, а EryS-штаммы распределены по другим группам. Распространение штаммов группы B.12 носит глобальный характер, на европейской тер-

ритории они преобладают в Восточной Европе, а в Западной Европе доминируют штаммы группы B.6. В Центральной Европе представлены как штаммы B.12, так и B.6. Группа B.16 состоит из штаммов bv.japonica. Групповая принадлежность российских EryS-штаммов пока не определена.

Штамм 27, выделенный в природном очаге степного типа на юго-востоке Ростовской области в 1996 г., попал в отдельный кластер (G), образованный геномами из группы B6 (эритромицин-чувствительные варианты). Причем он оказался генетически близок норвежскому штамму NO-14_2011 как по нашим данным, так и по результатам «канонического» SNP-анализа. Интересно, что исследованная нами ранее культура штамма 20198, изолированная от зайца-русака *Lepus europaeus* в 2017 г. в том же очаге, также характеризовалась уникальным генотипом, отличающимся от других штаммов, и чувствительностью к эритромицину [16].

Таким образом, в ходе настоящего исследования проведено полногеномное секвенирование шести штаммов возбудителя туляремии. Подобран набор SNP-маркеров для проведения сравнительного анализа, что позволило установить одновременную циркуляцию двух генетически разнородных популяций *F. tularensis* в природном очаге степного типа на юго-востоке Ростовской области. Выявленные нами сходные генотипы у штаммов при интервале их изоляции в 23 и 32 года свидетельствуют как об устойчивости в пространстве и времени паразитарной системы природных очагов инфекции, так и о генетической стабильности микроба. Предлагаемый метод упрощает процедуры дифференциации штаммов *F. tularensis* с использованием SNP-маркеров, описанных ранее.

Проведенный сравнительный анализ предлагаемой нами схемы типирования и схемы «канонических» SNP показал сопоставимость результатов в пределах больших кластеров, при этом использование набора из 6626 SNP позволяет дифференцировать штаммы внутри одного canSNP-типа.

Выявлено, что вакцинные штаммы имеют общий canSNP-тип с некоторыми клиническими и природными штаммами, однако использование предлагаемой схемы генотипирования позволяет обнаружить различия между этими штаммами.

Обнаружен новый INDEL-маркер, характерный для группы российско-турецких штаммов, позволяющий выявлять штаммы данной группы как *in silico* (при анализе данных полногеномного секвенирования), так и *in vitro* (в ПЦР с электрофоретическим учетом результатов).

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

- Skottman T., Piiparinen H., Hyytiäinen H., Myllys V., Skurnik M., Nikkari S. Simultaneous real-time PCR detection of *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis* and *Yersinia pestis*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2007; 26(3):207–11. DOI: 10.1007/s10096-007-0262-z.
- Кудрявцева Т.Ю., Попов В.П., Мокриевич А.Н., Куликалова Е.С., Холин А.В., Мазепа А.В., Транквиловский Д.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Эпизоотолого-эпидемиологическая ситуация по туляремии на территории России в 2020 г., прогноз на 2021 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 1:32–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-32-42.
- Sissonen S., Rossow H., Karlsson E., Hemmälä H., Henttonen H., Isomursu M., Kinnunen P.M., Pelkola K., Pelkonen S., Tarkka E., Myrtenäs K., Nikkari S., Forsman M. Phylogeography of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in Finland, 1993–2011. *Infect. Dis. (Lond).* 2015; 47(10):701–6. DOI: 10.3109/23744235.2015.1049657.
- Водопьянов А.С., Павлович Н.В., Водопьянов С.О., Сучков И.Ю., Пичурина Н.Л., Мишанькин Б.Н. Генотипирование методом мультилокусного VNTR-анализа штаммов *Francisella tularensis*, выделенных из природных очагов туляремии Ростовской области. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2004; 2:24–8.
- Водопьянов А.С., Мишанькин Б.Н., Павлович Н.В., Водопьянов С.О., Сучков И.Ю. VNTR-генотипирование штаммов *Francisella tularensis*, выделенных на территории бывшего СССР и некоторых стран Европы во время эпизоотий 1988–1989 годов. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2006; 3:22–7.
- Pandya G.A., Holmes M.H., Petersen J.M., Pradhan S., Karamycheva S.A., Wolcott M.J., Molins C., Jones M., Schriefer M.E., Fleischmann R.D., Peterson S.N. Whole genome single nucleotide polymorphism based phylogeny of *Francisella tularensis* and its application to the development of a strain typing assay. *BMC Microbiol.* 2009; 9:213. DOI: 10.1186/1471-2180-9-213.
- Vogler A.J., Birdsell D., Price L.B., Bowers J.R., Beckstrom-Sternberg S.M., Auerbach R.K., Beckstrom-Sternberg J.S., Johansson A., Clare A., Buchhagen J.L., Petersen J.M., Pearson T., Vaissaire J., Dempsey M.P., Foxall P., Engelthaler D.M., Wagner D.M., Keim P. Phylogeography of *Francisella tularensis*: global expansion of a highly fit clone. *J. Bacteriol.* 2009; 191(8):2474–84. DOI: 10.1128/JB.01786-08.
- Karlsson E., Svensson K., Lindgren P., Byström M., Sjödin A., Forsman M., Johansson A. The phylogeographic pattern of *Francisella tularensis* in Sweden indicates a Scandinavian origin of EuroSiberian tularemia. *Environ. Microbiol.* 2013; 15(2):634–45. DOI: 10.1111/1462-2920.12052.
- Kevin M., Girault G., Caspar Y., Cherfa M.A., Mendy C., Tomaso H., Gavier-Widen D., Escudero R., Maurin M., Durand B., Ponsart C., Madani N. Phylogeography and genetic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in France (1947–2018). *Front. Microbiol.* 2020; 11:287. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00287.
- Кудрявцева Т.Ю., Мокриевич А.Н. Молекулярно-генетические основы различий подвидов возбудителя туляремии и типирования штаммов *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2022; 40(1):12–20. DOI: 10.17116/molgen2022400112.
- Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Pribliski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28(10):2731–9. DOI: 10.1093/molbev/msr121.
- Lärkeryd A., Myrtenäs K., Karlsson E., Dwibedi C.K., Forsman M., Larsson P., Johansson A., Sjödin A. CanSNPer: a hierarchical genotype classifier of clonal pathogens. *Bioinformatics.* 2014; 30(12):1762–4. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu113.
- Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Олейников И.П. Совершенствование методики SNP-типирования штаммов *Vibrio cholerae* на основе анализа первичных данных полногеномного секвенирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97(6):587–93. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-9.
- Нарышкина Е.А., Краснов Я.М., Альхова Ж.В., Баданин Д.В., Осин А.В., Ляшова О.Ю., Саяпина Л.В., Бондарев В.П., Меркулов В.А., Олефир Ю.В., Кутырев В.В. Полногеномное секвенирование и филогенетический анализ вакцинного штамма *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 2:91–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-91-97.

16. Цимбалистова М.В., Сорокин В.М., Аронова Н.В., Анисимова А.С., Пичурина Н.Л., Пасюкова Н.И., Селянская Н.А., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Павлович Н.В., Ковалев Е.В., Носков А.К. Биологические свойства и генетическая характеристика штаммов *Francisella tularensis*, изолированных на территории Ростовской области в 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 3:134–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-134-140.

References

- Skottman T., Piiparinen H., Hyytiäinen H., Myllys V., Skurnik M., Nikkari S. Simultaneous real-time PCR detection of *Bacillus anthracis*, *Francisella tularensis* and *Yersinia pestis*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2007; 26(3):207–11. DOI: 10.1007/s10096-007-0262-z.
- Kudryavtseva T.Yu., Popov V.P., Mokrievich A.N., Kholin A.V., Mazepa A.V., Kulikalova E.S., Trankvilevsky D.V., Khranov M.V., Dyatlov I.A. [Epidemiological and epizootiological situation on tularemia in Russia and neighboring countries in 2019, the forecast for 2020]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (1):21–32. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-21-32.
- Sissonen S., Rossow H., Karlsson E., Hemmälä H., Henttonen H., Isomursu M., Kinnunen P.M., Pelkola K., Pelkonen S., Tarkka E., Myrtenäs K., Nikkari S., Forsman M. Phylogeography of *Francisella tularensis* subspecies *holarctica* in Finland, 1993–2011. *Infect. Dis. (Lond)*. 2015; 47(10):701–6. DOI: 10.3109/23744235.2015.1049657.
- Vodop'yanov A.S., Pavlovich N.V., Vodop'yanov S.O., Suchkov I.Yu., Pichurina N.L., Mishan'kin B.N. [Genotyping of *Francisella tularensis* strains isolated from natural foci of tularemia in the Rostov Region using multilocus VNTR analysis]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2004; (2):24–8.
- Vodop'yanov A.S., Mishan'kin B.N., Pavlovich N.V., Vodop'yanov S.O., Suchkov I.Yu. [VNTR genotyping of *Francisella tularensis* strains isolated on the territory of the former USSR and some European countries during epizootics of 1988–1989]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2006; (3):22–7.
- Pandya G.A., Holmes M.H., Petersen J.M., Pradhan S., Karamycheva S.A., Wolcott M.J., Molins C., Jones M., Schrieffer M.E., Fleischmann R.D., Peterson S.N. Whole genome single nucleotide polymorphism based phylogeny of *Francisella tularensis* and its application to the development of a strain typing assay. *BMC Microbiol.* 2009; 9:213. DOI: 10.1186/1471-2180-9-213.
- Vogler A.J., Birdsell D., Price L.B., Bowers J.R., Beckstrom-Sternberg S.M., Auerbach R.K., Beckstrom-Sternberg J.S., Johansson A., Clare A., Buchhagen J.L., Petersen J.M., Pearson T., Vaissaire J., Dempsey M.P., Foxall P., Engelthaler D.M., Wagner D.M., Keim P. Phylogeography of *Francisella tularensis*: global expansion of a highly fit clone. *J. Bacteriol.* 2009; 191(8):2474–84. DOI: 10.1128/JB.01786-08.
- Karlsson E., Svensson K., Lindgren P., Byström M., Sjödin A., Forsman M., Johansson A. The phylogeographic pattern of *Francisella tularensis* in Sweden indicates a Scandinavian origin of EuroSiberian tularemia. *Environ. Microbiol.* 2013; 15(2):634–45. DOI: 10.1111/1462-2920.12052.
- Kevin M., Girault G., Caspar Y., Cherfa M.A., Mendy C., Tomaso H., Gavrier-Widen D., Escudero R., Maurin M., Durand B.,

Ponsart C., Madani N. Phylogeography and genetic diversity of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* in France (1947–2018). *Front. Microbiol.* 2020; 11:287. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00287.

10. Kudryavtseva T.Yu., Mokrievich A.N. [Molecular genetic basis of differences in tularemia causative agent subspecies and typing of strains of *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2022; 40(1):12–20. DOI: 10.17116/molgen2022400112.

11. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Pribelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.

12. Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* 2011; 28(10):2731–9. DOI: 10.1093/molbev/msr121.

13. Lärkeryd A., Myrtenäs K., Karlsson E., Dwibedi C.K., Forsman M., Larsson P., Johansson A., Sjödin A. CanSNPer: a hierarchical genotype classifier of clonal pathogens. *Bioinformatics*. 2014; 30(12):1762–4. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu113.

14. Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Vodop'yanov S.O., Oleinikov I.P. [Improvement of the method of SNP-typing of *Vibrio cholerae* strains based on the analysis of primary data of whole-genome sequencing]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2020; 97(6):587–93. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-9.

15. Naryshkina E.A., Krasnov Y.M., Alhova Z.V., Badanin D.V., Osin A.V., Lyashova O.Yu., Sayapina L.V., Bondarev V.P., Merkulov V.A., Olefir Yu.V., Kuttyrev V.V. [Whole-genome sequencing and phylogenetic analysis of *Francisella tularensis* vaccine strain 15 NIEG]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):91–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-91-97.

16. Tsimbalistova M.V., Sorokin V.M., Aronova N.V., Anisimova A.S., Pichurina N.L., Pasyukova N.I., Selyanskaya N.A., Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Pavlovich N.V., Kovalev E.V., Noskov A.K. [Biological properties and genetic characteristics of *Francisella tularensis* strains isolated in the territory of the Rostov Region in 2020]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (3):134–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-134-140.

Authors:

Vodop'yanov A.S., Pisanov R.V., Vodop'yanov S.O., Tsimbalistova M.V., Pichurina N.L., Sorokin V.M., 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@aanet.ru.

Об авторах:

Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Цимбалистова М.В., Пичурина Н.Л., Сорокин В.М., 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@aanet.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-66-72

УДК 616.98:678.824.11

А.Г. Галеева¹, Н.И. Хаммадов¹, М.А. Ефимова^{1,2}**Биоинформатический анализ иммунодоминантных пептидов вируса бешенства (*Rabies lyssavirus*, *Rhabdoviridae*)**¹ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности», Казань, Российская Федерация;²ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», Казань, Российская Федерация

Существует необходимость разработки антирабических вакцин нового поколения, обеспечивающих достижение протективного уровня антител после однократного введения. Перспективы решения данной проблемы открывают последние разработки в области «обратной вакцинологии». Основным параметром, определяющим эффективность рекомбинантных вакцин, является дизайн антиген-кодирующей последовательности. В связи с этим **целью** работы явилось проведение биоинформатического анализа пептидов вируса бешенства (*Rabies lyssavirus*, *Rhabdoviridae*) для выявления иммуногенных эпитопов. **Материалы и методы.** Анализ 5 кандидатных протеиновых последовательностей более 100 штаммов и эпизоотических изолятов вируса бешенства проводили с использованием стандартных методов *in silico* прогнозирования по базе данных иммуногенных эпитопов The Immune Epitope Database (IEDB) (NIH, США). **Результаты и обсуждение.** В результате анализа первичных аминокислотных последовательностей, проведенного с использованием наиболее часто применяемых инструментов биоинформатики, установлено количество иммуногенных эпитопов и типы выявленного иммунного ответа (Т- и В-клеточные эпитопы, эпитопы связывания с МНС I класса) для вирусных белков: гликопротеина (G), нуклеопротеина (N), фосфопротеина (P), матричного протеина (M), РНК-зависимой РНК-полимеразы (L). В аминокислотной структуре указанных белков дополнительно идентифицированы сайты N- и O-гликозилирования, сигнальные пептиды и трансмембранные домены. В целях прогнозирования безопасности и эффективности данных белков в качестве компонентов рекомбинантных вакцин проведена *in silico* оценка их физико-химических свойств. Несмотря на то, что преобладающее количество эпитопов сосредоточено в структуре гликопротеина, эпитопы остальных белков, ранжируясь по уровню антигенности и консервативности, также могут представлять интерес в качестве компонентов профилактических препаратов либо диагностикумов. Представленные данные могут быть использованы при дизайне вставки в ходе конструирования вирус-векторной кандидатной вакцины либо контрольных положительных образцов в диагностических методах, основанных на индикации фрагментов вирусного генома.

Ключевые слова: вирус бешенства, рекомбинантные вакцины, биоинформатический анализ, обратная вакцинология.

Корреспондирующий автор: Галеева Антонина Глебовна, e-mail: antonina-95@yandex.ru.

Для цитирования: Галеева А.Г., Хаммадов Н.И., Ефимова М.А. Биоинформатический анализ иммунодоминантных пептидов вируса бешенства (*Rabies lyssavirus*, *Rhabdoviridae*). Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 3:66–72. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-66-72

Поступила 10.03.2022. Отправлена на доработку 29.03.2023. Принята к публ. 14.04.2023.

A.G. Galeeva¹, N.I. Khammadoy², M.A. Efimova^{1,2}**Bioinformatic Analysis of Immunodominant Peptides of Rabies Virus (*Rabies lyssavirus*, *Rhabdoviridae*)**¹Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety, Kazan, Russian Federation;²Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman, Kazan, Russian Federation

Abstract. There is a need to develop a new generation of anti-rabies vaccines that provide a protective level of antibodies after a single injection. Prospects for solving this problem are opened by the latest developments in the field of “reverse vaccinology”. The main parameter that determines the effectiveness of recombinant vaccines is the design of the antigen-coding sequence. In this regard, **the aim** of the work was to conduct a bioinformatic analysis of rabies virus (*Rabies lyssavirus*, *Rhabdoviridae*) peptides to identify immunogenic epitopes. **Materials and methods.** Analysis of 5 candidate protein sequences of more than 100 strains and epizootic isolates of the rabies virus was performed using standard *in silico* prediction methods using Immune Epitope Database (IEDB) (NIH, USA). **Results and discussion.** As a result of the analysis of primary amino acid sequences, carried out using the most commonly used bioinformatics tools, the number of immunogenic epitopes and the types of immune response detected (T- and B-cell epitopes, class I MHC-binding epitopes) were established for viral proteins: glycoprotein (G), nucleoprotein (N), phosphoprotein (P), matrix protein (M), RNA-dependent RNA polymerase (L). In the amino acid structure of these proteins, N- and O-glycosylation sites, signal peptides, and transmembrane domains were additionally identified. In order to predict the safety and efficacy of these proteins as components of recombinant vaccines, an *in silico* assessment of their physicochemical properties was carried out. Despite the fact that the predominant number of epitopes is concentrated in the structure of the glycoprotein, the epitopes of other proteins, ranging according to the level of antigenicity and conservatism, may also be of interest as components of preventive drugs or diagnostics. The presented data can be used in the design of the insert during the

construction of a candidate virus-vector vaccine or control positive samples in diagnostic methods based on the indication of viral genome fragments.

Key words: rabies virus, recombinant vaccines, bioinformatics analysis, reverse vaccinology.

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

Funding: The study was conducted within the framework of the Research and Development Project theme 04.10.2021.03/03.4-2.

Corresponding author: Antonina G. Galeeva, e-mail: antonina-95@yandex.ru.

Citation: Galeeva A.G., Khammadv N.I., Efimova M.A. Bioinformatic Analysis of Immunodominant Peptides of Rabies Virus (*Rabies lyssavirus*, *Rhabdoviridae*). *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 3:66–72. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-66-72

Received 10.03.2022. **Revised** 29.03.2023. **Accepted** 14.04.2023.

Galeeva A.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2650-6459>

Khammadv N.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5669-1486>

Efimova M.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8786-1310>

Бешенство – вирусный антропозооноз, клинически характеризующийся развитием острого менингоэнцефалита, продолжает оставаться одной из инфекционных болезней с самой высокой летальностью: ежегодно в мире регистрируются десятки тысяч предотвратимых смертей [1]. В глобальном масштабе воздействие бешенства оценивается, согласно расчетам Всемирной организации здравоохранения, в 3,7 млн потерянных лет жизни (YLL – years of life lost) и 8,6 млрд долларов из-за затрат на постэкспозиционное лечение ежегодно [2]. Для большинства развивающихся стран бешенство является гиподиагностируемым заболеванием. Преобладающим источником инфекции (в 99 % случаев) для человека являются укусы собак. Экономически эффективный контроль распространения бешенства включает массовую вакцинацию и контроль популяций псовых [3]. Несмотря на неизбежный летальный исход после манифестации клинических симптомов, бешенство у человека можно предотвратить путем быстрого проведения постэкспозиционной профилактики [4]. В Российской Федерации для профилактики бешенства у людей и животных зарегистрированы и применяются культуральные инактивированные вакцины отечественного и зарубежного производства с доказанной клинической эффективностью и безопасностью [5]. Несмотря на несомненный успех современных коммерческих вакцин, условие многократной иммунизации делает предэкспозиционную профилактику бешенства неэкономичной для большинства развивающихся стран, что требует разработки вакцин нового поколения, обеспечивающих достижение протективного уровня антител после однократного введения.

Вирус бешенства относится к порядку *Mono-negavirales*, семейству *Rhabdoviridae*, включающему как минимум 10 родов; род *Lyssavirus* включает классический вирус бешенства и 16 других генотипов, энзоотичных преимущественно в популяциях летучих мышей и разделенных на четыре главные филогенетические группы [6]. Геном рабдовирусов состоит из несегментированной одноцепочечной отрицательно-смысловой РНК размером около 12 тыс. нуклеотидов, кодирующей пять структурных белков: нуклеопротеин (N), фосфопротеин (P), матричный белок (M), гликопротеин

(G) и РНК-полимеразу (L), – расположенных в порядке 3'-NPMGL-5' и задействованных в вирусном патогенезе. Известно, что ключевой мишенью антирабических антител является гликопротеин вируса бешенства – единственный поверхностно-экспонированный белок (и лиганд для клеточного рецептора), в структуре которого был идентифицирован ряд антигенных участков, с которыми связываются нейтрализующие моноклональные антитела [7, 8]. Возможность клонирования гликопротеина в плазмидные векторы с целью экспрессии белка в различных системах привела к разработке ряда кандидатных вакцин, демонстрировавших высокий протективный эффект на мышинных моделях летального заражения [9]. Последние исследования по разработке антирабических вакцин основаны на экспрессии рекомбинантного гликопротеина *in vivo* путем трансдукции вирусным вектором [10].

Основным параметром, определяющим иммуногенность подобных вакцин, является структура не только вектора, но и вставки – антиген-кодирующей последовательности. Грамотный дизайн векторной вакцины открывает возможности комплексной стимуляции иммунного ответа, его высокой специфичности и безопасности [11]. В настоящее время исследователями все чаще применяются современные подходы к исследованию биомолекул, ключевая роль среди которых отводится биоинформатическим и протеомным методам, использующим обширные базы данных секвенирования эпитопов и функциональных доменов [12, 13]. Преимущество подобных алгоритмов исследования заключается в возможности тщательного отбора мишеней, ответственных за формирование протективного иммунного ответа, идентификации антигенов возбудителей особо опасных инфекций, а также в значительном сокращении временных и экономических затрат относительно традиционного подхода к конструированию вакцин. Данные факторы позволяют рассматривать *in silico* прогнозирование как достоверный и обоснованный метод идентификации антигенных детерминант [14].

В связи с вышеизложенным **целью** настоящего исследования явился биоинформатический анализ пептидов вируса бешенства для выявления иммунных эпитопов.

Материалы и методы

Анализ 5 кандидатных протеиновых последовательностей более 100 штаммов и эпизоотических изолятов вируса бешенства, полученных из депозитария Национального центра биотехнологической информации (NCBI, США), осуществляли с использованием общепринятых методов биоинформатики [15, 16]. Поиск антигенных детерминант проводили при помощи методов *in silico* прогнозирования по базе данных иммуногенных эпитопов The Immune Epitope Database (IEDB) (НИН, США). Поиск трансмембранных доменов и сигнальных пептидов осуществляли при помощи онлайн-ресурсов TMHMM 2.0 и SignalP 5.0 (DTU Health Tech, Дания). Прогнозирование сайтов N- и O-гликозилирования осуществляли при помощи сервисов NetNGlyc-1.0 и DictyOGlyc-1.1 (DTU Health Tech, Дания) при установленных стандартных параметрах. Физико-химические свойства протеинов определяли при помощи онлайн-ресурса Peptide Property Calculator – www.pepcalc.com (Innovagen AB, Швеция).

Результаты и обсуждение

В связи с тем, что каждый вирусный белок имеет в своем составе Т- и В-клеточные эпитопы, значительно различающиеся по своим иммуногенным свойствам, а также варьирующие по скорости изменчивости, для разработки эффективных антирабических вакцин и оценки иммуногенности вакцин-кандидатов целесообразно прогнозировать антигенные детерминанты и возможные иммунные ответы. В результате анализа

первичных аминокислотных последовательностей, проведенного с использованием наиболее часто применяемых инструментов биоинформатики, установлены количество иммуногенных эпитопов и тип выявленного иммунного ответа для каждого вирусного белка (табл. 1); в качестве примера использована последовательность вакцинного штамма Pasteur RIV.

Гликопротеин. Аминокислотная структура гликопротеина содержит 80 иммуногенных эпитопов; к антигену зарегистрировано 207 иммунных ответов, из которых 87 – Т-клеточных, 113 – В-клеточных, 7 – к МНС I класса. Позитивный иммунный ответ зафиксирован к 32 эпитопам. Определено 5 сайтов N-гликозилирования в позициях 56, 177, 266, 338 и 484-й аминокислоты, а также О-гликозилирования – в позиции 501-й аминокислоты. Расположение трансмембранных доменов подразумевает наличие внешней части белка в позиции до 477-й аминокислоты, соответственно, возможность N-гликозилирования возможна во всех указанных случаях, кроме позиции 484-й аминокислоты.

Нуклеопротеин. В аминокислотной последовательности нуклеопротеина определен 61 иммуногенный эпитоп; к антигену выявлено 246 иммунных ответов, из которых 215 – Т-клеточных, 29 – В-клеточных, 2 – к МНС I класса. Наиболее выраженный иммунный ответ зафиксирован к 23 эпитопам. Определено 3 сайта N-гликозилирования в позициях: 250, 326 и 443-й аминокислоты, 1 сайт О-гликозилирования – в позиции 401-й аминокислоты, сигнальных пептидов не выявлено. Отсутствие выраженных трансмембранных доменов подразумевает возможность N-гликозилирования.

Таблица 1 / Table 1

Наличие иммуногенных эпитопов в структуре протеинов вируса бешенства штамма Pasteur RIV
Presence of immunogenic epitopes in the structure of rabies virus proteins

Протеин, позиция в геноме Protein, position in genome	Выявленные эпитопы по типу иммунного ответа * Identified epitopes by type of immune response *		
	Т-клеточный ответ T-cell response	В-клеточный ответ B-cell response	Ответ к МНС I класса Response to MHC I
G (гликопротеин / glycoprotein) (3291-4964) protein ID NP_056796.1	30-44, 37-63, 48-60, 70-84, 80-94, 89-97, 90-101, 51-63, 140-154, 171-198, 220-233, 263-310, 271-279, 297-311, 300-313, 302-342, 304-318, 311-342, 311-327, 333-341, 364-378	20-43, 31-42, 58-62, 209-222, 245-250, 268-287, 272-294, 279-286, 280-283, 333-341, 337-343	48-60, 304-318
N (нуклеопротеин / nucleoprotein) (59-1482) protein ID NP_056793.1	11-25, 89-103, 91-105, 121-135, 177-191, 201-214, 281-289, 284-292, 313-337, 317-325, 374-383, 402-416, 404-418, 406-420	1-42, 32-72, 89-103, 152-164, 313-337, 358-367, 359-366, 374-383, 388-407, 404-418	404-418
M (матричный белок / matrix protein) (2481-3285) protein ID NP_056795.1	–	25-30, 42-46	–
P (фосфопротеин / phosphoprotein) (1485-2475) protein ID NP_056794.1	90-109, 101-120, 113-132, 191-206	37-66, 47-52, 82-113, 154-171, 256-297, 262-266	101-120
L (РНК-направленная РНК-полимераза / RNA-directed RNA polymerase) (5388-11863) protein ID NP_056797.1	–	1479-1484, 1659-1663, 1724-1728	–

Примечание: * указаны эпитопы, на которые зарегистрирован положительный иммунный ответ.

Note: * epitopes for which a positive immune response has been registered are indicated.

Матричный протеин. В аминокислотной последовательности матричного протеина выявлено 2 иммуногенных эпитопа в позициях 25-29 (PPDDD), 25-30 (PPYDDD).

Фосфопротеин. В аминокислотной последовательности фосфопротеина выявлено 11 иммуногенных эпитопов с преимущественно В-клеточным типом иммунного ответа, к 9 из которых зафиксирован позитивный иммунный ответ. Определен один сайт N-гликозилирования в позиции 7-й аминокислоты, сигнальных пептидов не выявлено.

РНК-полимераза (L). В аминокислотной последовательности РНК-зависимой РНК-полимеразы выявлено 3 иммуногенных эпитопа с зафиксированным позитивным В-клеточным иммунным ответом. Определено 8 сайтов N-гликозилирования в позициях 68, 111, 135, 241, 1499, 1788, 1981 и 2055-й аминокислоты, отсутствие сигнальных пептидов подтверждено. Отсутствие выраженных трансмембранных доменов подразумевает возможность N-гликозилирования.

Из представленных данных видно, что все рассматриваемые протеины обладают потенциалом для формирования иммунного ответа. Последовательности нуклеопротеина, фосфопротеина и РНК-полимеразы представлены экзогенной структурой, без трансмембранных доменов и сигнальных пептидов. Последовательности гликопротеина и матричного протеина характеризуются наличием трансмембранного домена и, в случае гликопротеина, наличием внутренней части белковой молекулы и сигнального пептида. Карты аминокислотных последовательностей анализируемых протеинов с указанием локализации Т- и В-клеточных эпитопов, эпитопов связывания с МНС I класса, сигнальных пептидов, сайтов N- и О-гликозилирования и трансмембранных доменов, составленные на основе первичной последовательности штамма вируса бешенства Pasteur RIV, представлены в табл. 2.

На следующем этапе исследования для прогнозирования безопасности и эффективности применения белков в качестве компонентов вакцин проведена оценка их физико-химических свойств. Известно, что конформация синтезируемого рекомбинантного белка может отличаться от той, которую он имеет в клетке, что может приводить к изменению его свойств и влиять на эффективность конъюгации с адъювантами. Нами рассчитаны физико-химические параметры отобранных протеинов, влияющие на их стабильность и растворимость при экспрессии *in vitro* и применении *in vivo*: молекулярная масса, коэффициент экстинкции, суммарный заряд при нейтральном рН, изоэлектрическая точка (pI) и степень растворимости в воде. Обобщенная пептидная калькуляция анализируемых аминокислотных последовательностей представлена в табл. 3.

Представленные в табл. 3 данные характеризуют основные физико-химические свойства протеинов

вируса бешенства, спрогнозированные на основании их аминокислотных последовательностей, однако для конструирования новых протеинов с заданными свойствами необходимо учитывать не только первичную структуру, но и пространственную организацию эпитопов, что достигается их экспериментальным изучением.

Вакцинный потенциал большинства рассматриваемых эпитопов был раскрыт многими исследователями. Так, первые успешные попытки конструирования рекомбинантных вакцин были основаны на доставке посредством вирусного вектора цельного гена *G* штамма ERA [17]; полученные поксивирусные рекомбинанты активно использовались для борьбы с бешенством диких животных на территории США и некоторых европейских стран, демонстрируя выраженный протективный эффект [18]. В дальнейшем возникло предположение о способности рекомбинантных G- и N-антигенов синергически индуцировать иммунный ответ, что могло бы расширить спектр продуцируемых лиссавирус-нейтрализующих антител [19]; более того, ранее были получены сведения о протективном эффекте нуклеопротеина, отдельно экспрессируемого рекомбинантами вируса оспы енота [20], в связи с чем коэкспрессия генов *G* и *N* стала одной из приоритетных стратегий в разработке кандидатных вакцин. Сведения о первичной структуре белков Р и М, в свою очередь, были использованы для получения живых аттенуированных вакцинных штаммов, лишенных нейровирулентности: было показано, что делеции одноименных генов позволяют достичь апатогенности вируса бешенства [21]. Если первые попытки создания рекомбинантных вакцин были основаны на экспрессии цельных генов, то в последние годы обозначилась тенденция к созданию мультиэпитопных вакцин. Так, Y. Niu *et al.* представлена кандидатная вакцина на основе наиболее антигенных и консервативных эпитопов белка *G* штамма CVS с защитной эффективностью не менее 70 %: CLKLCGVLG (242-250), LVNLHDFR (276-283), LGPWSPIDINHLSC (30-43), CTKWCPPDQLVNLHDFRSDEIEHLVVEE (268-294) [22]. Также была предпринята попытка конструирования мультиэпитопной пептидной вакцины, включающей В- и Т-клеточные эпитопы гликопротеина: GCTNLSGFS (34-42), KRA (199-201), KLCGV (226-231), W (251), HDFR (261-264), KSVRTWNEI (330-338), KG (342-343) – и демонстрирующей стабильность, безопасность и эффективность по результатам *in silico* прогнозирования [23]. Пристальный интерес исследователей к белку *G* как к единственной мишени для всех известных нейтрализующих антител обусловлен тщательно изученной структурой антигенных сайтов I, II, III, «а», однако в данных сайтах некоторых эскейп-мутантов вируса бешенства часто возникают аминокислотные замены, что не только предотвращает связывание антител с конкретным эпитопом, но и влияет на другие сайты связывания антител из-

Таблица 2 / Table 2

Карты аминокислотных последовательностей протеинов вируса бешенства
Amino acid sequence maps of rabies virus proteins

Протеин Protein	Последовательность Sequence
Нуклеопротеин (N) / Nucleoprotein (N) protein ID NP_056793.1	MDADKIVFKVNNQVVSLSKPEIIVDQYEEKYPAIKDLKKPCITLGKAPDLNKAAYSVLSCMSAAKLPDDVCSYLAALAMQFEFGTCPEDWTSYGVIAARKGDKITPGSLVEIKRTDVEGNWALTGGMELTRDPTVPEHASLVGLLLSLYRLSKISGQSTGNKYKTNIADRIEQIFETAPFVKIVEHHTLMTTHKMCANWSTIPNFRFLAGTYDMFFSRIEHLYSAIRVGTVVTA YEDCSGLVSFTGFIKQINLTAREAILYFFHKNFEEIIRRMFEPGQETAVPHSYFIHFRSLGLSGKSPYSNAVGHVFNLIHFVGCYMGQVRSNLATVIAACAPHEMSVLGGYLGEFFFGKGTFERRRFRDEKELQEYEAALTKTDVALAD DGTVNSDDEDYFSGETRSPPEAVYTRIIMNGGRLKRSHIRRYVSVSSNHQARPNSFAEFLNKTYSDD
Фосфопротеин (P) / Phosphoprotein (P) protein ID NP_056794.1	MSKIFVNPASIRAGLADLEMAEETVDLINRNIEDNQAHLQGEPIEV DNLPEDMGRLLHDDGKSPNPGEMAKVGEKG YREDFQMDEGEDP SLLFQSYLDNVGVQIVRQIRSGERFLKIWSQTVVEIISYVAVNFPNPPGKSSSEDKSTQTTGRELK KETTPTSQRESQSSKARMAAQATASGPPALEWSATNEEDDLISVEAEIAHQIAESFSKKYKFPSRSSGILLYNFEQLKM NLDDIVKEAKNVPGVTRLARDGSKLPLRCVLGWVALANSKKFQLLVESNKLKIMQDDLNRYSCTC
Матричный протеин (M) / Matrix protein (M) protein ID NP_056795.1	MNFLRKIVKNCRDQEDTQKPSVSAPLDDDDDLWLPPEYVPLKELTSKKNRRNFCINGGVKVCSPNGYSFGILRHILRS FDEIYSGNHRMVGLVKVIGLALSGAPVPEGMNWVYKLRRTLIFQWADSRGPLEGEELYSQEITWDDNTEFVGLQ IRVSAKQCHIRGRIWCINMNSRAGQLWSDMSLQTRSEEDKDSLLLE
Гликопротеин (G) / Glycoprotein (G) protein ID NP_056796.1	MVPQALLFVPLLVPFLCFGKFPYITIPDKLGPWSPIDIHHLSCPNNLVVEDEGCTNLSGFSYMEKLVGYISAIKMNGFT CTGVVTEAETYNFVGYVTTTFKRKHFRPTDACCRAAYNWKMAAGDPYEESSLHNPYPDYHWLRTVKTTKESLVIIS PSVADLDPYDRSLHSRVFPGGCSGVAVSSTYCSNHDYTIWMPENPRLGMSCDIFNTRSGKRASKGSETCGFVDER GLYKSLKGACKLKLGGVLGLRLMDGTWVAMQTSNETKWCPPGQLVNLHDFRDEIEHLVVEELVKKREECLEDALE SIMTTKSVSFRRLSHLRKLVPGFGKAYTIFNKTLMADAHYKSVRTWNEIIPSKGCLRVGGRCCHPHVNGVFENGILG PDGNVLIPEMQSSLLQQHMEELLVSSVIPLMHPLADPSTVFKNGDEAEDFVEVHLPDVHERISGVDLGLPNWGKYVLL SAGALTALMLIIFLMTCWRRVNRSEPTQHNLRGTGREVSVPQSGKIISSWESYKSGGETGL
РНК-полимераза (L) / RNA polymerase (L) protein ID NP_056797.1	MLDPGEVYDDPIDIELEAEPRGTPTVPNLRNSDYNLSPLIEDPARLMEWLKTGNRPYRMTLTDNCSRSFRVLKD YFKKVDLGLSKVGGMAAQSMISLWLYGAHSESRSRRCTDLAHFYSSKSPIEKLLNLTLGNRGLRIPPEGVLSCLER VDYDNAFGRYLANTYSSYLFFHVITLYMNALDWDEEKTILAKWDLTSVDIGKDLVKFKDQIWGLLIVTKDFVYSQ SSNCLFDRNYTLMLKDLFLSRFNSLMVLLSPPEPRYSDDLSQLCQLYIAGDQVLSMCGNSGYEVIKLEPYVNVSLV QRAEKFRPLIHSGLDFPVFIKDKVSQLEETFGSCARRFFRALDQFDNIHDLVFVYGCYRHWGHPYIDYRKGLSKLYD QVHIKKVIDKSYQECLASDLARRILRWGFDKYSKWYLDLRSFLARDHPLTPYIKTQTWPPKHIVDLVGDGTWHKLPTQ IFEIPESMDPSEILDDKSHSFTRTRLASWLSERNRGGVPSEKVIITALSPPVNPREFLSIDLGGLPDEDLIIGLKPKE RE LKIEGFFALMSWNLRLYFVITEKLLANYILPLFDALMTDNLNKFVKKLIDRVGTGQLLDYSRVTYAFHLDYDEKWN NHQRLESTEDVFSVLDQVFGKLRVFSRTHFFQKSWIYYSDRSIDLIGLREDQIYCLDASNGPTCWNGQDGGLEGLR QKGWSLVSLMIDRESQIRNTRTKVLAQGDNQVLCPTYMLSPGLSQEGLLYELESISRNAFISYRAVEEGASKLGLII KKEETMCSYDFLIYGKTPFRGNILVPESKRWARVSCVSDNQIVNLANIMSTVSTNALTVAQHSQSLIKPMRDFFLL SVQAVFHYLLFSPILKGRVYKILSAEGESFLLAMSRIYLDPSLGGVSGMSLGRFHIFQSDPSEGLSFWREIWLSSHE SWIHALCQEAGNPDGLERTLESFTRLLDPTTLNIRGGASPTILLKDAIRKALYDEVKDVENSEFREAILLSKTHRDNF ILFLTSTVEPLFPRFLSELFSSSFLGIPESIGLIQNSRTIRQRKSLSKTLEESFYNSEIHGSRMTQTPTQRVGGVWPCSSE RADLLREISWGRKVVGTTPVPHPEMLGGLPKSSISCTCGATGGGNPRVSVSVLPSPFDQSFCTGPLKGYLGSSSTMSMST QLFHAWEKVTNVHVVKRALSKESINWFITRDSNLAIYDLRNLVSLTGPDPFLEEAPVFKRTGSALHRFKSARYSEGG YSSVCPNLLSHISVSTDTMSDLTQDGKNYDFMFQPLMLYAQTWSELVQRDTRLRDSTFHWHLQCNRCVRPIDDVT LETSQIFEPDVSKRISRMVSGAVPHFQRLPDIRLPGDFESLSGREKSHHIGSAQGLLYSILVAIHDSGYNDGTIFPVNI YGKVSPPDYLRGLARGVLIGSSICFLTRMTNININRPLELISGVISYILLRLDNHPSLYIMLREPSFREIFISIPQKIPAA Y PTTMKEGNSILCYLQHVLRVYREVITASPENWLVFSDFRSAKMTYLTILITYQSHLLLQRVERNLSKSMRDNLRQ LSSLMRQVLGGHGEDTLESDDNIQRLKDLRRTRWVDQEVRAARTMTGDYSPNKKVSRKVGCSWVCSAQV AVSTANPAPVSELDIRALSKRFQNPISGLRVVQWATGAHYKLPILDDLNVFSPCLVVGDSGGGISRAVLNMF DAKLVFNLSLLEVNDLMASGTHPLPPSAIMRGNDIVSRVIDFDSIWEPKPSDLRNLATWKYFQSVQKQVMSYDLIC DAEVTDIASINRITLLMSDFALSIDGPLYVFKTYGTMLVNPYKAIQHSRAFPNVTFGITQVTSFSSFLVLRFSKRG KFFRDAEYLTSTLREMSLVFNCSPPKSEMQRARSNLNYQDLVRGFPEEISPNVEMITLIDSDVESFLVHKMVDG ELQRGTLSKVAIIAMIVFSNRVFNVSKPLTDPLFYPPSDPKILRHFNICSTMMYLSTALGDVPSFARLHDLYNRPT YYFRKQVILGNVYLSWSWSNDSVFKRVACNSSLSLSSHWRILYKIVKTRLVGSIKDLSGEVERHLHRYNRWITL NIRSRSLLDYSCLCIGYSWKPAHAKTIV

Примечания: XXXXXX – иммуногенные эпитопы (при условии 100 % идентичности)*; XXXXXX – сайты N-гликозилирования; XXXXXX – сайты O-гликозилирования; XXXXXX – сигнальные пептиды; XXXXXX – трансмембранные домены.

* Для большинства иммуногенных эпитопов в аминокислотных последовательностях вирусов бешенства 1-го генотипа (классического бешенства) уровень гомологии составляет 88–100 %.

Notes: XXXXXX – immunogenic epitopes (provided 100% identity)*; XXXXXX – N-glycosylation sites; XXXXXX – O-glycosylation sites; XXXXXX – signal peptides; XXXXXX – transmembrane domains.

* For most immunogenic epitopes in the amino acid sequences of rabies viruses of the 1st genotype (classical rabies) the homology level is 88–100%.

за конформационных изменений в общей структуре белка [24]. Большинство конформационных эпитопов белка N, напротив, отличаются высокой консервативностью у различных штаммов вируса бешен-

ства и родственных лиссавирусов, однако антитела к этим эпитопам не обладают нейтрализующим действием, ввиду чего отдельные эпитопы белка N используются для создания вакцинных конструкций

Таблица 3 / Table 3

 Физико-химические свойства протеинов вируса бешенства
 Physico-chemical properties of rabies virus proteins

Название Name	Молекулярная масса, г/моль Molecular weight, g/mol	Коэффициент экстинкции, $M^{-1} \times cm^{-1}$ Extinction coefficient, $M^{-1} \times cm^{-1}$	Суммарный заряд при нейтральном pH Total charge at neutral pH	Изоэлектрическая точка, pH Isoelectric point, pH	Растворимость в воде Solubility in water
G (505 а.о.) / (505 a.r.)	58534,77	78660	0,7	7,12	Плохая Poor
N (450 а.о.) / (450 a.r.)	50604,93	43950	-5,2	6,15	Хорошая Good
M (202 а.о.) / (202 a.r.)	23157	40540	-1	6,36	Хорошая Good
P (297 а.о.) / (297 a.r.)	33165,91	24750	-10,8	4,69	Хорошая Good
L (2142 а.о.) / (2142 a.r.)	244484	319900	18,6	8,06	Плохая Poor

существенно реже [25]. Роль обнаруженных вариативных эпитопов белков М, Р и L в транскрипции и репликации вируса до сих пор не ясна, однако известно, что антитела к данным эпитопам могут быть использованы в дифференциации штаммов вируса бешенства и, как следствие, в разработке профилактических препаратов [24].

На наш взгляд, наиболее перспективными для конструирования антирабических вакцин являются фрагменты гликопротеина в позициях с 29-го по 158-й а.о. и с 205-го по 378-й а.о., так как в них сосредоточено наибольшее количество спрогнозированных иммуногенных эпитопов. Для этого необходимо осуществлять подбор различных комбинаций данных эпитопов и анализ прототипных конструкций с применением методов структурной и функциональной протеомики. Решение проблемы достижения протективного антирабического иммунитета однократной иммунизацией, столь актуальной для эндемичных по бешенству стран, возможно путем подбора безопасных векторных систем, способных обеспечить длительную (до нескольких месяцев) экспрессию трансгенов в клетках организма-хозяина и, таким образом, формировать полноценный иммунный ответ.

Вышеизложенное подчеркивает необходимость дальнейшего анализа нейтрализующих антигенных участков. Подобные исследования приведут к более целенаправленному подходу в новой парадигме разработки вакцин с гарантированной стабильностью против мутационных изменений вирусных штаммов.

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

Финансирование. Исследование выполнено в рамках темы НИР 04.10.2021.03/03.4-2.

Список литературы

1. Taylor L.H., Hampson K., Fahrion A., Abela-Ridder B., Nel L.H. Difficulties in estimating the human bur-

den of canine rabies. *Acta Trop.* 2017; 165:133–40. DOI: 10.1016/j.actatropica.2015.12.007.

2. Hampson K., Coudeville L., Lembo T., Sambo M., Kieffer A., Atlan M., Barrat J., Blanton J.D., Briggs D.J., Cleaveland S., Costa P., Freuling C.M., Hiby E., Knopf L., Leanes F., Meslin F.-X., Metlin A., Miranda M.E., Müller T., Nel L.H., Recuenco S., Rupprecht C.E., Schumacher C., Taylor L., Vigilato M.A.N., Zinsstag J., Dushoff J. Global alliance for rabies control partners for rabies prevention. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(4):e0003709. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003709.

3. Ghai S., Hemachudha T. Continued failure of rabies elimination – Consideration of challenges in applying the one health approach. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9:847659. DOI: 10.3389/fvets.2022.847659.

4. Kessels J., Tarantola A., Salahuddin N., Blumberg L., Knopf L. Rabies post-exposure prophylaxis: A systematic review on abridged vaccination schedules and the effect of changing administration routes during a single course. *Vaccine.* 2019; 37 Suppl 1:A107–A117. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.01.041.

5. Елаков А.Л. Антирабические вакцины, применяемые в Российской Федерации, и перспективы их совершенствования. *Вопросы вирусологии.* 2022; 67(2):107–14. DOI: 10.36233/0507-4088-102.

6. Метлин А.Е. Современные аспекты классификации лисса-вирусов. *Ветеринария сегодня.* 2017; 3:52–7.

7. Seif I., Coulon P., Rollin P.E., Flamand A. Rabies virulence: effect on pathogenicity and sequence characterization of rabies virus mutations affecting antigenic site III of the glycoprotein. *J. Virol.* 1985; 53(3):926–34. DOI: 10.1128/JVI.53.3.926-934.1985.

8. Prehaud C., Coulon P., LaFay F., Thiers C., Flamand A. Antigenic site II of the rabies virus glycoprotein: structure and role in viral virulence. *J. Virol.* 1988; 62(1):1–7. DOI: 10.1128/JVI.62.1.1-7.1988.

9. Hicks D.J., Fooks A.R., Johnson N. Development in rabies vaccine. *Clin. Exp. Immunol.* 2012; 169(3):199–204. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2012.04592.x.

10. Abedi M., Haftcheshmeh S.M., Bashari R., Kesharwani P., Samadi M., Sahebkar A. Rabies vaccine: Recent update and comprehensive review of *in vitro* and *in vivo* studies. *Process Biochem.* 2023; 124:201–20. DOI: 10.1016/j.procbio.2022.11.011.

11. Смолоногова Т.А., Исакова-Сивак И.Н., Котомина Т.С., Евсина А.С., Степанова Е.А., Прокопенко П.И., Леонтьева Г.Ф., Суворов А.Н., Руденко Л.Г. Конструирование векторной вакцины на основе холодо-адаптированного вируса гриппа для защиты от бактериальной инфекции, вызываемой стрептококками группы В. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология.* 2019; 37(1):25–34. DOI: 10.17116/molgen2019370125.

12. Буданова А.А., Шуковская Т.Н. Исследования *in silico* на этапах конструирования современных средств иммунопрофилактики чумы (на примере субединичных вакцин). *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 3:6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-6-13.

13. Мима К.А., Каторкина Е.И., Каторкин С.А., Цыбанов С.Ж., Малооголовкин А.С. *In silico* идентификация В- и Т-клеточных эпитопов белка CD2v вируса африканской чумы свиней (*African swine fever virus, Asfivirus, Asfarviridae*). *Вопросы вирусологии.* 2020; 65(2):103–12. DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-103-112.

14. Дятлова В.И. Применение методов обратной вакцинологии для разработки вакцин против бруцеллеза. *Бактериология.* 2021; 6(4):16–29. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-4-16-29.

15. Bayat A. Science, medicine and the future: Bioinformatics. *BMJ*. 2002; 324(7344):1018–22. DOI: 10.1136/bmj.324.7344.1018.
16. Nandy A., Basak S.C. Bioinformatics in design of antiviral vaccines. In: Encyclopedia of Biomedical Engineering. 2018; 1-3:280–90. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.10878-5.
17. Brochier B., Kieny M.P., Costy F., Coppens P., Bauduin B., Lecocq J.P., Languet B., Chappuis G., Desmettre P., Afiademanyo K. Large-scale eradication of rabies using recombinant vaccinia-rabies vaccine. *Nature*. 1991; 354(6354):520–2. DOI: 10.1038/354520a0.
18. Pastoret P.P., Brochier B. The development and use of a vaccinia-rabies recombinant oral vaccine for the control of wildlife rabies; a link between Jenner and Pasteur. *Epidemiol. Infect.* 1996; 116(3):235–40. DOI: 10.1017/s0950268800052535.
19. Drings A., Jallet C., Chambert B., Tordo N., Perrin P. Is there an advantage for including the nucleoprotein in a rabies glycoprotein subunit vaccine? *Vaccine*. 1999; 17(11-12):1549–57. DOI: 10.1016/s0264-410x(98)00357-0.
20. Lodmell D.L., Sumner J.W., Esposito J.J., Bellini W.J., Ewalt L.C. Raccoon poxvirus recombinants expressing the rabies virus nucleoprotein protects mice against lethal rabies virus infection. *J. Virol.* 1991; 65(6):3400–5. DOI: 10.1128/JVI.65.6.3400-3405.1991.
21. Ertl H.C.J. New rabies vaccines for use in humans. *Vaccines (Basel)*. 2019; 7(2):54. DOI: 10.3390/vaccines7020054.
22. Niu Y., Liu Y., Yang L., Qu H., Zhao J., Hu R., Li J., Liu W. Immunogenicity of multi-epitope-based vaccine candidates administered with adjuvant Gp96 against rabies. *Virol. Sin.* 2016; 31(2):168–75. DOI: 10.1007/s12250-016-3734-4.
23. Odhar H.A., Hashim A.F., Humadi S.S., Ahjel S.W. Design and construction of multi epitope-peptide vaccine candidate for rabies virus. *Bioinformation*. 2023; 19(2):167–77. DOI: 10.6026/97320630019167.
24. Shi C., Sun P., Yang P., Liu L., Tian L., Liu W., Wang M., Zheng X., Zheng W. Research progress on neutralizing epitopes and antibodies for the Rabies virus. *Infectious Medicine*. 2022; 1(4):262–71. DOI: 10.1016/j.imj.2022.09.003.
25. Goto H., Minamoto N., Ito H., Ito N., Sugiyama M., Kinjo T., Kawai A. Mapping of epitopes and structural analysis of antigenic sites in the nucleoprotein of rabies virus. *J. Gen. Virol.* 2000; 81(Pt. 1):119–27. DOI: 10.1099/0022-1317-81-1-119.
11. Smolnogina T.A., Isakova-Sivak I.N., Kotomina T.S., Evsina A.S., Stepanova E.A., Prokopenko P.I., Leontieva G.F., Suvorov A.N., Rudenko L.G. [Generation of a vector vaccine against group B streptococcal infection on the base of a cold-adapted influenza A virus]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2019; 37(1):25–34. DOI: 10.17116/molgen201937012512.
12. Budanova A.A., Shchukovskaya T.N. [In silico research at the stages of designing modern means for prevention of plague (by the example of subunit vaccines)]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):6–13. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-6-13.
13. Mima K.A., Katorkina E.I., Katorkin S.A., Tsybanov S.Zh., Malogolovkin A.S. [In silico prediction of B- and T-cell epitopes in the CD2v protein of african swine fever virus (African swine fever virus, *Asfarviridae*)]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2020; 65(2):103–12. DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-2-103-112.
14. Dyatlova V.I. [Application of reverse vaccinology methods for the development of new vaccines against brucellosis]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2021; 6(4):16–29. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-4-16-29.
15. Bayat A. Science, medicine and the future: Bioinformatics. *BMJ*. 2002; 324(7344):1018–22. DOI: 10.1136/bmj.324.7344.1018.
16. Nandy A., Basak S.C. Bioinformatics in design of antiviral vaccines. In: Encyclopedia of Biomedical Engineering. 2018; 1-3:280–90. DOI: 10.1016/B978-0-12-801238-3.10878-5.
17. Brochier B., Kieny M.P., Costy F., Coppens P., Bauduin B., Lecocq J.P., Languet B., Chappuis G., Desmettre P., Afiademanyo K. Large-scale eradication of rabies using recombinant vaccinia-rabies vaccine. *Nature*. 1991; 354(6354):520–2. DOI: 10.1038/354520a0.
18. Pastoret P.P., Brochier B. The development and use of a vaccinia-rabies recombinant oral vaccine for the control of wildlife rabies; a link between Jenner and Pasteur. *Epidemiol. Infect.* 1996; 116(3):235–40. DOI: 10.1017/s0950268800052535.
19. Drings A., Jallet C., Chambert B., Tordo N., Perrin P. Is there an advantage for including the nucleoprotein in a rabies glycoprotein subunit vaccine? *Vaccine*. 1999; 17(11-12):1549–57. DOI: 10.1016/s0264-410x(98)00357-0.
20. Lodmell D.L., Sumner J.W., Esposito J.J., Bellini W.J., Ewalt L.C. Raccoon poxvirus recombinants expressing the rabies virus nucleoprotein protects mice against lethal rabies virus infection. *J. Virol.* 1991; 65(6):3400–5. DOI: 10.1128/JVI.65.6.3400-3405.1991.
21. Ertl H.C.J. New rabies vaccines for use in humans. *Vaccines (Basel)*. 2019; 7(2):54. DOI: 10.3390/vaccines7020054.
22. Niu Y., Liu Y., Yang L., Qu H., Zhao J., Hu R., Li J., Liu W. Immunogenicity of multi-epitope-based vaccine candidates administered with adjuvant Gp96 against rabies. *Virol. Sin.* 2016; 31(2):168–75. DOI: 10.1007/s12250-016-3734-4.
23. Odhar H.A., Hashim A.F., Humadi S.S., Ahjel S.W. Design and construction of multi epitope-peptide vaccine candidate for rabies virus. *Bioinformation*. 2023; 19(2):167–77. DOI: 10.6026/97320630019167.
24. Shi C., Sun P., Yang P., Liu L., Tian L., Liu W., Wang M., Zheng X., Zheng W. Research progress on neutralizing epitopes and antibodies for the Rabies virus. *Infectious Medicine*. 2022; 1(4):262–71. DOI: 10.1016/j.imj.2022.09.003.
25. Goto H., Minamoto N., Ito H., Ito N., Sugiyama M., Kinjo T., Kawai A. Mapping of epitopes and structural analysis of antigenic sites in the nucleoprotein of rabies virus. *J. Gen. Virol.* 2000; 81(Pt. 1):119–27. DOI: 10.1099/0022-1317-81-1-119.

References

1. Taylor L.H., Hampson K., Fahrion A., Abela-Ridder B., Nel L.H. Difficulties in estimating the human burden of canine rabies. *Acta Trop.* 2017; 165:133–40. DOI: 10.1016/j.actatropica.2015.12.007.
2. Hampson K., Coudeville L., Lembo T., Sambo M., Kieffer A., Attlan M., Barrat J., Blanton J.D., Briggs D.J., Cleaveland S., Costa P., Freuling C.M., Hiby E., Knopf L., Leanes F., Meslin F.-X., Metlin A., Miranda M.E., Müller T., Nel L.H., Recuenco S., Rupprecht C.E., Schumacher C., Taylor L., Vigilato M.A.N., Zinsstag J., Dushoff J. Global alliance for rabies control partners for rabies prevention. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(4):e0003709. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003709.
3. Ghai S., Hemachudha T. Continued failure of rabies elimination—Consideration of challenges in applying the one health approach. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9:847659. DOI: 10.3389/fvets.2022.847659.
4. Kessels J., Tarantola A., Salahuddin N., Blumberg L., Knopf L. Rabies post-exposure prophylaxis: A systematic review on abridged vaccination schedules and the effect of changing administration routes during a single course. *Vaccine*. 2019; 37 Suppl 1:A107–A117. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.01.041.
5. Elakov A.L. [Anti-rabies vaccines applied in the Russian Federation and perspectives for their improvement]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2022; 67(2):107–14. DOI: 10.36233/0507-4088-102.
6. Metlin A.E. [Modern aspects of Lyssavirus classification]. *Veterinariya Segodnya [Veterinary Science Today]*. 2017; (3):52–7.
7. Seif I., Coulon P., Rollin P.E., Flamand A. Rabies virulence: effect on pathogenicity and sequence characterization of rabies virus mutations affecting antigenic site III of the glycoprotein. *J. Virol.* 1985; 53(3):926–34. DOI: 10.1128/JVI.53.3.926-934.1985.
8. Prehaud C., Coulon P., LaFay F., Thiers C., Flamand A. Antigenic site II of the rabies virus glycoprotein: structure and role in viral virulence. *J. Virol.* 1988; 62(1):1–7. DOI: 10.1128/JVI.62.1.1-7.1988.
9. Hicks D.J., Fooks A.R., Johnson N. Development in rabies vaccine. *Clin. Exp. Immunol.* 2012; 169(3):199–204. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2012.04592.x.
10. Abedi M., Haftcheshmeh S.M., Bashar R., Kesharwani P., Samadi M., Sahebkar A. Rabies vaccine: Recent update and comprehensive review of *in vitro* and *in vivo* studies. *Process Biochem.* 2023; 124:201–20. DOI: 10.1016/j.procbio.2022.11.011.

Authors:

Galeeva A.G., Khammatov N.I. Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety. Nauchny Gorodok-2, Kazan, 420075, Russian Federation. E-mail: vnivi@mail.ru.

Efimova M.A. Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety; Nauchny Gorodok-2, Kazan, 420075, Russian Federation; e-mail: vnivi@mail.ru. Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman; 35, Sibirsky Trakt St., Kazan, 420029, Russian Federation; e-mail: kgavm_baumana@mail.ru.

Об авторах:

Галеева А.Г., Хаммадов Н.И. Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности. Российская Федерация, 420075, Казань, Научный городок-2. E-mail: vnivi@mail.ru.

Ефимова М.А. Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности; Российская Федерация, 420075, Казань, Научный городок-2; e-mail: vnivi@mail.ru. Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана; Российская Федерация, 420029, Казань, ул. Сибирский Тракт, 35; e-mail: kgavm_baumana@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-73-79

УДК 616.932:579.222

О.В. Дуванова, О.А. Подойницына, Р.В. Писанов, С.О. Водопьянов, А.С. Водопьянов, Е.С. Шипко, В.Д. Кругликов, О.С. Чемисова, А.К. Носков

Алкилсульфатаза холерных вибрионов

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

Цель работы – изучение структуры гена алкилсульфатазы (*asu*) у штаммов *Vibrio cholerae* различных серогрупп, а также сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей алкилсульфатаз с использованием различных методов биоинформационного анализа. **Материалы и методы.** В работе использовали 483 штамма *V. cholerae* серогрупп O1, O139 и nonO1/nonO139. Поиск гена, его копийность и локализацию проводили с помощью программы Blast. Нуклеотидную и соответствующую аминокислотную последовательности гена, а также его структуру изучали с помощью биоинформационного анализа. Секвенирование проводили на платформе MiSeq (Illumina). Ферментативную активность детектировали с использованием среды, подтверждая наличие/отсутствие гена методом ПЦР *in vitro* и *in silico*. **Результаты и обсуждение.** Проведен биоинформационный анализ нуклеотидной и соответствующей аминокислотной последовательностей гена *asu* и изучена его структура. В структуре гена выявлено четыре функциональных домена. В бета-лактамазном домене обнаружена консервативная аминокислотная последовательность -НАНАДН- у всех штаммов холерных вибрионов, входящая в Zn^{2+} -связывающий мотив. Установлено, что алкилсульфатаза холерных вибрионов относится к семейству Zn^{2+} -зависимых- β -лактамаз. Blast-анализ выявил сходство нуклеотидных и аминокислотных последовательностей алкилсульфатаз представителей *V. cholerae* серогрупп O1 и O139 (*ctxAB⁺tcpA⁺*) с представителями родов *Aeromonas* и *Pseudomonas*, что совпало с данными 3D-моделирования структур аминокислотных последовательностей фермента алкилсульфатазы у этих микроорганизмов. Биоинформационный анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей алкилсульфатаз у холерных вибрионов выявил их консервативность у токсигенных штаммов и наличие ряда единичных мутаций в гене *asu* у атоксигенных. Наличие или отсутствие гена *asu* установлено методом ПЦР *in vitro* и *in silico* и подтверждено результатами, полученными с помощью программы Blast. Промоделировано, что наличие/отсутствие гена *asu* коррелирует со способностью/неспособностью штаммов O139-серогруппы гидролизовать додецилсульфат натрия (SDS) на среде. Эти данные могут быть использованы в изучении механизмов, лежащих в основе адаптации/персистенции и патогенности холерных вибрионов.

Ключевые слова: холерный вибрион, ген алкилсульфатазы (*asu*), додецилсульфат натрия (SDS).

Корреспондирующий автор: Дуванова Ольга Викторовна, e-mail: olga_duvanova@mail.ru.

Для цитирования: Дуванова О.В., Подойницына О.А., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Шипко Е.С., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., Носков А.К. Алкилсульфатаза холерных вибрионов. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 3:73–79. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-73-79
Поступила 06.02.2023. Отправлена на доработку 20.02.2023. Принята к публ. 22.02.2023.

O.V. Duvanova, O.A. Podoinitsyna, R.V. Pisanov, S.O. Vodop'yanov, A.S. Vodop'yanov, E.S. Shipko, V.D. Kruglikov, O.S. Chemisova, A.K. Noskov

Alkyl Sulfatase of Cholera Vibrios

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

Abstract. The aim of the work was to study the structure of the alkyl sulfatase (*asu*) gene in *Vibrio cholerae* strains of various serogroups, as well as to compare nucleotide and amino acid sequences of alkyl sulfatases using various methods of bioinformatic analysis. **Materials and methods.** 483 strains of *V. cholerae* O1, O139 and nonO1/nonO139 serogroups were employed in the work. The search for the gene, its recurrence, and localization was carried out applying the Blast software. The nucleotide and corresponding amino acid sequences of the gene, as well as its structure, were studied using bioinformatic analysis. Sequencing was performed on the MiSeq (Illumina) platform. The enzymatic activity was detected using a medium, confirming the presence/absence of the gene by PCR *in vitro* and *in silico*. **Results and discussion.** Bioinformatic analysis of the nucleotide and corresponding amino acid sequences of the *asu* gene has been carried out and its structure investigated. Four functional domains have been identified. In the beta-lactamase domain, a conservative amino acid sequence -НАНАДН- has been found in all strains of cholera vibrios, which is part of the Zn^{2+} binding motif. It has been established that the alkyl sulfatase of cholera vibrios belongs to the family of Zn^{2+} -dependent β -lactamases. Blast analysis has revealed the similarity of nucleotide and amino acid sequences of alkyl sulfatases in representatives of *V. cholerae* O1 and O139 serogroups (*ctxAB⁺tcpA⁺*) and representatives of the genera *Aeromonas* and *Pseudomonas*, which is in the line with the data of 3D modeling of the amino acid sequence structures of the alkyl sulfatase enzyme in these microorganisms. The bioinformatic analysis of nucleotide and amino acid sequences of alkyl sulfatases in cholera vibrios has showed the conservativeness of these sequences in toxigenic strains and the presence of a number of single mutations in the *asu* gene in atoxigenic ones. The presence or absence of the *asu* gene has been established by PCR *in vitro* and *in silico* and confirmed by the results obtained using the Blast program. It is demonstrated that the presence/absence of the *asu* gene correlates with the ability/inability of O139 strains to hydrolyze SDS on the medium. These results can be used in studying mechanisms of cholera vibrios adaptation, persistence and pathogenicity.

Key words: cholera vibrio, alkyl sulfatase (*asu*) gene, sodium dodecylsulfate (SDS).

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Olga V. Duvanova, e-mail: olga_duvanova@mail.ru.

Citation: Duvanova O.V., Podoinitsyna O.A., Pisanov R.V., Vodop'yanov S.O., Shipko E.S., Kruglikov V.D., Chemisova O.S., Noskov A.K. Alkyl Sulfatase of Cholera Vibrios. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:73–79. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-73-79

Received 06.02.2023. Revised 20.02.2023. Accepted 22.02.2023.

Duvanova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1702-1620>
Podoinitsyna O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9996-4189>
Pisanov R.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>
Vodop'yanov S.O., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4336-0439>
Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>

Shipko E.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8517-2789>
Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>
Chemisova O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Развитие цивилизации сопровождается неизбежным загрязнением окружающей среды. Целевое назначение поверхностно-активных веществ (ПАВ) обуславливает попадание значительного их объема в сточные, грунтовые воды, поверхностные водоемы, а также почву, где они могут аккумулироваться в пищевых цепях, оказывая неблагоприятное воздействие на живые организмы. В окружающей среде ксенобиотики могут воздействовать на генетический аппарат организмов, вызывать их гибель, нарушать равновесие природных процессов в биосфере. Изучение путей их деструкции с помощью микроорганизмов чрезвычайно важно для организации санитарно-гигиенических мероприятий и мер по охране природы, что на сегодняшний день является приоритетным направлением политики, проводимой в Российской Федерации. Биологическая деструкция ПАВ, включая лаурилсульфат (додецилсульфат) натрия (SDS), микроорганизмами является объектом пристального внимания российских и зарубежных исследователей [1–3].

Для холерных вибрионов характерна высокая адаптационная пластичность, которая связана с их жизненным циклом (lifestyle) и функционированием ферментативного комплекса, участвующего в деструкции ПАВ, в состав которого входит фермент – алкилсульфатаза (алкилсульфогидролаза), относящийся к классу гидролаз и действующий на сульфозфирные связи алкилсульфатов. В результате гидролиза сульфозфирной связи образуется неорганический сульфат и высший (первичный) спирт додеканол-1. Алкилсульфатаза обнаружена у эукариотических, прокариотических организмов, грибов. Известно, что этот фермент выполняет важную роль в метаболизме клеток и патогенезе [4]. Отмечена его значительная роль в превращениях соединений, содержащих серу, а следовательно, в круговороте этого жизненно важного элемента в природе. SDS, используемый в качестве субстрата алкилсульфатаз, может использоваться в качестве единственного источника углерода, наделяя микроорганизмы дополнительными преимуществами в выживании в различных экосистемах [5, 6].

Принимая во внимание существование у холерного вибриона группы ферментов, участвующих в утилизации ПАВ, постоянно присутствующих в объектах окружающей среды, и в связи с возрастающим антропогенным воздействием перспективными

являются исследования ферментов-деструкторов, включая алкилсульфатазу холерных вибрионов, сведения о которой в настоящее время фрагментарны. Ранее установлено, что холерные вибрионы способны гидролизовать SDS. Исключение составляют полностью лишенные этой способности атоксигенные водные штаммы O139-серогруппы. Однако до настоящего времени исследования алкилсульфатазной активности *Vibrio cholerae* проводились лишь по фенотипу с детекцией гена, ответственного за ее проявление [7], вне связи с изучением его структуры. **Целью** исследования явилось изучение структуры гена алкилсульфатазы (*asu*) у штаммов *V. cholerae* различных серогрупп, а также сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей алкилсульфатаз с использованием различных методов биоинформационного анализа.

Материалы и методы

В работе использовали 483 штамма *V. cholerae* различных серогрупп и разной токсигенности.

Способность вибрионов гидролизовать SDS изучали на ранее сконструированной среде [8]. Использовали 43 штамма *V. cholerae cholerae* O1 и El Tor биоваров (*ctxAB⁺tcpA⁺*; *ctxAB⁺tcpA⁺*; *ctxAB⁺tcpA⁺*), выделенных из различных источников; 42 штамма *V. cholerae* O139-серогруппы, выделенных из клинического материала (17 *ctxAB⁺tcpA⁺*), и 25 (*ctxAB⁺tcpA⁺*) – из воды поверхностных водоемов (рек: Дон, Темерник, Москва, Ока, Обь, Иня); 24 штамма *V. cholerae* nonO1/nonO139-серогрупп, выделенных из клинического материала (*ctxAB⁺tcpA⁺*; *ctxAB⁺tcpA⁺*; *ctxAB⁺tcpA⁺*), и 6 штаммов *ctxAB⁺tcpA⁺*, выделенных из рыб Азовского моря в 2011 г. Наличие/отсутствие гена алкилсульфатазы (*asu*) выявляли методом ПЦР *in vitro* [7] и *in silico*, используя программу Virtual PCR [9].

Полногеномное секвенирование 463 штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139 (*ctxAB⁺tcpA⁺*; *ctxAB⁺tcpA⁺*; *ctxAB⁺tcpA⁺*), выделенных из различных источников в период с 1974 по 2022 г. и полученных из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» Ростовского-на-Дону противочумного института, проведено в 2019–2022 гг. на платформе MiSeq (Illumina) с использованием набора Nextera DNA Flex, картридж на 500 циклов. Проверка качества ридов проводилась с помощью программы FastQC [10]. Для очистки ридов использовали программу для

филтрации данных Trimmomatic [11], сборка осуществлялась *de novo* программой-сборщиком SPAdes (v.3.11.1) [12]. Поиск гена алкилсульфатазы, определение его копийности и локализации у исследуемых штаммов проводили с помощью программы blastn 2.5.0 (нуклеотидный BLAST – Basic local alignment search tool) [13]. В ходе анализа была создана база данных, содержащая все исследуемые штаммы, а в качестве запроса задана нуклеотидная последовательность алкилсульфатазы *V. cholerae* N16961. Множественное выравнивание для гена алкилсульфатазы реализовано с использованием программы mafft [14]. Построение филогенетических деревьев осуществляли с помощью FastTree [15].

3D-моделирование структуры фермента алкилсульфатазы штаммов *V. cholerae* El Tor 16961, *Pseudomonas aeruginosa* 2019CK-00034, *Aeromonas jandaei* Aer_On5M осуществляли с использованием веб-ресурса SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org>).

Анализ филогенетического распределения аминокислотной последовательности алкилсульфатазы у 463 секвенированных штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139 осуществляли с помощью программы Cytoscape [16].

Сравнение нуклеотидной и аминокислотной последовательностей проводили среди 11 штаммов *V. cholerae* O1, 9 штаммов *V. cholerae* O139, 1 штамма *V. cholerae* nonO1/nonO139-серогрупп (*ctxAB⁺tcpA⁺*/*ctxAB⁻tcpA⁻*). Также в исследование были взяты нуклеотидные последовательности штаммов *V. cholerae* O139 из базы данных NCBI: FC1817, FC2271, FC2273, FC1877 (*ctxAB⁺tcpA⁺*). Номер проекта PRJNA385889 и нуклеотидные последовательности штаммов *V. cholerae* O139: 4295STDY6534200 (*ctxAB⁻tcpA⁻*), RIMD 2214315 (*ctxAB⁻tcpA⁻*).

Для сравнения аминокислотной последовательности алкилсульфатазы *V. cholerae* серогрупп O1 и O139 (*ctxAB⁺tcpA⁺*) с таковой у других видов бактерий из базы данных NCBI взяты: *Caulobacter crescentus* CB15, *Pseudomonas aeruginosa* PA01, *Mycobacterium tuberculosis* CDC1551, *M. tuberculosis* H37Rv, *Escherichia coli* K12 (NP_313093.2), *E. coli* EDL933, *E. coli* (NP_418507.1), *Saccharomyces cerevisiae* S288C (NP_014478.1), MBL fold metallo-hydrolase *Aeromonas jandaei* FDAARGOS 986. В качестве референса рассматривалась последовательность гена алкилсульфатазы штамма *V. cholerae* N16961.

Результаты и обсуждение

Обнаружено, что в базе данных NCBI указаны штаммы холерных вибрионов, у которых нуклеотидная последовательность гена алкилсульфатазы располагалась на второй хромосоме, однако нами определено, что хромосома, обозначенная в таких случаях как вторая, на самом деле таковой не являлась. Рассмотрены три атоксигенных штамма: *V. cholerae* strain Env-390 chromosome 2 (номер в

базе данных NCBI CP013014.1), *V. cholerae* strain 2012Env-9 chromosome 2 (NCBI CP012998.1), *V. cholerae* strain GXFL1-4 chromosome 2 (NCBI CP090387.1), для которых ген алкилсульфатазы обнаружен на второй хромосоме. Также изучены два токсигенных штамма – *V. cholerae* O395 (номер в базе данных NCBI CP045719.1) и *V. cholerae* strain ICDC-VC661 (NCBI CP012667.1) – с такой же особенностью. Несмотря на то, что хромосома, несущая последовательность гена алкилсульфатазы, у пяти рассматриваемых штаммов была обозначена в базе данных как вторая, но соответствовала размеру около 3 Mb, содержала ген коллагеназы (*VC1650*), располагающийся на первой хромосоме, а также остров патогенности VPI-I и профаг ϕ CTX (только для токсигенных штаммов). Указанные гены всегда располагаются на большей хромосоме холерных вибрионов. Таким образом, установлено, что ген, отвечающий за продукцию алкилсульфатазы, расположен на первой хромосоме.

Информация о алкилсульфатазе *V. cholerae* O1 El Tor N16961 содержится в GenBank под номером AWA79104.1. Кодированный ее ген *VC0783* находится на первой (большей) хромосоме, обеспечивая образование продукта в 660 аминокислотных остатков.

Проведенное сравнение нуклеотидных последовательностей, кодирующих алкилсульфатазу, среди представителей токсигенных и нетоксигенных секвенированных штаммов *V. cholerae*, относящихся к серогруппам O1, O139 и nonO1/nonO139, выявило, что гену алкилсульфатазы токсигенных штаммов как O1, так и O139-серогруппы свойственна высокая степень консервативности.

В сравниваемой группе, состоящей из двадцати штаммов, одиннадцать относились к токсигенным и являлись представителями как O1, так и O139-серогруппы. У всех одиннадцати нуклеотидная последовательность алкилсульфатазы была на 100 % идентичной. На рис. 1 эта группа штаммов образовала кластер, выделенный желтым цветом. У атоксигенных штаммов O1-серогруппы, а также у nonO1/nonO139 и R-вариантов в гене алкилсульфатазы присутствовали единичные нуклеотидные замены, от 13 до 22 нуклеотидов у разных штаммов. Часть замен были синонимичны и не вносили изменений в аминокислотную последовательность. Вместе с тем обнаружены два единичных нуклеотидных полиморфизма, находящихся в позиции 77 и 275 и ведущих к изменению двух аминокислот (26-й и 92-й), при этом у алкилсульфатазы всех токсигенных штаммов в данных участках расположены изолейцин и лейцин соответственно, а у всех нетоксигенных штаммов вследствие замен T77C и T275G образуются треонин и аргинин. Помимо этих двух отличий между алкилсульфатазами токсигенных и атоксигенных вибрионов, в группе атоксигенных штаммов встречались и другие аминокислотные замены, количество которых отличалось от штамма к штамму и составляло один, три, либо четыре SNP.

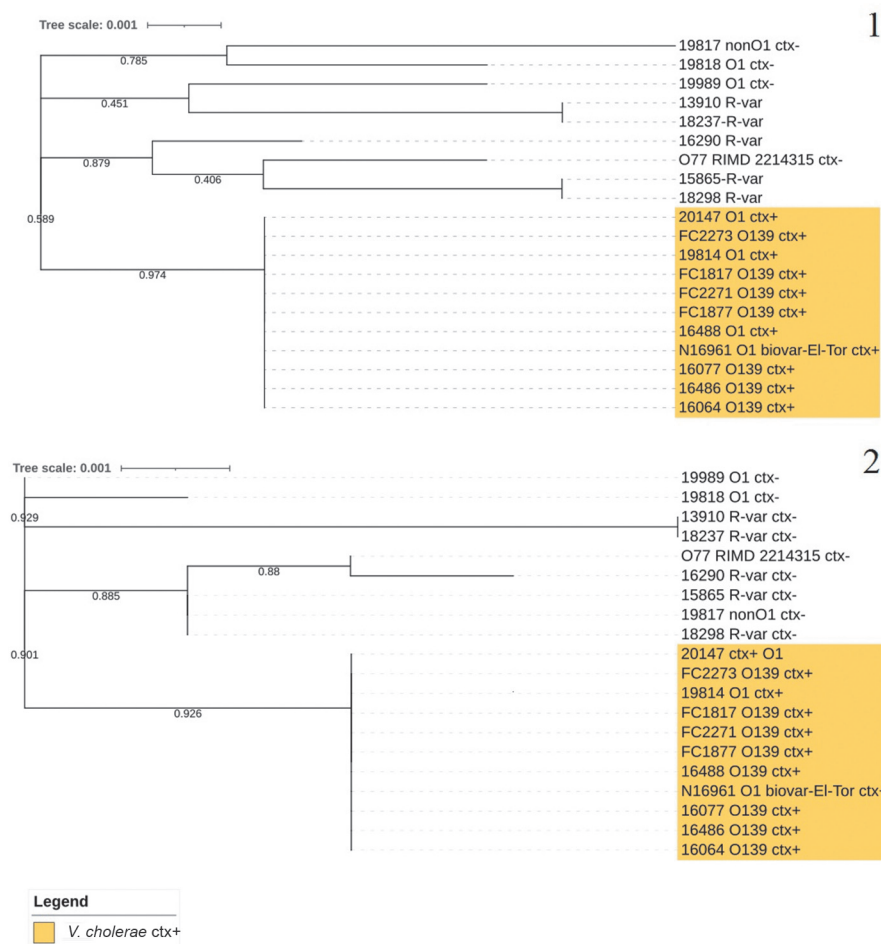


Рис. 1. Дендрограмма с представленными нуклеотидными (1) и аминокислотными (2) последовательностями штаммов:

V. cholerae серогрупп O1, O139 и nonO1/nonO139 (*ctxAB*⁺*tcpA*⁺/*ctxAB**tcpA*⁻)

Fig. 1. Dendrogram presenting nucleotide (1) and amino acid (2) sequences of the strains:

V. cholerae O1, O139 and nonO1/nonO139 (*ctxAB*⁺*tcpA*⁺/*ctxAB**tcpA*⁻) serogroups

Проведенный биоинформационный анализ аминокислотных последовательностей алкилсульфатаз у холерных вибрионов различных серогрупп выявил разделение исследованных токсигенных и атоксигенных штаммов *V. cholerae* серогрупп O1, O139 и nonO1/nonO139 (рис. 1). Установлено, что аминокислотная последовательность алкилсульфатазы штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139 (*ctxAB*⁺*tcpA*⁺) отличалась от аминокислотной последовательности атоксигенных (*ctxAB**tcpA*⁻) штаммов серогрупп O1, nonO1/nonO139 и R-вариантов, образуя отдельный кластер, что полностью совпадает с результатами анализа их нуклеотидных последовательностей.

Согласно данным Blast-анализа, наибольшее сходство аминокислотной последовательности ал-

килсульфатазы штаммов холерных вибрионов выявлено с представителями рода *Aeromonas* (63,51 %) и *Pseudomonas* (56,83 %). При сравнении аминокислотной последовательности алкилсульфатаз у микроорганизмов, относящихся к разным таксономическим группам (*V. cholerae* серогрупп O1 и O139, *Aeromonas jandaei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Caulobacter crescentus*), удалось обнаружить наибольшее сходство между алкилсульфатазами представителей *V. cholerae* серогрупп O1, O139 с генотипом *ctxAB*⁺*tcpA*⁺, выделенных из клинического материала, и *Aeromonas jandaei* FDAARGOS 986, а также *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (рис. 2).

Для анализа аминокислотной последовательности алкилсульфатазы штаммов *V. cholerae* серогрупп

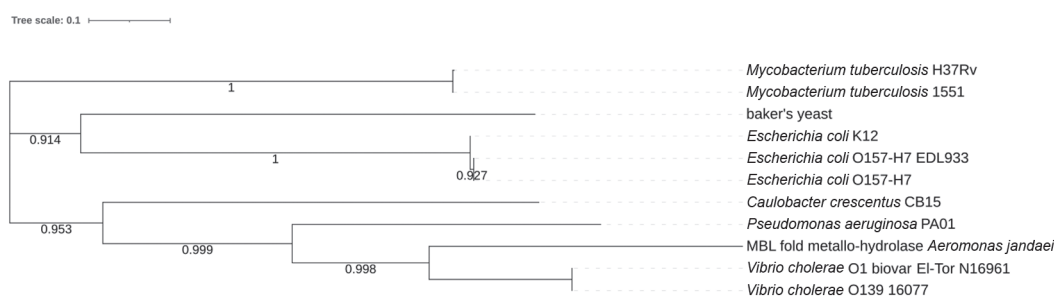


Рис. 2. Филогенетический анализ аминокислотных последовательностей штаммов *V. cholerae* серогрупп O1, O139, *Aeromonas jandaei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Caulobacter crescentus*

Fig. 2. Phylogenetic analysis of amino acid sequences in *V. cholerae* O1, O139 strains, *Aeromonas jandaei*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, *Caulobacter crescentus*

O1 и O139, выделенных из различных источников в период с 1974 по 2022 г. и полученных из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов», взяты 463 геномные последовательности штаммов, секвенированных нами в 2019–2022 гг. В результате проведенного анализа с помощью программы Cytoscape выявлено, что штаммы распределились на 4 группы: 1-я группа – 315 штаммов с генотипами *ctxAB⁺tcpA⁺/ctxAB⁻tcpA⁺*, pI 5,85 (изоэлектрическая точка), заряд молекулы -11,52, совпадающие с данными, характерными для штамма *V. cholerae* El Tor 16961; 2-я группа – 56 штаммов с генотипом *ctxAB⁻tcpA⁻*, pI 5,92, заряд молекулы -10,52; 3-я группа – 28 штаммов с генотипом *ctxAB⁻tcpA⁻*, pI 5,79, заряд молекулы -12,51; 4-я группа – 64 штамма представлены генотипом *ctxAB⁻tcpA⁻*, pI 5,92, заряд молекулы -10,79. Учитывая полученные данные, можно предположить, что 1-я группа (по аминокислотной последовательности алкилсульфатазы) холерных вибрионов O1 и O139, в которую вошло 315 штаммов с генотипом *ctxAB⁺tcpA⁺/ctxAB⁻tcpA⁺*, pI 5,85 и зарядом молекулы -11,52, по некоторым свойствам будет отличаться от алкилсульфатаз 2–4-й групп с генотипом *ctxAB⁻tcpA⁻*, проявляя при этом сходство с аминокислотной последовательностью алкилсульфатазы из штамма *V. cholerae* El Tor 16961 (рис. 3).

Анализ филогенетического распределения 463 секвенированных штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139 по структуре аминокислотной последовательности не исключает наличие у холерных вибрионов нескольких алкилсульфатаз с разными свойствами, что требует проведения дальнейших исследований.

Выполненный компьютерный анализ нуклеотидной и соответствующей аминокислотной последовательностей гена алкилсульфатазы показал, что молекулярный вес белка алкилсульфатазы штамма *V. cholerae* O1 El Tor N16961 составляет 73 kDa, pI 5,85, заряд молекулы -11,52. Следует отметить, что 3D-структура аминокислотной последовательности алкилсульфатазы штамма *V. cholerae* O1 El Tor N16961, предсказанная с помощью 3D-моделирования представляет собой димер, подобно алкилсульфатазе из штамма *Pseudomonas aeruginosa* 2019CK-00034, проявляя при этом идентичность и с 3D-структурой штамма *Aeromonas jandaei* Aer_On5M (рис. 4).

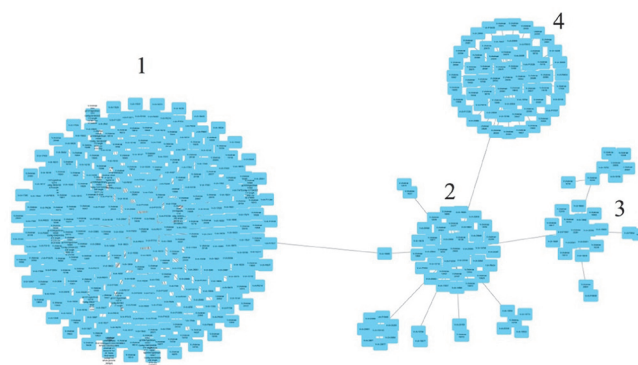


Рис. 3. Результат филогенетического распределения 463 штаммов *V. cholerae* серогрупп O1 и O139 по структуре аминокислотной последовательности алкилсульфатазы.

1 – 1-я группа штаммов с генотипами *ctxAB⁺tcpA⁺/ctxAB⁻tcpA⁺*; 2 – 2-я группа штаммов с генотипом *ctxAB⁻tcpA⁻*; 3 – 3-я группа штаммов с генотипом *ctxAB⁻tcpA⁻*; 4 – 4-я группа штаммов с генотипом *ctxAB⁻tcpA⁻*

Fig. 3. The result of phylogenetic distribution of 463 *V. cholerae* O1 and O139 strains according to the structure of the amino acid sequence of alkyl sulfatase:

1 – group I of the strains with genotypes (*ctxAB⁺tcpA⁺/ctxAB⁻tcpA⁺*); 2 – group II of strains with genotype (*ctxAB⁻tcpA⁻*); 3 – group III of the strains with genotype (*ctxAB⁻tcpA⁻*); 4 – group IV of the strains with genotype (*ctxAB⁻tcpA⁻*)

В настоящее время идентифицированы различные семейства сульфатаз: α -формилглицин-зависимые сульфатазы; сульфатазы, принадлежащие к Fe(II) α -кетоглутарат-зависимому дезоксигеназному семейству; и сульфатазы семейства металло- β -лактамаз [2]. С помощью биоинформационного анализа обнаружено, что структура гена алкилсульфатазы холерного вибриона состоит из четырех функциональных доменов: домен семейства бета-лактамаз – lactamase_B (1/1); домен PTS_EIIB фосфотрансферазной системы – phosphotransferase system, EIIB; домен SCP2 семейства стерол-трансферазы – SCP-2 sterol transfer family и домен UL42-DNA полимеразы процессирующего фактора – DNA polymerase processivity factor (UL42).

В бета-лактамазном домене как у штамма *V. cholerae* El Tor 16961, так и у 19 исследованных штаммов холерных вибрионов серогрупп O1 (*ctxAB⁺tcpA⁺*; *ctxAB⁻tcpA⁻*), O139 (*ctxAB⁺tcpA⁺*) и nonO1/nonO139 (*ctxAB⁻tcpA⁻*) обнаружена консервативная аминокислотная последовательность -НАНАДН- (рис. 5), входящая в Zn²⁺-связывающий мотив, характерный для бактериальных алкилсульфатаз, относящихся к семейству Zn²⁺-зависимых- β -лактамаз.

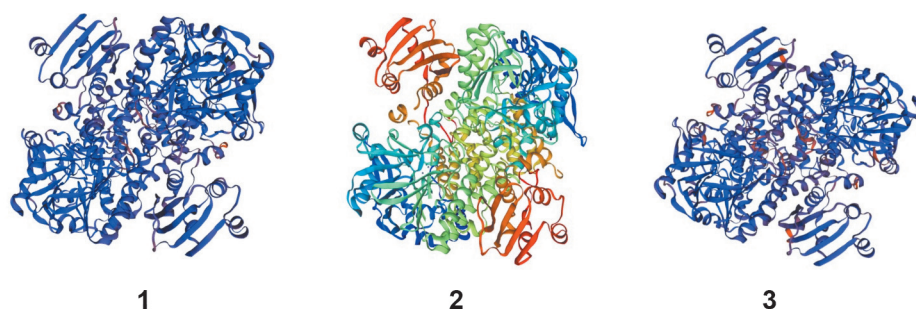


Рис. 4. 3D-структура алкилсульфатазы штаммов:

1 – *V. cholerae* El Tor 16961; 2 – *Pseudomonas aeruginosa* 2019CK-00034; 3 – *Aeromonas jandaei* Aer_On5M

Fig. 4. 3D structure of alkyl sulfatase in the strain of:

1 – *V. cholerae* El Tor 16961; 2 – *Pseudomonas aeruginosa* 2019CK-00034; 3 – *Aeromonas jandaei* Aer_On5M

1. V-ch 16064 O139 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
2. V-ch 16486 O139 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
3. V-ch 16077 O139 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
4. V-ch N16961 O1 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
5. V-ch 18237-R-var ctx-	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
6. V-ch 16488 O1 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
7. V-ch 20147 O1 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
8. V-ch 18298 R-var ctx-	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
9. V-ch R-var 13910 ctx-	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
10. V-ch 19818 O1 ctx-	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
11. V-ch strain FC1877 O139 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
12. V-ch strain FC2271 O139 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
13. V-ch 16290 R-var ctx-	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
14. V-ch strain FC1817 O139 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
15. V-ch 19814 O1 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
16. V-ch 19989 O1 ctx-	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
17. V-ch 077 RIMD 2214315 ctx-	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
18. V-ch 19817 nonO1 ctx-	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
19. V-ch 15865 R-var ctx-	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D
20. V-ch strain FC2273 O139 ctx+	L	G	E	R	P	V	K	A	V	V	S	H	A	H	A	D	H	F	G	G	V	K	G	I	V	S	Q	E	Q	V	D

Рис. 5. Выявление консервативной последовательности в составе Zn^{2+} -связывающего мотива бета-лактамазного домена у штаммов *V. cholerae* серогрупп O1, O139, nonO1/nonO139

Fig. 5. Identification of a conservative sequence in the Zn^{2+} -binding motif of the betalactamase domain in *V. cholerae* strains O1, O139, nonO1/nonO139 serogroups

В структуре бета-лактамазного домена у штамма *Pseudomonas aeruginosa* [17] был обнаружен Zn^{2+} -связывающий мотив – (THxHxDHxGG-102-E-18-AE-44-H). По данным компьютерного анализа нами выявлен сходный Zn^{2+} -связывающий мотив – (SHxHxDHxGG-102-E-17-AE-44-H) у штамма *V. cholerae* El Tor 16961. У штаммов, взятых из базы NCBI: *Pseudomonas mendocina* S5.2, *P. pseudoalcaligenes* CECT 5344, *P. alcaligenes* strain NEB 585, – данный мотив был также практически идентичен – (THxHxDHxNG-100-E-17-AE-42-H), а у *Aeromonas schubertii* ATCC 43700 он был полностью идентичен мотиву из штамма *V. cholerae* El Tor 16961 – (SHxHxDHxGG-102-E-17-AE-44-H). Полученные данные могут свидетельствовать о том, что алкилсульфатаза холерных вибрионов относится к семейству Zn^{2+} -зависимых-β-лактамаз.

Ген алкилсульфатазы впервые идентифицирован в 2009 г. в составе полного генома *V. cholerae* MJ-1236, размер нуклеотидной последовательности гена составил 1983 п.н. Для данного участка нами ранее были сконструированы праймеры, специфичность и универсальность которых была подтверждена *in silico* на штаммах *V. cholerae* M66-2, O395, *V. cholerae* O1 biovar El Tor N16961.

Сконструированные праймеры позволили выявить ген алкилсульфатазы у штаммов O1 *V. cholerae cholerae* и El Tor, nonO1/nonO139 (*ctxAB⁺tcpA⁺*; *ctxAB⁻tcpA⁺*; *ctxAB⁻tcpAB⁻*), *V. cholerae* O139-серогруппы (*ctxAB⁺tcpA⁺*) и подтвердить методами ПЦР *in vitro* и *in silico* результаты, полученные с использованием созданной нами ранее среды, с помощью которой не только удалось обнаружить алкилсульфатазу у штаммов холерных вибрионов с разными генотипами и выделенными из различных источников (клинический материал, вода поверхностных водоемов, органы рыб), но и предложить способ дифференциации токсигенных холерных вибрионов O139-серогруппы от атоксигенных [8]. Наличие/отсутствие гена алкилсульфатазы коррелировало со способностью/неспособностью штаммов O139-серогруппы гидролизовать SDS на среде. Присутствие гена *asu* подтверждено методами ПЦР *in vitro* и *in silico*, а также с помощью программы Blast.

Роль алкилсульфатазы у штаммов холерных вибрионов, выделенных из клинического материала, предстоит выяснить в дальнейшем, учитывая, что бактериальные алкилсульфатазы, осуществляя десульфатацию муцина, могут принимать участие в ремоделировании гликанов, влияя при этом на взаимодействие микро- и макроорганизмов [18].

Выявленная у холерных вибрионов разных серогрупп и генотипов способность гидролизовать SDS благодаря наличию фермента алкилсульфатазы обеспечивает штаммы источником углерода и серы, способствуя повышению их персистентного потенциала в различных экологических нишах. Некоторые холерные вибрионы с генотипом *ctxAB⁺tcpA⁺*, способные к продукции алкилсульфатазы как фермент-деструктора, возможно, могут принимать участие в биоремедиации ПАВ, присутствующих в объектах окружающей среды, обеспечивая им большую конкурентоспособность и возможность адаптации к различным условиям в связи с возрастающим антропогенным воздействием. Результаты представленных исследований структуры гена алкилсульфатазы у штаммов *Vibrio cholerae* серогрупп O1, O139 и nonO1/nonO139, а также сравнение нуклеотидных и аминокислотных последовательностей алкилсульфатаз с использованием различных методов биоинформационного анализа позволили не только получить новые данные, но и обозначить перспективы дальнейшего изучения фермента у штаммов *V. cholerae*, что будет способствовать расшифровке механизмов, лежащих в основе их адаптации/персистенции и патогенности.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Вальшев А.В., Вальшева Н.А. Разрушение анионного поверхностно-активного вещества (додецилсульфата натрия) микроорганизмами окружающей среды. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2018; 4. 4 с. [Электронный ресурс]. URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2018-4/>

Articles/VAV-2018-4.pdf (дата обращения 21.12.2022). DOI: 10.24411/2304-9081-2019-14023.

2. Sun L., Chen P., Su Y., Cai Z., Ruan L., Xu X., Wu Y. Crystal structure of thermostable alkylsulfatase SdsAP from *Pseudomonas* sp. *S9. Biosci. Rep.* 2017; 37(3):BSR20170001. DOI: 10.1042/BSR20170001.

3. Toesch M., Schober M., Faber K. Microbial alkyl- and aryl-sulfatases: mechanism, occurrence, screening and stereoselectivities. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2014; 98(4):1485–96. DOI: 10.1007/s00253-013-5438-0.

4. Hanson S.R., Best M.D., Wong C.-H. Sulfatases: structure, mechanism, biological activity, inhibition, and synthetic utility. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 2004; 43(43):5736–63. DOI: 10.1002/anie.200300632.

5. Shahbazi R., Kasra-Kermanshahi R., Gharavi S., Moosavi-Nejad Z., Borzooee F. Screening of SDS-degrading bacteria from car wash wastewater and study of the alkylsulfatase enzyme activity. *Iran. J. Microbiol.* 2013; 5(2):153–8.

6. Furmanczyk E.M., Lipinski L., Dziembowski A., Sobczak A. Genomic and functional characterization of environmental strains of SDS-degrading *Pseudomonas* spp., providing a source of new sulfatases. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1795. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01795.

7. Дуванова О.В., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Писанов Р.В. Алкилсульфатаза холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп. В кн.: Холера и патогенные для человека вибрионы: Сборник статей Проблемной комиссии. Вып. 24. Ростов н/Д; 2011. С. 84–6.

8. Дуванова О.В., Мишанькин Б.Н., Водопьянов С.О., Писанов Р.В. Способ дифференциации штаммов *Vibrio cholerae* O139 серогруппы по алкилсульфатазной активности. Патент РФ № 2473697, опублик. 27.01.2013. Бюл. № 3.

9. Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П. Алгоритм компьютерного VNTR-типирования на основе неполных сиквенсов ДНК-штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных на Гаити в 2010 г. *Здоровье населения и среда обитания.* 2013; 3:28–30.

10. Yang X., Liu D., Liu F., Wu J., Zou J., Xiao X., Zhao F., Zhu B. HTQC: a fast quality control toolkit for Illumina sequencing data. *BMC Bioinformatics.* 2013; 14:33. DOI: 10.1186/1471-2105-14-33.

11. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics.* 2014; 30(15):2114–20. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.

12. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Prjibelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.

13. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 1990; 215(3):403–10. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.

14. Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30(14):3059–66. DOI: 10.1093/nar/gkf436.

15. Price M.N., Dehal P.S., Arkin A.P. FastTree 2 – approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS One.* 2010; 5(3):e9490. DOI: 10.1371/journal.pone.0009490.

16. 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.

17. Hagelueken G., Adams T.M., Wiehlmann L., Widow U., Kolmar H., Tümmeler B., Heinz D.W., Schubert W.-D. The crystal structure of SdsA1, an alkylsulfatase from *Pseudomonas aeruginosa*, defines a third class of sulfatases. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103(20):7631–6. DOI: 10.1073/pnas.0510501103.

18. Luis A.S., Jin C., Pereira G.V., Glowacki R.W.P., Gugel S.R., Singh S., Byrne D.P., Pudlo N.A., London J.A., Baslé A., Reihill M., Oscarson S., Eysers P.A., Czjzek M., Michel G., Barbeyron T., Yates E.A., Hansson G.C., Karlsson N.G., Cartmell A., Martens E.C. A single sulfatase is required to access colonic mucin by a gut bacterium. *Nature.* 2021; 598(7880):332–7. DOI: 10.1038/s41586-021-03967-5.

References

1. Valyshev A.V., Valysheva N.A. [Destruction of anionic surfactant (sodium dodecyl sulfate) by environmental microorganisms]. *Byulleten' Orenburgskogo Nauchnogo Tsentra Ural'skogo Otdeleniya Rossiiskoi Akademii Nauk [Bulletin of the Orenburg Scientific Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences]*. 2018; (4). 4 p. (Cited 21 Dec 2022). [Internet]. Available from: <http://elmag.uran.ru:9673/journal/Issues/2018-4/Articles/VAV-2018-4.pdf>. DOI: 10.24411/2304-9081-2019-14023.

2. Sun L., Chen P., Su Y., Cai Z., Ruan L., Xu X., Wu Y. Crystal structure of thermostable alkylsulfatase SdsAP from *Pseudomonas* sp. *S9. Biosci. Rep.* 2017; 37(3):BSR20170001. DOI: 10.1042/BSR20170001.

3. Toesch M., Schober M., Faber K. Microbial alkyl- and aryl-sulfatases: mechanism, occurrence, screening and stereoselectivities. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2014; 98(4):1485–96. DOI: 10.1007/s00253-013-5438-0.

4. Hanson S.R., Best M.D., Wong C.-H. Sulfatases: structure, mechanism, biological activity, inhibition, and synthetic utility. *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 2004; 43(43):5736–63. DOI: 10.1002/anie.200300632.

5. Shahbazi R., Kasra-Kermanshahi R., Gharavi S., Moosavi-Nejad Z., Borzooee F. Screening of SDS-degrading bacteria from car wash wastewater and study of the alkylsulfatase enzyme activity. *Iran. J. Microbiol.* 2013; 5(2):153–8.

6. Furmanczyk E.M., Lipinski L., Dziembowski A., Sobczak A. Genomic and functional characterization of environmental strains of SDS-degrading *Pseudomonas* spp., providing a source of new sulfatases. *Front. Microbiol.* 2018; 9:1795. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01795.

7. Duванова О.В., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Писанов Р.В. [Alkylsulfatase of cholera vibrios O1 and O139 serogroups]. In: [Cholera and Pathogenic for Humans Vibrios. Collection of works of the Problem Commission]. Issue 24. Rostov-on-Don; 2011. P. 84–6.

8. Duванова О.В., Мишанькин Б.Н., Водопьянов С.О., Писанов Р.В. [Method for differentiation between *Vibrio cholerae* O139 strains by alkyl sulfatase activity]. Patent of the Russian Federation No. 2473697, publ. 01/27/2013. Byul. No. 3.

9. Vодопьянов А.С., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П. [Algorithm of VNTR-typing based on incomplete sequences of *Vibrio cholerae* DNA strains isolated in Haiti in 2010]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2013; (3):28–30.

10. Yang X., Liu D., Liu F., Wu J., Zou J., Xiao X., Zhao F., Zhu B. HTQC: a fast quality control toolkit for Illumina sequencing data. *BMC Bioinformatics.* 2013; 14:33. DOI: 10.1186/1471-2105-14-33.

11. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics.* 2014; 30(15):2114–20. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.

12. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Prjibelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.

13. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 1990; 215(3):403–10. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.

14. Katoh K., Misawa K., Kuma K., Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30(14):3059–66. DOI: 10.1093/nar/gkf436.

15. Price M.N., Dehal P.S., Arkin A.P. FastTree 2 – approximately maximum-likelihood trees for large alignments. *PLoS One.* 2010; 5(3):e9490. DOI: 10.1371/journal.pone.0009490.

16. 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.

17. Hagelueken G., Adams T.M., Wiehlmann L., Widow U., Kolmar H., Tümmeler B., Heinz D.W., Schubert W.-D. The crystal structure of SdsA1, an alkylsulfatase from *Pseudomonas aeruginosa*, defines a third class of sulfatases. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2006; 103(20):7631–6. DOI: 10.1073/pnas.0510501103.

18. Luis A.S., Jin C., Pereira G.V., Glowacki R.W.P., Gugel S.R., Singh S., Byrne D.P., Pudlo N.A., London J.A., Baslé A., Reihill M., Oscarson S., Eysers P.A., Czjzek M., Michel G., Barbeyron T., Yates E.A., Hansson G.C., Karlsson N.G., Cartmell A., Martens E.C. A single sulfatase is required to access colonic mucin by a gut bacterium. *Nature.* 2021; 598(7880):332–7. DOI: 10.1038/s41586-021-03967-5.

Authors:

Dуванова О.В., Подойницына О.А., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Шипко Е.С., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., Носков А.К. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького Ст., 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Об авторах:

Дуванова О.В., Подойницына О.А., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Шипко Е.С., Кругликов В.Д., Чемисова О.С., 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.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-80-86

УДК 616.98:578.834.1

И.А. Егоров¹, С.С. Смирнова^{1,2}, В.А. Мищенко¹, И.В. Вялых¹, А.Ю. Маркарян¹, Н.Н. Жуйков¹,
О.Ю. Аверьянов³, В.А. Смирнова³, А.Н. Большакова³, С.Ю. Алферов⁴, А.В. Бабанова⁴,
А.С. Киячина⁵, Н.А. Пушкарёва⁶, А.В. Семенов^{1,7}

Пандемия COVID-19: влияние мер специфической и неспецифической профилактики на риск заражения SARS-CoV-2 у работников медицинских организаций

¹ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Вирум», Екатеринбург, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет», Екатеринбург, Российская Федерация;

³ГТАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург, Российская Федерация; ⁴ГТАУЗ СО «Полевская центральная городская больница», г. Полевской, Свердловская обл., Российская Федерация; ⁵ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», Екатеринбург, Российская Федерация; ⁶Филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области в Ленинском, Верх-Исетском, Октябрьском и Кировском районах города Екатеринбурга», Екатеринбург, Российская Федерация; ⁷Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Екатеринбург, Российская Федерация

С первых дней распространения SARS-CoV-2 работники медицинских организаций (МО) стали группой риска в аспекте заболевания, тяжелого течения и летального исхода. **Цель** исследования – изучить влияние мер специфической и неспецифической профилактики на риск инфицирования SARS-CoV-2 у работников МО в условиях крупного промышленного региона в период пандемии COVID-19. **Материалы и методы.** Проведен анализ данных опросника персонала инфекционных госпиталей для лечения больных COVID-19 и непрофильных МО крупного промышленного региона в период пандемии COVID-19 (1905 шт.), опросника по оценке приверженности сотрудников инфекционного госпиталя гигиене и антисептике рук (100 шт.), результатов определения специфических IgG к нуклеокапсиду вируса SARS-CoV-2 (2200 проб), результатов исследований вирусно-бактериальной контаминации наружной поверхности средств индивидуальной защиты работников инфекционного госпиталя (108 проб). **Результаты и обсуждение.** В ходе исследования установлено влияние дефектов реализации отдельных мер специфической и неспецифической профилактики на увеличение заболеваемости COVID-19 работников МО различного профиля. Пандемия COVID-19 еще раз подчеркнула необходимость сохранения жизни и здоровья работников МО как социально значимой категории граждан при распространении возбудителей, имеющих высокий эпидемический потенциал, с применением комплекса специфических и неспецифических мер, взаимно не исключających друг друга.

Ключевые слова: пандемия, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, SARS-CoV-2, COVID-19, работники медицинских организаций, медицинские работники, факторы риска, специфическая и неспецифическая профилактика.

Корреспондирующий автор: Егоров Иван Андреевич, e-mail: egorov_ia@nivirum.ru.

Для цитирования: Егоров И.А., Смирнова С.С., Мищенко В.А., Вялых И.В., Маркарян А.Ю., Жуйков Н.Н., Аверьянов О.Ю., Смирнова В.А., Большакова А.Н., Алферов С.Ю., Бабанова А.В., Киячина А.С., Пушкарёва Н.А., Семенов А.В. Пандемия COVID-19: влияние мер специфической и неспецифической профилактики на риск заражения SARS-CoV-2 у работников медицинских организаций. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:80–86. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-80-86

Поступила 08.09.2022. Отправлена на доработку 29.09.2022. Принята к публ. 27.06.2023.

I.A. Egorov¹, S.S. Smirnova^{1,2}, V.A. Mishchenko¹, I.V. Vyalykh¹, A.Yu. Markaryan¹, N.N. Zhuikov¹,
O.Yu. Aver'yanov³, V.A. Smirnova³, A.N. Bol'shakova³, S.Yu. Alferov⁴, A.V. Babanova⁴,
A.S. Kilyachina⁵, N.A. Pushkareva⁶, A.V. Semenov^{1,7}

COVID-19 Pandemic: Effect of Specific and Non-Specific Prevention Measures on the Risk of SARS-CoV-2 Infection in Employees of Healthcare Organizations

¹Federal Research Institute of Viral Infections "Virom", Yekaterinburg, Russian Federation;

²Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation;

³Regional Children's Clinical Hospital, Yekaterinburg, Russian Federation;

⁴Polevskoy Central Municipal Hospital, Polevskoy, Sverdlovsk Region, Russian Federation;

⁵Center of Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region, Yekaterinburg, Russian Federation;

⁶Affiliated Branch of the Center of Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region in Leninsky, Verkh-Issetsky, Oktyabrsky and Kirovsky Districts of Yekaterinburg City, Yekaterinburg, Russian Federation;

⁷Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, Yekaterinburg, Russian Federation

Abstract. From the very onset of SARS-CoV-2 spreading, active involvement in the COVID-19 epidemic process made the healthcare professionals (HCPs) a vulnerable group with higher risks of contracting the disease, severe course and fatal outcome. **The aim.** We aimed at studying the impact of specific and non-specific preventive measures on the risk of SARS-CoV-2 infection among the HCPs in a large industrial region settings during the COVID-19 pandemic. **Materials and methods.** We analyzed the data obtained using 1 905 questionnaires for the personnel of infectious hospitals for treatment of COVID-19 patients and non-core healthcare facilities in a large industrial region during the COVID-19 pandemic, 100 questionnaires on adherence of the employees to hand hygiene and antiseptics, the results of the tests for specific IgG to the SARS-CoV-2 nucleocapsid (2 200 samples), as well as the results of assessment of

viral and bacterial contamination of the outer surface of the personal protective equipment for infectious hospital staff (108 specimens). **Results and discussion.** In the course of the study, an effect of failure in the implementation of some specific and non-specific preventive measures on an increase in the incidence of COVID-19 in various healthcare professionals has been identified. The COVID-19 pandemic once again emphasized the need to save lives and health of the HCPs as socially significant category of citizens under the spread of pathogens with high epidemic potential, applying a complex of specific and non-specific measures that are not mutually exclusive.

Key words: pandemic, healthcare-associated infections, SARS-CoV-2, COVID-19, employees of healthcare facilities, healthcare professionals, risk factors, specific and non-specific prevention.

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

Funding: The paper was prepared as part of the research project “Study of the epidemic process and prevention of viral infections associated with the provision of medical care (by the example of chickenpox, noro- and rotavirus infections, etc.)” (registration No. R&D 121040500099-5).

Bioethics: All the participants of the study gave their voluntary informed consent.

Corresponding author: Ivan A. Egorov, e-mail: egorov_ia@nivirom.ru.

Citation: Egorov I.A., Smirnova S.S., Mishchenko V.A., Vyalykh I.V., Markaryan A.Yu., Zhuikov N.N., Aver'yanov O.Yu., Smirnova V.A., Bol'shakova A.N., Alferov S.Yu., Babanova A.V., Kilyachina A.S., Pushkareva N.A., Semenov A.V. COVID-19 Pandemic: Effect of Specific and Non-Specific Prevention Measures on the Risk of SARS-CoV-2 Infection in Employees of Healthcare Organizations. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:80–86. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-80-86

Received 08.09.2022. Revised 29.09.2022. Accepted 27.06.2023.

Egorov I.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7153-2827>
Smirnova S.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9749-4611>
Mishchenko V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4280-283X>
Vyalykh I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3123-8359>
Markaryan A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7286-6079>
Zhuikov N.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7018-7582>
Aver'yanov O.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3955-349X>

Smirnova V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9657-4257>
Bol'shakova A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7678-6984>
Babanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8085-4724>
Kilyachina A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1751-3462>
Pushkareva N.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-4992-8570>
Semenov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>

Пандемия COVID-19 стала одним из самых масштабных событий XXI в. С первых дней распространения SARS-CoV-2 работники медицинских организаций (МО) приняли инфекционный удар на себя, имея более высокие риски заболевания, тяжелого течения и летального исхода [1]. В США, странах Европы, и Азии доля работников МО, инфицировавшихся при исполнении служебных обязанностей, достигает 74–78 %. На ранних стадиях пандемии COVID-19 доля работников МО в структуре заболевших варьировала от 3,8 до 9,0 %, а показатель летальности достигал 37,2 на 100 работающих, инфицированных SARS-CoV-2, но с активным распространением новых штаммов SARS-CoV-2 доля инфицированных увеличилась до 7–15 %. В Российской Федерации в 2022 г. в результате внутрибольничного распространения SARS-CoV-2 инфицированы 41254 работника МО [2]. В субъектах Уральского и Сибирского федеральных округов в 2021 г. доля работников МО в структуре пострадавших от внутрибольничного инфицирования SARS-CoV-2 составила 84,9 % (в 2020 г. – 68,6 %), а интенсивность эпидемического процесса среди персонала превышала таковую среди пациентов в 180 раз (26,6 на 1000 работающих) [1, 3–6].

В ранее проведенном оригинальном исследовании нами изучены факторы риска инфицирования работников МО различного профиля крупного промышленного города в условиях пандемии COVID-19 [7, 8]. Продолжением нашего исследования является изучение роли специфической и неспецифической профилактики COVID-19 у работников МО как стратегически важного направления деятельности, ориентированного на предотвращение потерь

среди профессионального сообщества при возникновении чрезвычайных ситуаций. Исследования по оценке эффективности вакцинации от COVID-19 свидетельствуют о формировании клеточного иммунитета у 96 % привитых [9, 10]. Многочисленными исследованиями доказана роль средств индивидуальной защиты (СИЗ) в снижении риска инфицирования работников МО, однако неизученной остается проблема их обработки в процессе эксплуатации и возможность повторного использования [11, 12]. Отдельными исследованиями подчеркивается роль недостаточной обеспеченности и доступности антисептических средств как фактора, влияющего на распространение SARS-CoV-2 в МО [13, 14].

Изучение влияния мер специфической и неспецифической профилактики заражений SARS-CoV-2 у работников МО является актуальным направлением исследования для реализации риск-ориентированного подхода к профилактике инфицирования биологическими агентами, имеющими высокий эпидемический потенциал, с учетом риска воздействия не только в условиях пандемии COVID-19, но и с учетом возможного развития будущих эпидемий и пандемий [7].

Цель исследования – изучить влияние мер специфической и неспецифической профилактики на риск инфицирования SARS-CoV-2 у работников МО в условиях крупного промышленного региона в период пандемии COVID-19.

Материалы и методы

Исследование проведено специалистами Урало-Сибирского научно-методического центра по про-

филаксии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, Екатеринбургского научно-исследовательского института вирусных инфекций ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора (ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора) (в настоящее время – ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром» Роспотребнадзора, приказ Роспотребнадзора от 11.11.2022 № 599) на базе следующих учреждений: Федерального бюджетного учреждения здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Областная детская клиническая больница» и Государственного автономного учреждения здравоохранения Свердловской области «Полевская центральная городская больница». Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом ЕНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол от 24.06.2022 № 3).

Для изучения влияния мер специфической и неспецифической профилактики на риск инфицирования SARS-CoV-2 работников МО проанализированы 1905 опросников сотрудников из 20 МО Свердловской области. Опросник содержал разделы о половозрастных характеристиках и профессиональной занятости, оценке рисков инфицирования COVID-19 (контакт с больным пациентом и контаминированными предметами больничной среды, участие в аэрозоль-генерирующих процедурах), оценке приверженности соблюдению мер профилактики COVID-19 (применение СИЗ и их комплектация, длительность рабочей смены, замена СИЗ, антисептика рук, наличие аварийных ситуаций с экспозицией биологического материала), обстоятельствах выявления COVID-19.

Среди 100 сотрудников инфекционного госпиталя для лечения больных COVID-19 дополнительно проведено изучение их приверженности антисептике рук с использованием специально разработанного опросника, который включал разделы о половозрастных характеристиках и профессиональной занятости, оценке уровня знаний по вопросам антисептики и оценке приверженности данной технологии.

Проведение опроса сопровождали одновременным забором венозной крови респондентов для определения специфических IgG к нуклеокапсиду вируса SARS-CoV-2 методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-системы «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск). Всего исследовано 1306 проб. Наличие иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 оценивали посредством расчета коэффициента позитивности (КП). Результаты анализа считались положительными при $KП \geq 1,1$, отрицательными – при $KП < 0,8$, сомнительными или пограничными, если $0,8 \leq KП < 1,1$ [15].

Критерии включения в исследование: персонал МО Свердловской области, работавший на момент проведения исследования в инфекционных госпиталях для лечения больных COVID-19, и персонал МО, оказывающих плановую медицинскую помощь населению, являющихся базами проведения исследования; наличие добровольного информированного согласия на участие в исследовании. Критерии исключения: дефекты заполнения документации (опросников); дефекты проведения лабораторных исследований.

Для изучения вирусно-бактериальной контаминации наружной поверхности средств индивидуальной защиты работников инфекционного госпиталя для лечения больных COVID-19 (комбинезоны, наружная пара перчаток) проведено исследование 108 проб смывов на наличие РНК SARS-CoV-2 и условно-патогенных микроорганизмов. Выявление РНК SARS-CoV-2 в образцах проводили методом ПЦР в реальном времени с применением тест-системы «АмплиСенс® Cov-Bat-FL», для выделения нуклеиновых кислот из исследуемых проб использовали набор «РИБО-преп», для проведения обратной транскрипции применяли набор «Реверта-Л» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва).

В исследовании применяли эпидемиологические (описательно-оценочный и аналитический), микробиологический (бактериологический, серологический, молекулярно-генетический), социологический и статистический методы исследований. Данные представлены в виде абсолютных и относительных величин (%).

При анализе полученных данных применяли общепринятые статистические приемы. Расчет показателей заболеваемости COVID-19 работников МО проводили на 1000 работающих. Для сравнения вероятности исхода в зависимости от различных факторов риска составляли четырехпольную таблицу сопряженности, рассчитывали относительный риск (relative risk, RR) и его 95 % доверительный интервал (confidence interval, CI). Статистическую значимость различий оценивали по точечному критерию Фишера (ϕ) и по критерию Пирсона (χ^2). Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$. Для определения протективного коэффициента позитивности по результатам ИФА и его порогового значения построили ROC-кривые. Учитывали только прогностические модели, обладающие статистической значимостью ($p < 0,05$), а также достаточной чувствительностью и специфичностью (более 50 %). Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office 2010, пакета программ WinPEPI 11.65, IBM SPSS Statistics 26, ПК Statistica 10 и онлайн-ресурса <https://medstatistic.ru>.

Результаты и обсуждение

В опросе приняли участие 1905 сотрудников из 20 МО г. Екатеринбурга и Свердловской обла-

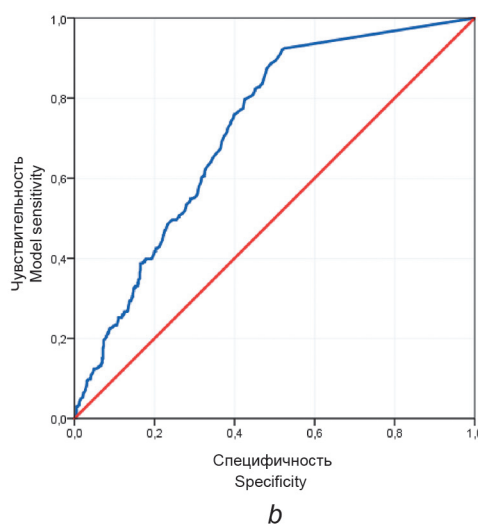
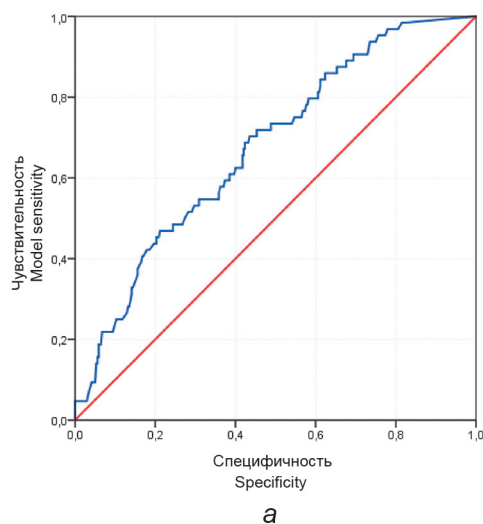
сти, в том числе медицинские сестры – 925 человек (48,6 %), врачи – 392 (20,6 %), прочий персонал – 365 (19,2 %), административный персонал – 96 (5,0 %), руководители подразделений – 85 (4,5 %), санитарки/уборщики – 42 (2,2 %). Перенесли лабораторно подтвержденный COVID-19 – 948 человек, или 49,8 %. Из числа респондентов, принявших участие в исследовании, 19,5 % (372 человека) являлись сотрудниками инфекционных госпиталей, 80,5 % (1533) – сотрудниками МО, оказывающих плановую медицинскую помощь населению. В возрастной структуре заболевших преобладали лица трудоспособного возраста (20–55 лет) – 74,8 % (1422 человека). В опросе приняли участие респонденты разного пола, однако женщины составляли подавляющее большинство – 85,4 %, что соответствует специфике работы данной отрасли [7].

На момент проведения исследования охват вакцинацией против COVID-19 работников инфекционных госпиталей составил 23,9 %, МО, оказывающих плановую медицинскую помощь населению, – 21,0 %. Вакцинация работников МО была проведена вакцинами, зарегистрированными в Российской Федерации. Комбинированной векторной вакциной «Гам-КОВИД-Вак» привиты 91,3 % респондентов (336 человек); вакциной на основе пептидных антигенов («ЭпиВакКорона») – 6,5 % (24); коронавирусной инактивированной цельновирионной концентрированной очищенной вакциной («КовиВак») – 2,2 % (8) [16]. Установлено, что заболеваемость COVID-19 непривитых лиц из числа персонала инфекционных госпиталей превышала таковую среди привитых в 2,9 раза (619,6 и 213,5 на 1000 работников соответственно, $\chi^2=44,466$, $p<0,001$), среди работников непрофильных МО – в 4,5 раза (607,7 и 136,6 на 1000 работников соответственно, $\chi^2=224,142$, $p<0,001$). Отсутствие вакцинации против COVID-19 увеличивало риск инфицирования в условиях работы в «заразной» зоне инфекционного госпиталя в 2,9 раза (RR – 2,9, [95 % ДИ: 1,927–4,370]), в непрофильной МО – в 4,4 раза (RR – 4,447 [95 % ДИ: 3,367–5,857]). Проведенный ROC-анализ показал

более высокие значения коэффициента позитивности у привитых по сравнению с переболевшими. Так, ROC-кривая для работников МО, привитых против COVID-19, имела AUC (area under curve, площадь под кривой), равную (0,675±0,035) (95 % ДИ: 0,607–0,743), $p<0,001$; непривитых – (0,721±0,018) (95 % ДИ: 0,687–0,756), $p<0,001$. Значение коэффициента позитивности персонала из числа иммунизированных в точке cut-off определено как 10,4, неиммунизированных – 3,25. Чувствительность моделей для привитого и непривитого персонала составила 70,3 и 70,7 %, специфичность – 56,5 и 62,5 % соответственно (рисунок).

СИЗ при контакте с больными COVID-19 использовали 99,2 % работников инфекционных госпиталей и 93,7 % работников МО, оказывающих плановую медицинскую помощь. Однако полная комплектация СИЗ с изоляцией органов дыхания, зрения и кожи применялась лишь 53,8 % работников инфекционных госпиталей и 13,0 % персонала МО, оказывающих плановую медицинскую помощь населению, сокращенный вариант СИЗ (отсутствовала защита либо органов дыхания, либо органов зрения) отмечен у 21,9 и 26,9 % работников соответственно, минимальный (наличие только медицинского халата и маски) – у 24,3 и 60,1 % работников соответственно [7]. В ходе исследования не установлено значимых различий в заболеваемости COVID-19 работников инфекционного госпиталя, использовавших полные и неполные комплекты СИЗ (551,0 и 479,5 на 1000 работников соответственно, $\chi^2=1,869$, $p=0,172$). Кроме того, показатель заболеваемости работников МО, оказывающих плановую медицинскую помощь населению, был в 1,6 раза выше среди сотрудников, использовавших полные комплекты СИЗ, по сравнению с использовавшими неполную комплектацию (735,4 и 471,1 на 1000 работников соответственно, $\chi^2=46,197$, $p<0,001$), что может быть связано с запоздалым использованием СИЗ после установления факта контакта с больным COVID-19.

В условиях пандемии COVID-19 продолжительность рабочей смены работников инфекционных гос-



ROC-кривые, описывающие зависимость значения коэффициента позитивности от вакцинального статуса работников МО в отношении COVID-19:

a – работники МО, привитые против COVID-19; b – работники МО, не привитые против COVID-19

ROC curves describing the dependence of the positivity coefficient value on the vaccination status of healthcare workers in relation to COVID-19:

a – healthcare workers vaccinated against COVID-19; b – healthcare workers not vaccinated against COVID-19

питателей и непрофильных МО составляла: до 6 часов – у 53 (13,8 %) и 135 (9,0 %) сотрудников, от 6 до 8 часов – у 134 (34,9 %) и 911 (60,5 %), от 8 до 12 – у 62 (16,1 %) и 115 (7,6 %), от 12 до 24 часов – у 134 (34,9 %) и 339 (22,5 %) сотрудников соответственно. В единичных случаях отмечена длительность рабочей смены более 24 часов [7]. Установлено, что заболеваемость работников инфекционных госпиталей возрастала с увеличением продолжительности рабочей смены: от 8 до 12 часов – в 1,04 раза (524,6 и 504,4 на 1000 работников соответственно, $\chi^2=26,15$, $p<0,001$) и от 12 до 24 часов – в 1,6 раза (563,9 и 358,8 на 1000 работников соответственно, $\chi^2=26,12$, $p<0,001$).

Участие в аэрозоль-генерирующих процедурах при оказании медицинской помощи пациентам с COVID-19 отмечено у 51,0 % сотрудников инфекционного госпиталя (201 человек) и 4,2 % – МО, оказывающих плановую медицинскую помощь (64 человека). Спектр аэрозоль-генерирующих процедур был разнообразен. Наиболее частыми вариантами являлись: отбор мокроты и взятие мазков из носоглотки – 27,8 и 42,2 %, ингаляционные процедуры – 18,9 и 17,2 %, а также санация трахеобронхиального дерева – 9,3 и 6,3 % соответственно.

В ходе исследования установлено, что только 44 % персонала инфекционного госпиталя обрабатывали руки при переходе от более к менее загрязненному участку тела пациента, 68 % – перед надеванием перчаток и после контакта с оборудованием, 73 % – после снятия медицинских перчаток, 76 % – после контакта с секретами или экскрементами организма и перед выполнением инвазивных процедур, 96 % – до и после непосредственного контакта с пациентом. По результатам опроса, 59,0 % работников инфекционного госпиталя использовали необходимый объем антисептика (3–5 мл) и 42,0 % соблюдали оптимальную продолжительность его нанесения (не менее 30 с).

Жесткий режим работы в условиях «заразной» зоны, включающий использование сложного комплекса СИЗ в условиях продолжительных рабочих смен, наряду с отсутствием регламентированного порядка обработки комбинезонов и дефектами обеззараживания рук способствовали значительному уровню вирусно-бактериальной контаминации элементов СИЗ. Так, наружные поверхности комбинезонов врачей и медицинских сестер были контаминированы в 50,0 % случаев, наружные поверхности комбинезонов уборщиков служебных помещений – в 44,4 %. Контаминация верхней пары перчаток у врачей выявлена в 38,9 % случаев, у медицинских сестер – в 22,2 %, уборщиков помещений – в 21,1 %. Генетический материал SARS-CoV-2 выявлен на всех компонентах комплекта СИЗ, за исключением наружной поверхности комбинезона врача.

На элементах СИЗ выявлено 8 различных вариантов вирусно-бактериальных ассоциаций. Наибольшее разнообразие ассоциаций представле-

но на наружных поверхностях комбинезонов. Так, с наружной поверхности комбинезонов врачей выделено 3 вида ассоциаций: *Pantoea agglomerans* + *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* + *E. faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* + *E. faecalis* (37,5 %); медицинских сестер – 2 вида: *K. pneumoniae* + *E. coli* и SARS-CoV-2 + *E. faecalis* (25,0 %), уборщиков служебных помещений – 2 вида: SARS-CoV-2 + *E. faecalis*, SARS-CoV-2 + *K. pneumoniae* (25,0 %). Дополнительно к перечисленному с верхней пары перчаток врачей в 12,5 % проб выделена ассоциация SARS-CoV-2 и *E. faecalis*.

Таким образом, пандемия COVID-19 еще раз подчеркнула необходимость сохранения жизни и здоровья работников МО как социально значимой категории граждан при распространении возбудителей, имеющих высокий эпидемический потенциал. В ходе исследования установлено влияние дефектов реализации отдельных мер специфической и неспецифической профилактики на увеличение заболеваемости COVID-19 работников МО различного профиля. Для успешного предупреждения COVID-19 необходимо применение комплекса мер специфической и неспецифической профилактики как единой системы по профилактике заражения SARS-CoV-2 работников медицинских организаций. В свою очередь, недочеты специфической и неспецифической профилактики, в частности повторное использование СИЗ, продолжительные рабочие смены, отсутствие приверженности гигиене и антисептике рук, способствуют усугублению эпидемиологической ситуации, связанной с внутрибольничным распространением типичных возбудителей, имеющих фенотипы (маркеры) резистентности к антимикробным препаратам.

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

Финансирование. Статья подготовлена в рамках научно-исследовательской работы «Изучение эпидемического процесса и профилактика вирусных инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (на примере ветряной оспы, норо- и ротавирусной инфекции и др.)» (рег. № НИОКТР 121040500099-5).

Биоэтика. От всех участников исследования получено добровольное информированное согласие.

Список литературы

1. Smallwood N., Harrex W., Rees M., Willis K., Bennett C.M. COVID-19 infection and the broader impacts of the pandemic on healthcare workers. *Respirology*. 2022; 27(6):411–26. DOI: 10.1111/resp.14208.
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2023. 368 с.
3. Abbas M., Robalo Nunes T., Martischang R., Zingg W., Iten A., Pittet D., Harbarth S. Nosocomial transmission and outbreaks of coronavirus disease 2019: the need to protect both patients and healthcare workers. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*. 2021; 10(1):7. DOI: 10.1186/s13756-020-00875-7.

4. Bandyopadhyay S., Baticulon R.E., Kadhum M., Alser M., Ojuka D.K., Badereddin Y., Kamath A., Parepalli S.A., Brown G., Iharchane S., Gandino S., Markovic-Obiago Z., Scott S., Manirambona E., Machhada A., Aggarwal A., Benazaize L., Ibrahim M., Kim D., Tol I., Taylor E.H., Knighton A., Bbaale D., Jasim D., Alghoul H., Reddy H., Abuelgasim H., Saini K., Sigler A., Abuelgasim L., Moran-Romero M., Kumarendran M., Jamie N.A., Ali O., Sudarshan R., Dean R., Kissyova R., Kelzang S., Roche S., Ahsan T., Mohamed Y., Dube A.M., Gwini G.P., Gwokyal R., Brown R., Papon M.R.K.K., Li Z., Ruzats S.S., Charuvila S., Peter N., Khalidy K., Moyo N., Alser O., Solano A., Robles-Perez E., Tariq A., Gaddah M., Kolovos S., Muchemwa F.C., Saleh A., Gosman A., Pinedo-Villanueva R., Jani A., Khundkar R. Infection and mortality of healthcare workers worldwide from COVID-19: a systematic review. *BMJ Glob. Health.* 2020; 5(12):e003097. DOI: 10.1136/bmjgh-2020-003097.
5. Tirupakuzhi Vijayaraghavan B.K., Jha V., Rajbhandari D., Myatra S.N., Ghosh A., Bhattacharya A., Arfin S., Bassi A., Donaldson L., Hammond N., John O., Joshi R., Kunigari M., Amrutha C., Husaini S.H.M., Ghosh S., Nag S.K., Selvaradj H.K., Kantroo V., Shan K.D., Venkatesh B.; HOPE investigators. Hydroxychloroquine plus personal protective equipment versus personal protective equipment alone for the prevention of laboratory-confirmed COVID-19 infections among healthcare workers: a multicentre, parallel-group randomised controlled trial from India. *BMJ Open.* 2022; 12(6):e059540. DOI: 10.1136/bmjopen-2021-059540.
6. Смирнова С.С., Вяткина Л.Г., Егоров И.А., Жуikov Н.Н. Анализ выявления и регистрации инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи в Уральском и Сибирском федеральных округах в 2020 году: Информационный бюллетень. Екатеринбург: ЮНИКА; 2021. 56 с.
7. Смирнова С.С., Егоров И.А., Жуikov Н.Н., Вяткина Л.Г., Харитонов А.Н., Семенов А.В., Морова О.В. Сравнительная оценка рисков инфицирования SARS-CoV-2 у работников медицинских организаций крупного промышленного города в период пандемии. *Анализ риска здоровью.* 2022; 2:139–50. DOI: 10.21668/health.risk/2022.2.13.
8. Платонова Т.А., Голубкова А.А., Тутельян А.В., Смирнова С.С. Заболеваемость COVID-19 медицинских работников. Вопросы биобезопасности и факторы профессионального риска. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2021; 20(2):4–11. DOI: 10.31631/2073-3046-2021-20-2-4-11.
9. Платонова Т.А., Скляр М.С., Голубкова А.А., Семенов С.С., Карбовнича Е.А., Чернышев М.А., Воробьев А.В., Смирнова С.С. Оценка специфического Т-клеточного иммунитета у переболевших и вакцинированных против COVID-19. *Журнал инфектологии.* 2022; 14(1):96–104. DOI: 10.22625/2072-6732-2022-14-1-96-104.
10. Платонова Т.А., Голубкова А.А., Скляр М.С., Карбовнича Е.А., Смирнова С.С. К вопросу оценки эффективности вакцинации сотрудников медицинских организаций против COVID-19. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2022; 21(1):61–6. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-1-61-66.
11. Tabah A., Ramanam M., Laupland K.B., Buetti N., Cortegiani A., Mellinshoff J., Morris A.C., Camporota L., Zappella N., Elhadi M., Pova P., Amrein K., Vidal G., Derde L., Bassetti M., Francois G., Kai N.S.Y., De Waele J.J.; PPE-SAFE contributors. Personal protective equipment and intensive care unit healthcare worker safety in the COVID-19 Era (PPE-SAFE): An international survey. *J. Crit. Care.* 2020; 59:70–5. DOI: 10.1016/j.jccr.2020.06.005.
12. Schoberer D., Osmancevic S., Reiter L., Thonhofer N., Hoedl M. Rapid review and meta-analysis of the effectiveness of personal protective equipment for healthcare workers during the COVID-19 pandemic. *Public Health Pract. (Oxf.).* 2022; 4:100280. DOI: 10.1016/j.puhp.2022.100280.
13. Сисин Е.И., Голубкова А.А., Остапенко Н.А., Козлова И.И. Причины и условия для распространения SARS-CoV-2 при вспышках в медицинских организациях. *Национальные приоритеты России.* 2021; 3:322–25.
14. Dzinamarira T., Nkambule S.J., Hlongwa M., Mhango M., Iradukunda P.G., Chitungo I., Dzobo M., Mapingure M.P., Chingombe I., Mashora M., Madziva R., Herrera H., Makanda P., Atwine J., Mbunge E., Musuka G., Murewanhema G., Ngara B. Risk factors for COVID-19 infection among healthcare workers. A first report from a living systematic review and meta-analysis. *Saf. Health Work.* 2022; 13(3):263–8. DOI: 10.1016/j.shaw.2022.04.001.
15. Платонова Т.А., Скляр М.С., Голубкова А.А., Карбовнича Е.А., Чернышев М.А., Воробьев А.В., Смирнова С.С. Оценка специфического Т-клеточного иммунитета у вакцинированных против COVID-19. *Национальные приоритеты России.* 2021; 3:313–6.
16. Курылев А.А., Журавков А.А., Колбин А.С. Анализ эффективности вакцинации от COVID-19 на основании данных реальной клинической практики в Санкт-Петербурге. *Качественная клиническая практика.* 2021; 4:80–4. DOI: 10.37489/2588-0519-2021-4-80-84.

References

1. Smallwood N., Harrex W., Rees M., Willis K., Bennett C.M. COVID-19 infection and the broader impacts of the pandemic on healthcare workers. *Respirology.* 2022; 27(6):411–26. DOI: 10.1111/resp.14208.
2. [On the State of Sanitary and Epidemiological Well-Being of the Population in the Russian Federation in 2022: State Report]. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being; 2023. 368 p.
3. Abbas M., Robalo Nunes T., Martischang R., Zingg W., Iten A., Pittet D., Harbarth S. Nosocomial transmission and outbreaks of coronavirus disease 2019: the need to protect both patients and healthcare workers. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2021; 10(1):7. DOI: 10.1186/s13756-020-00875-7.
4. Bandyopadhyay S., Baticulon R.E., Kadhum M., Alser M., Ojuka D.K., Badereddin Y., Kamath A., Parepalli S.A., Brown G., Iharchane S., Gandino S., Markovic-Obiago Z., Scott S., Manirambona E., Machhada A., Aggarwal A., Benazaize L., Ibrahim M., Kim D., Tol I., Taylor E.H., Knighton A., Bbaale D., Jasim D., Alghoul H., Reddy H., Abuelgasim H., Saini K., Sigler A., Abuelgasim L., Moran-Romero M., Kumarendran M., Jamie N.A., Ali O., Sudarshan R., Dean R., Kissyova R., Kelzang S., Roche S., Ahsan T., Mohamed Y., Dube A.M., Gwini G.P., Gwokyal R., Brown R., Papon M.R.K.K., Li Z., Ruzats S.S., Charuvila S., Peter N., Khalidy K., Moyo N., Alser O., Solano A., Robles-Perez E., Tariq A., Gaddah M., Kolovos S., Muchemwa F.C., Saleh A., Gosman A., Pinedo-Villanueva R., Jani A., Khundkar R. Infection and mortality of healthcare workers worldwide from COVID-19: a systematic review. *BMJ Glob. Health.* 2020; 5(12):e003097. DOI: 10.1136/bmjgh-2020-003097.
5. Tirupakuzhi Vijayaraghavan B.K., Jha V., Rajbhandari D., Myatra S.N., Ghosh A., Bhattacharya A., Arfin S., Bassi A., Donaldson L., Hammond N., John O., Joshi R., Kunigari M., Amrutha C., Husaini S.H.M., Ghosh S., Nag S.K., Selvaradj H.K., Kantroo V., Shan K.D., Venkatesh B.; HOPE investigators. Hydroxychloroquine plus personal protective equipment versus personal protective equipment alone for the prevention of laboratory-confirmed COVID-19 infections among healthcare workers: a multicentre, parallel-group randomised controlled trial from India. *BMJ Open.* 2022; 12(6):e059540. DOI: 10.1136/bmjopen-2021-059540.
6. Smirnova S.S., Vyatkin L.G., Egorov I.A., Zhukov N.N. [Analysis of the Detection and Registration of Infections Associated with the Provision of Medical Care in the Ural and Siberian Federal Districts in 2020: Information Bulletin]. Yekaterinburg: "YUNIKA"; 2021. 56 p.
7. Smirnova S.S., Egorov I.A., Zhukov N.N., Vyatkin L.G., Kharitonov A.N., Semenov A.V., Morova O.V. [Risks of becoming infected with SARS-CoV-2 for medical personnel in a large industrial city during the pandemic: comparative assessment]. *Analiz Riska Zdorov'yu [Health Risk Analysis]*. 2022; (2):139–50. DOI: 10.21668/health.risk/2022.2.13.eng.
8. Platonova T.A., Golubkova A.A., Tutel'yan A.V., Smirnova S.S. [The incidence of COVID-19 medical workers. The issues of biosafety and occupational risk factors]. *Epidemiologiya i Vaksino profilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2021; 20(2):4–11. DOI: 10.31631/2073-3046-2021-20-2-4-11.
9. Platonova T.A., Sklyar M.S., Golubkova A.A., Semenov S.S., Karbovnichaya E.A., Chernyshev M.A., Vorob'ev A.V., Smirnova S.S. Assessment of specific T-cell immunity in patients who have been ill and vaccinated against COVID-19. *Zhurnal Infekologii [Journal Infectology]*. 2022; 14(1):96–104. DOI: 10.22625/2072-6732-2022-14-1-96-104.
10. Platonova T.A., Golubkova A.A., Sklyar M.S., Karbovnichaya E.A., Smirnova S.S. On the issue of evaluating the effectiveness of vaccination of employees of medical organizations against COVID-19. *Epidemiologiya i Vaksino profilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2022; 21(1):61–6. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-1-61-66.
11. Tabah A., Ramanam M., Laupland K.B., Buetti N., Cortegiani A., Mellinshoff J., Morris A.C., Camporota L., Zappella N., Elhadi M., Pova P., Amrein K., Vidal G., Derde L., Bassetti M., Francois G., Kai N.S.Y., De Waele J.J.; PPE-SAFE contributors. Personal protective equipment and intensive care unit healthcare worker safety in the COVID-19 Era (PPE-SAFE): An international survey. *J. Crit. Care.* 2020; 59:70–5. DOI: 10.1016/j.jccr.2020.06.005.
12. Schoberer D., Osmancevic S., Reiter L., Thonhofer N., Hoedl M. Rapid review and meta-analysis of the effectiveness of personal protective equipment for healthcare workers during the COVID-19 pandemic. *Public Health Pract. (Oxf.).* 2022; 4:100280. DOI: 10.1016/j.puhp.2022.100280.
13. Sisin E.I., Golubkova A.A., Ostapenko N.A., Kozlova I.I. [Reasons and conditions for distribution SARS-CoV-2 in outbreak in medical organizations]. *Natsional'nye Prioritety Rossii [National Priorities of Russia]*. 2021; (3):322–5.
14. Dzinamarira T., Nkambule S.J., Hlongwa M., Mhango M., Iradukunda P.G., Chitungo I., Dzobo M., Mapingure M.P.,

Chingombe I., Mashora M., Madziva R., Herrera H., Makanda P., Atwine J., Mbunge E., Musuka G., Murewanhema G., Ngara B. Risk factors for COVID-19 infection among healthcare workers. A first report from a living systematic review and meta-analysis. *Saf. Health Work.* 2022; 13(3):263–8. DOI: 10.1016/j.shaw.2022.04.001.

15. Platonova T.A., Sklyar M.S., Golubkova A.A., Karbovnichaya E.A., Chernyshev M.A., Vorobyov A.V., Smirnova S.S. [Assessment of specific T-cell immunity in vaccinated against COVID-19]. *Natsional'nye Prioritety Rossii [National Priorities of Russia]*. 2021; (3):313–6.

16. Kurylev A.A., Zhuravkov A.A., Kolbin A.S. [Analysis of the effectiveness of vaccination against COVID-19 based on real-world data in St. Petersburg]. *Kachestvennaya Klinicheskaya Praktika [Good Clinical Practice]*. 2021; (4):80–4. DOI: 10.37489/2588-0519-2021-4-80-84.

Authors:

Egorov I.A., Mishchenko V.A., Vyalykh I.V., Markaryan A.Yu., Zhuikov N.N. Federal Research Institute of Viral Infections “Viro”, 23, Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation. E-mail: info@nivirom.ru.

Smirnova S.S. Federal Research Institute of Viral Infections “Viro”, 23, Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation; e-mail: info@nivirom.ru. Ural State Medical University; 3, Repina St., Yekaterinburg, 620028, Russian Federation.

Aver'yanov O.Yu., Smirnova V.A., Bol'shakova A.N. Regional Children's Clinical Hospital. 32, S. Deryabinoy St., Yekaterinburg, 620149, Russian Federation.

Alferov S.Yu., Babanova A.V. Polevskoy Central Municipal Hospital. 3, Stalevarov Lane, Polevskoy, Sverdlovsk Region, 623380, Russian Federation.

Kilyachina A.S. Center of Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region. 3, Otdel'ny Lane, Yekaterinburg, 620078, Russian Federation.

Pushkareva N.A. Affiliated Branch of the Center of Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region in Leninsky, Verkh-Issetsky, Oktyabrsky and Kirovsky Districts of Yekaterinburg City. 91, Michurina St., Yekaterinburg, 620075, Russian Federation.

Semenov A.V. Federal Research Institute of Viral Infections “Viro”, 23, Letnyaya St., Yekaterinburg, 620030, Russian Federation; e-mail: info@nivirom.ru. Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin. 19, Mira St., Yekaterinburg, 620002, Russian Federation.

Об авторах:

Егоров И.А., Мищенко В.А., Вялых И.В., Маркарян А.Ю., Жуиков Н.Н. Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром». Российская Федерация, 620030, Екатеринбург, ул. Летняя, 23. E-mail: info@nivirom.ru.

Смирнова С.С. Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром»; Российская Федерация, 620030, Екатеринбург, ул. Летняя, 23; e-mail: info@nivirom.ru. Уральский государственный медицинский университет; Российская Федерация, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3.

Аверьянов О.Ю., Смирнова В.А., Большакова А.Н. Областная детская клиническая больница. Российская Федерация, 620149, Екатеринбург, ул. С. Дерабиной, 32.

Алферов С.Ю., Бабанова А.В. Полевская центральная городская больница. Российская Федерация, 623380, Свердловская область, г. Полевской, пер. Сталеваров, 3.

Киличина А.С. Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области. Российская Федерация, 620078, Екатеринбург, пер. Отдельный, 3.

Пушкарёва Н.А. Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области в Ленинском, Верх-Исетском, Октябрьском и Кировском районах города Екатеринбурга. Российская Федерация, 620075, Екатеринбург, ул. Мичурина, 91.

Семенов А.В. Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром»; Российская Федерация, 620030, Екатеринбург, ул. Летняя, 23; e-mail: info@nivirom.ru. Институт естественных наук и математики ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина»; Российская Федерация, 620002, Россия, Екатеринбург, ул. Мира, 19.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-87-92

УДК 616.98:578.834.1(470.44)

А.А. Зимирова¹, В.Е. Куклев¹, В.А. Сафронов¹, Е.В. Куклев¹, И.Н. Вяткин²

Оценка эпидемиологической эффективности временного перевода учащихся на дистанционное обучение в период распространения COVID-19 на примере Саратовской области

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

Временное прекращение работы школ является эффективной противоэпидемической мерой в периоды подъема заболеваемости ОРВИ и гриппом, что подтверждается результатами большого числа научных работ. Эффективность указанной меры главным образом заключается в снижении уровня заболеваемости среди учащихся. В условиях распространения COVID-19 в Российской Федерации, как и во многих странах, также неоднократно осуществлялся временный перевод школьников на дистанционное обучение, однако остается неясным, является ли рассматриваемая мера эффективной относительно новой коронавирусной инфекции. **Цель** исследования – оценка эпидемиологической эффективности временного перевода учащихся на дистанционное обучение в период распространения COVID-19 в Саратовской области. **Материалы и методы.** Анализ проведен на основании статистических данных Управления Роспотребнадзора по Саратовской области по заболеваемости COVID-19 за период с 2020 по 2022 г., а также материалов опубликованных научных работ. **Результаты и обсуждение.** При анализе данных в период закрытия школ в 2020 г. зафиксировано снижение заболеваемости среди школьников (–42,9 %), а также выявлен подъем заболеваемости среди лиц 65 лет и старше (+7,2 %); в 2021 г. наблюдалось снижение заболеваемости среди учащихся (–15,6 %) и повышение данного показателя среди лиц пожилого возраста (+17,8 %); в 2022 г. очередное закрытие школ привело к росту заболеваемости COVID-19 среди учащихся (+7,8 %) и лиц старше 65 лет (+44,2 %). В случае с COVID-19 рассматриваемая мера является нецелесообразной ввиду того, что в эпидемический процесс активнее вовлекается наиболее уязвимая категория населения (лица 65 лет и старше), что в свою очередь приводит к значительному ухудшению эпидситуации.

Ключевые слова: COVID-19, эпидемия, заболеваемость, образовательные учреждения, Саратовская область.

Корреспондирующий автор: Зимирова Анастасия Александровна, e-mail: rusrap@microbe.ru.

Для цитирования: Зимирова А.А., Куклев В.Е., Сафронов В.А., Куклев Е.В., Вяткин И.Н. Оценка эпидемиологической эффективности временного перевода учащихся на дистанционное обучение в период распространения COVID-19 на примере Саратовской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:87–92. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-87-92

Поступила 10.07.2023. Принята к публ. 16.08.2023.

А.А. Zimirova¹, V.E. Kuklev¹, V.A. Safronov¹, E.V. Kuklev¹, I.N. Vyatkin²

Assessment of the Epidemiological Effectiveness of the Temporary Transfer of Schoolchildren to Distance Learning during the Spread of COVID-19 by the Example of the Saratov Region

¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation;²Rospotrebnadzor Administration in the Saratov Region, Saratov, Russian Federation

Abstract. Temporary closure of schools is an effective anti-epidemic measure during periods of rising incidence of acute respiratory viral infections and influenza, which is confirmed by the results of a large number of scientific works. In particular, the effectiveness of this measure consists in reducing the incidence among students. In the context of the spread of COVID-19 in the Russian Federation, like in many other countries, the temporary transfer of schoolchildren to distance learning has also been repeatedly introduced; however, it remains unclear whether the measure under consideration is effective in relation to the new coronavirus infection. **The aim** of the study was to assess the epidemiological effectiveness of the temporary transfer of students to distance learning during the spread of COVID-19 in the Saratov Region. **Materials and methods.** The analysis was carried out on the basis of statistical data of the Rospotrebnadzor Administration in the Saratov Region on the incidence of COVID-19 for the period of 2020–2022, as well as materials from published scientific papers. **Results and discussion.** Analysis of the data on the school closure in 2020 has revealed a decrease in the incidence among schoolchildren (–42.9 %) and an increase in the incidence among people aged 65 years and older (+7.2 %); in 2021, there was a decrease in the incidence among schoolchildren (–15.6 %) and an increase in the indicator value as regards the elderly (+17.8 %); in 2022, another school closure led to an increase in the incidence of COVID-19 among schoolchildren (+7.8 %) and people over 65 years old (+44.2 %). Based on the results obtained, one can conclude that the measure under consideration is inexpedient due to the fact that the most vulnerable category of the population (persons aged 65 years and older) is actively involved in the epidemic process, which in turn leads to a significant deterioration of the epidemic situation.

Key words: COVID-19, epidemic, incidence, educational institutions, Saratov Region.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Anastasiya A. Zimirova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Zimirova A.A., Kuklev V.E., Safronov V.A., Kuklev E.V., Vyatkin I.N. Assessment of the Epidemiological Effectiveness of the Temporary Transfer of Schoolchildren to Distance Learning during the Spread of COVID-19 by the Example of the Saratov Region. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:87–92. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-87-92

Received 10.07.2023. Accepted 16.08.2023.

Zimirova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5648-7003>

Kuklev V.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9834-8544>

Safronov V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9563-2833>

Kuklev E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9425-7194>

Vyatkin I.N., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-9860-527X>

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) в январе 2020 г. объявила вспышку новой коронавирусной инфекции (COVID-19), возникшую в г. Ухань (Китай) в декабре 2019 г., чрезвычайной ситуацией в области общественного здравоохранения, имеющей международное значение, а уже в марте распространение COVID-19 приобрело характер пандемии. По состоянию на 13 июля 2023 г. зарегистрировано свыше 767 млн случаев заболевания по всему миру и подтверждено более 6,9 млн летальных исходов, что делает пандемию COVID-19 одной из самых значимых в истории [1].

Лица пожилого возраста составляют основную группу риска, наиболее подверженную заражению и имеющую большую вероятность неблагоприятного исхода COVID-19. Согласно статистике ВОЗ, летальность от COVID-19 у лиц 80 лет и старше достигает 15 %, в то время как у людей моложе 50 лет она составляет менее 0,5 %. Среди причин повышенной уязвимости людей пожилого возраста выделяют наличие сопутствующих заболеваний, а также снижение физиологических резервов, общей сопротивляемости и устойчивости организма [2]. Дети любого возраста также болеют COVID-19, однако заболеваемость среди них регистрируется намного реже, чем у взрослых. В целом, по результатам отечественных и зарубежных научных исследований, на детей приходится менее 10 % от всех подтвержденных случаев COVID-19 [3, 4].

Пандемия COVID-19 повлекла за собой серьезные социально-экономические последствия по всему миру. Ряд государств с целью сдерживания распространения новой инфекции прибегали к закрытию границ и применяли различные противоэпидемические меры, в результате чего во многих странах было приостановлено производство, трудовые коллективы переводились на удаленный режим работы, а также реализовывались другие ограничительные мероприятия. Кардинальные преобразования коснулись и образовательных учреждений – более 1,254 млрд учащихся во всем мире (72,9 % всех учащихся в мире) оказались переведены на дистанционный формат обучения [5]. В общей сложности за весь период пандемии закрытие школ проведено в 192 странах мира. Решения о полном или частичном закрытии или возобновлении работы школ, как правило, принимались на местном административном уровне с учетом интенсивности местного распространения COVID-19 и оценки риска, а также исходя из анализа того, в какой мере открытие общеобразовательных учреждений может способствовать повышению заболеваемости среди населения в целом [6].

Временное прекращение работы школ является эффективной противоэпидемической мерой в контексте эпидемий ОРВИ и гриппа, что подтверждается рядом научных исследований [7–10]. Эффективность данной меры главным образом заключается в снижении уровня заболеваемости среди учащихся. В частности, закрытие школ во время вспышки гриппа H1N1 в 2009 г. в Японии привело к резкому снижению его распространения как в детской популяции, так и среди взрослого населения [11].

Вместе с тем эпидемиологическая роль детского населения и организованных коллективов в распространении COVID-19 в настоящее время остается недостаточно изученной. На протяжении всего периода пандемии, которая характеризуется значительной долей бессимптомных случаев заболевания среди детей (по оценкам зарубежных ученых, бессимптомное течение COVID-19 у детей встречается не менее чем в 25 % случаев) и недостаточной степенью охвата вакцинацией детского населения (только некоторые страны целенаправленно проводили иммунизацию лиц до 18 лет: Соединенные Штаты Америки, Канада, Сингапур, Япония, Китай, Объединенные Арабские Эмираты, Бахрейн и большая часть европейских государств) [12, 13], особенно важно иметь четкое представление о роли детей и подростков в эпидемическом процессе COVID-19. В связи с этим **целью** данной работы является оценка эпидемиологической эффективности временного перевода учащихся на дистанционное обучение в период распространения COVID-19 в Российской Федерации на примере отдельного субъекта – Саратовской области.

В Саратовской области, как и в целом в РФ, наблюдалось интенсивное распространение COVID-19, начавшееся с апреля 2020 г. Первый случай инфицирования COVID-19 в Саратовской области зарегистрирован 19 марта 2020 г. у жительницы г. Саратова, вернувшейся из туристической поездки в Италию. Впоследствии спорадические случаи заболевания, в основном завозные, регистрировались до конца марта, а начиная со второй декады апреля динамика заболеваемости в области характеризовалась ростом числа ежедневно регистрируемых местных случаев заболевания [14]. С начала пандемии в регионе зафиксировано семь эпидемических подъемов заболеваемости COVID-19, некоторые из которых (сентябрь – октябрь 2021 г., февраль – март 2022 г.) сопровождались введением строгих ограничительных мероприятий.

Всего с момента регистрации первого случая инфицирования COVID-19 и по состоянию на 27 июня 2023 г. в Саратовской области зарегистрировано 324473 случая заболевания (13500,0

Периоды временного закрытия школ Саратовской области в связи с распространением COVID-19
Periods of temporary school closure in the Saratov Region in response to the spread of COVID-19

Период закрытия школ Period of school closure	Количество закрытых школ в области Number of schools closed across the Region	Количество учеников, переведенных на дистанционный режим обучения Number of students transferred to distance learning	Количество заболевших в области до периода закрытия школ (включая долю детей школьного возраста [7–17 лет]) Number of infected persons in the Region before the closure of schools (including the share of children aged 7–17 years old)
14–28 сентября 2020 г. September 14–28, 2020	151	4016	13488 (426; 3,2 %)
27 сентября – 11 октября 2021 г. September 27 – October 11, 2021	119	4554	84968 (3922; 4,6 %)
11–25 февраля 2022 г. February 11–25, 2022	105	5773	158191 (11608; 7,3 %)

на 100 тыс. населения, 9-е ранговое место по Приволжскому федеральному округу, 23-е ранговое место среди всех субъектов РФ), из них 6001 случай заболевания закончился летальным исходом (коэффициент летальности – 1,85 %; в среднем по РФ – 1,70 %). На долю Саратовской области приходится 1,41 % от всех зарегистрированных случаев заболевания COVID-19 в РФ.

В Саратовской области за весь период пандемии, аналогично показателям по стране, отмечалось превалирование лиц старшего возраста в структуре заболеваемости COVID-19 (29,8 %), в то время как доля заболевших детей в возрасте 7–17 лет составила всего 8,1 %, что говорит о несопоставимости данных возрастных групп по социально-экономическому ущербу.

С начала распространения COVID-19 в Саратовской области зарегистрировано около 40 тыс. случаев заболевания среди лиц до 18 лет, из них на долю лиц школьного возраста (7–17 лет) приходится более 26 тыс. случаев (66,4 %).

Материалы и методы

Материалом для настоящего исследования послужили статистические данные Управления Роспотребнадзора по Саратовской области, включающие персонифицированные данные о каждом зарегистрированном случае заболевания COVID-19 (пол, возраст, социальный статус заболевших) за период с 2020 по 2022 г., а также данные опубликованных зарубежных и отечественных научных работ. Основной метод исследования – эпидемиологический анализ. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием общепринятых методов вариационной статистики и пакета компьютерных программ Microsoft Word, Microsoft Excel. Эпидемиологическую эффективность закрытия школ оценивали по изменению показателей заболеваемости в анализируемых группах населения через 14 суток после введения данной меры. Выбранный временной период оценки рассчитан путем суммирования средних значений статистических показателей (по статистике, от начала заболевания до обращения в медицинскую организацию проходит в среднем

5 суток; длительность инкубационного периода при COVID-19 составляет в среднем 6–7 дней; время от забора биоматериала до выдачи результата занимает в среднем 2 дня).

Результаты и обсуждение

С начала распространения COVID-19 в Саратовской области временный перевод учащихся средних образовательных учреждений на дистанционное обучение в связи с ухудшением эпидемиологической ситуации в соответствии с постановлениями регионального правительства осуществлялся трижды (с 14 по 28 сентября 2020 г., с 27 сентября по 11 октября 2021 г. и с 11 по 25 февраля 2022 г.) (таблица).

При анализе заболеваемости в период закрытия школ в 2020 г. (рис. 1) отмечено, что на предшествующей закрытию школ неделе в среднем в сутки среди учащихся регистрировалось 7 случаев заболевания,

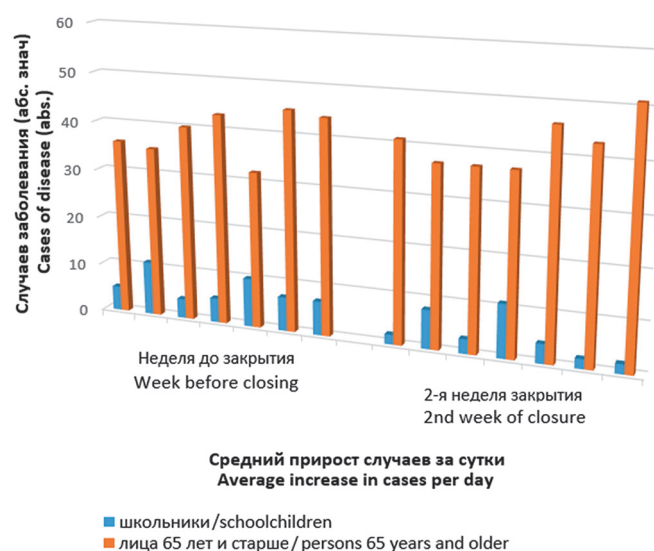


Рис. 1. Динамика заболеваемости COVID-19 среди школьников и лиц 65 лет и старше во время закрытия школ Саратовской области в 2020 г. (сравнение недели до закрытия и 2-й недели закрытия)

Fig. 1. Dynamics of the COVID-19 incidence among schoolchildren and persons aged 65 years and older during the closure of schools in the Saratov Region in 2020 (comparison of the week before closure and the 2nd week of closure)

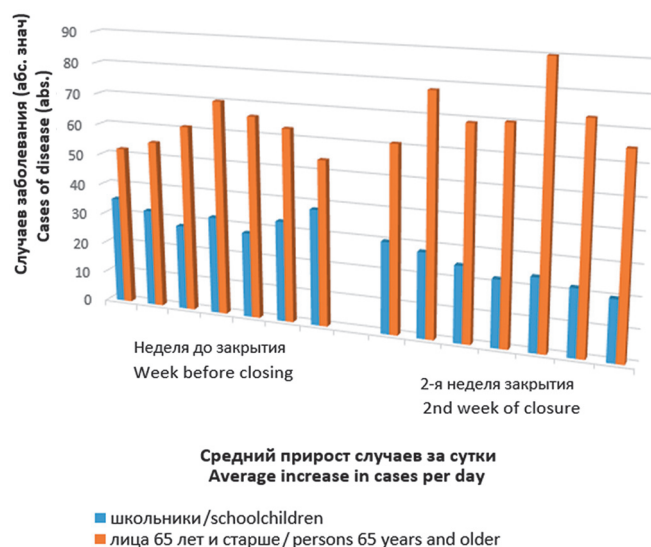


Рис. 2. Динамика заболеваемости COVID-19 среди школьников и лиц 65 лет и старше во время закрытия школ Саратовской области в 2021 г. (сравнение недели до закрытия и 2-й недели закрытия)

Fig. 2. Dynamics of the COVID-19 incidence among schoolchildren and persons aged 65 years and older during the closure of schools in the Saratov region in 2021 (comparison of the week before closure and the 2nd week of closure)

а на второй неделе закрытия данный показатель снизился до 4 случаев, что демонстрирует снижение заболеваемости среди школьников на 42,9 %. При этом в ходе анализа также отмечен подъем заболеваемости среди лиц 65 лет и старше, о чем свидетельствует рост числа случаев заболевания с 39 в сутки в среднем до 42 случаев среди данной возрастной группы (7,2 %).

При рассмотрении периода закрытия школ в 2021 г. (рис. 2) отмечен аналогичный эффект, заключающийся в снижении заболеваемости среди учащихся на 15,6 %. На предшествующей закрытию школ неделе в среднем за сутки среди школьников регистрировалось 32 случая заболевания, тогда как спустя две недели показатель снизился до 27 случаев. При этом, как и в первом наблюдении, зафиксирован рост заболеваемости среди лиц старше 65 лет: количество заболевших до закрытия школ составляло в среднем 60 человек в сутки и увеличилось до 72 за две недели (17,8 %).

В период очередного закрытия школ в 2022 г. имел место рост заболеваемости COVID-19 среди учащихся на 7,8 % (рис. 3), что, вероятно, связано с распространением высококонтагиозного штамма Omicron, сдерживание которого крайне затруднено из-за высокой доли бессимптомных носителей. На предшествующей закрытию школ неделе в среднем среди учащихся регистрировалось 272 случая заболевания, а уже через две недели показатель возрос до 295 случаев. При этом среди лиц 65 лет и старше уровень заболеваемости за анализируемый период так же, как и в предыдущие наблюдения, продемонстрировал рост (44,2 %), увеличившись в среднем с 223 случаев заболевания до 399 случаев за две недели.

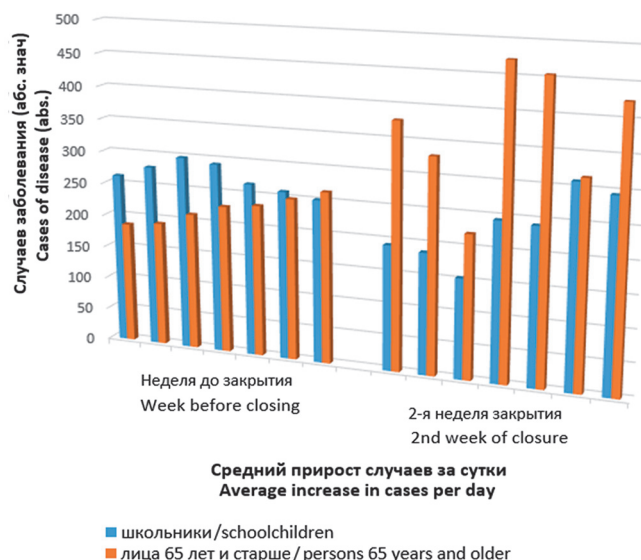


Рис. 3. Динамика заболеваемости COVID-19 среди учащихся и лиц 65 лет и старше во время закрытия школ Саратовской области в 2022 г. (сравнение недели до закрытия и 2-й недели закрытия)

Fig. 3. Dynamics of the COVID-19 incidence among schoolchildren and persons aged 65 years and older during the closure of schools in the Saratov R egion in 2022 (comparison of the week before closure and the 2nd week of closure)

Полученные результаты показывают отсутствие эффективности временного перевода школьников Саратовской области на дистанционное обучение как регламентированного мероприятия, направленного на борьбу с распространением COVID-19, при том, что оно показало определенную эффективность при острых респираторных вирусных инфекциях.

В каждом из анализируемых временных периодов выявлено статистически значимое увеличение заболеваемости среди лиц 65 лет и старше, что, вероятно, связано с тем, что школьники (чаще всего младшего возраста) при переводе на удаленный режим обучения в большинстве случаев остаются под присмотром родственников пожилого возраста ввиду занятости родителей. Увеличение заболеваемости среди лиц старше 65 лет имеет большое эпидемиологическое значение, так как именно эта возрастная категория подвержена тяжелому течению COVID-19, осложнениям и летальному исходу [15, 16].

Таким образом, в случае с COVID-19 временный перевод учащихся на дистанционное обучение является нецелесообразной мерой ввиду того, что в эпидемический процесс наряду с детским населением, имеющим низкую долю в общей структуре заболеваемости, активнее вовлекается наиболее уязвимая категория населения (лица 65 лет и старше), что в свою очередь способно привести к значительному ухудшению эпидситуации.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Poorolajal J. The global pandemics are getting more frequent and severe. *J. Res. Health Sci.* 2021; 21(1):e00502. DOI: 10.34172/jrhs.2021.40.
2. Ткачева О.Н., Котовская Ю.В., Алексанян Л.А., Мильто А.С., Наумов А.В., Стражеско И.Д., Воробьева Н.М., Дудинская Е.Н., Малая И.П., Крылов К.Ю., Тяхменев Е.А., Розанов А.В., Остапенко В.С., Маневич Т.М., Щедрина А.Ю., Семенов Ф.А., Мхитарян Э.А., Ховасова Н.О., Ерусланова К.А., Котовская Н.В., Шарашкина Н.В. Новая коронавирусная инфекция SARS-CoV-2 у пациентов пожилого и старческого возраста: особенности профилактики, диагностики и лечения. *Согласованная позиция экспертов Российской ассоциации геронтологов и гериатров. Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2020; 19(3):2601. DOI: 10.15829/1728-8800-2020-2601.
3. Ludvigsson J.F. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. *Acta Paediatr.* 2020; 109(6):1088–95. DOI: 10.1111/apa.15270.
4. Ирфан О., Танг К., Арии М., Бхутта З.А. Эпидемиология, характеристика и влияние COVID-19 на детей, подростков и беременных женщин. *Педиатрическая фармакология.* 2020; 17(4):352–9. DOI: 10.15690/pf.v17i4.2168.
5. Сбой в образовании и ответные меры в связи с COVID-19 [Электронный ресурс]. URL: <https://en.unesco.org/themes/education-emergencies/coronavirus-school-closures> (дата обращения 22.06.2023).
6. Рекомендации по принятию мер по защите здоровья в общеобразовательных учреждениях в связи с распространением COVID-19. Приложение к Принципам корректировки мер по защите здоровья населения и социальных мер в связи с распространением COVID-19 (от 14 сентября 2020 г.). Всемирная организация здравоохранения, Организация Объединенных Наций по вопросам образования, науки и культуры, Детский фонд Организации Объединенных Наций (ЮНИСЕФ). [Электронный ресурс]. URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/334294/WHO-2019-nCoV-Adjusting_PH_measures-Schools-2020.2-rus.pdf?sequence=21&isAllowed=y (дата обращения 13.07.2023).
7. Гаращенко Т.И., Ильенко Л.И., Гаращенко М.В., Ершов Ф.И., Попов В.В. Опыт организации неспецифической профилактики гриппа и ОРВИ в школьных коллективах. *Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского.* 2015; 94(4):122–7.
8. Фельдблюм И.В., Девятков М.Ю., Полушкина А.В., Наумов О.Ю. Роль специфической профилактики и изоляционно-ограничительных мероприятий в снижении заболеваемости гриппом и ОРВИ детей организованных коллективов. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНСО.* 2011; 2:44–7.
9. Jackson C., Vynnycky E., Hawker J., Olowokure B., Mangtan P. School closures and influenza: systematic review of epidemiological studies. *BMJ Open.* 2013; 3(2):e002149. DOI: 10.1136/bmjopen-2012-002149.
10. Davis B.M., Markel H., Navarro A., Wells E., Monto A.S., Aiello A.E. The effect of reactive school closure on community influenza-like illness counts in the state of Michigan during the 2009 H1N1 pandemic. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60(12):e90–7. DOI: 10.1093/cid/civ182.
11. Kawano S., Kakehashi M. Substantial impact of school closure on the transmission dynamics during the pandemic flu H1N1-2009 in Oita, Japan. *PLoS One.* 2015; 10(12):e0144839. DOI: 10.1371/journal.pone.0144839.
12. Saban M., Myers V., Ben-Shetrit S., Wilf-Miron R. Socioeconomic gradient in COVID-19 vaccination: evidence from Israel. *Int. J. Equity Health.* 2021; 20(1):242. DOI: 10.1186/S12939-021-01566-4.
13. McKinnon B., Quach C., Dubé È., Tuong Nguyen C., Zinszer K. Social inequalities in COVID-19 vaccine acceptance and uptake for children and adolescents in Montreal, Canada. *Vaccine.* 2021; 39(49):7140–5. DOI: 10.1016/j.vaccine.2021.10.077.
14. Иванова А.В., Поспелов М.В., Зимирова А.А., Карнаухов И.Г., Щербак С.А., Кутырев В.В., Вяткин И.Н., Матвеева Н.И., Кожанова О.И. Характеристика эпидемического процесса COVID-19 в Саратовской области. [Электронный ресурс]. URL: <https://covid19-preprints.microbe.ru/files/233>. DOI: 10.21055/preprints-3111894.
15. Щербак С.Г., Камилова Т.А., Голота А.С., Вологжанин Д.А. Факторы риска тяжелого течения и летального исхода COVID-19. *Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация.* 2022; 4(1):14–36. DOI: 10.36425/rehab104997.
16. Акимкин В.Г., Кузин С.Н., Семененко Т.А., Плоскирева А.А., Дубоделов Д.В., Тиванова Е.В., Пшенничная Н.Ю., Каленская А.В., Яцышина С.Б., Шипулина О.Ю., Родионова Е.Н., Петрова Н.С., Соловьева И.В., Квасова О.А., Вершинина М.А., Мамошина М.В., Клущкина В.В., Чурилова Н.С., Панасио Я.В., Власенко Н.В., Остроушко А.А., Балмасов Е.С., Мосунов А.В. Гендерно-возрастная характеристика пациентов с COVID-19 на

разных этапах эпидемии в Москве. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 3:27–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-27-35.

References

1. Poorolajal J. The global pandemics are getting more frequent and severe. *J. Res. Health Sci.* 2021; 21(1):e00502. DOI: 10.34172/jrhs.2021.40.
2. Tkacheva O.N., Kotovskaya Yu.V., Aleksanyan L.A., Mil'to A.S., Naumov A.V., Strazhesko I.D., Vorob'eva N.M., Dudinskaya E.N., Malaya I.P., Krylov K.Yu., Tyukhmenev E.A., Rozanov A.V., Ostapenko V.S., Manevich T.M., Shchedrina A.Yu., Semenov F.A., Mkhitaran E.A., Khovasova N.O., Eruslanova K.A., Kotovskaya N.V., Sharashkina N.V. [New coronavirus infection SARS-CoV-2 in elderly and senile patients: features of prevention, diagnosis and treatment. Agreed position of experts of the Russian Association of Gerontologists and Geriatricians]. *Kardiovaskulyarnaya Terapiya i Profilaktika [Cardiovascular Therapy and Prevention]*. 2020; 19(3):2601. DOI: 10.15829/1728-8800-2020-2601.
3. Ludvigsson J.F. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. *Acta Paediatr.* 2020; 109(6):1088–95. DOI: 10.1111/apa.15270.
4. Irfan O., Tang K., Ariy M., Bhutta Z.A. [Epidemiology, characteristics and impact of COVID-19 on children, adolescents and pregnant women]. *Pediatricheskaya Farmakologiya [Pediatric Pharmacology]*. 2020; 17(4):352–9. DOI: 10.15690/pf.v17i4.2168.
5. [Disruptions in education and responses to COVID-19]. (Cited 22 June 2023). [Internet]. Available from: <https://en.unesco.org/themes/education-emergencies/coronavirus-school-closures>.
6. [Recommendations for taking measures to protect health in educational institutions in connection with the spread of COVID-19. Appendix to the Principles for Adjusting Public Health and Social Measures in Relation to the Spread of COVID-19 (dated September 14, 2020). World Health Organization, United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization and Children's Fund of United Nations Organization (UNICEF)]. (Cited 13 July 2023). [Internet]. Available from: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/334294/WHO-2019-nCoV-Adjusting_PH_measures-Schools-2020.2-rus.pdf?sequence=21&isAllowed=y.
7. Garashchenko T.I., Il'enko L.I., Garashchenko M.V., Ershov F.I., Popov V.V. [Experience in organizing non-specific prevention of influenza and ARVI in school groups]. *Pediatrics. Zhurnal Imeni G.N. Speranskogo [Pediatrics. Journal named after G.N. Speransky]*. 2015; 94(4):122–7.
8. Fel'dblyum I.V., Devyatkov M.Yu., Polushkina A.V., Naumov O.Yu. [The role of specific prevention and isolation-restrictive measures in reducing the incidence of influenza and ARVI in children in organized communities]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2011; (2):44–7.
9. Jackson C., Vynnycky E., Hawker J., Olowokure B., Mangtan P. School closures and influenza: systematic review of epidemiological studies. *BMJ Open.* 2013; 3(2):e002149. DOI: 10.1136/bmjopen-2012-002149.
10. Davis B.M., Markel H., Navarro A., Wells E., Monto A.S., Aiello A.E. The effect of reactive school closure on community influenza-like illness counts in the state of Michigan during the 2009 H1N1 pandemic. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60(12):e90–7. DOI: 10.1093/cid/civ182.
11. Kawano S., Kakehashi M. Substantial impact of school closure on the transmission dynamics during the pandemic flu H1N1-2009 in Oita, Japan. *PLoS One.* 2015; 10(12):e0144839. DOI: 10.1371/journal.pone.0144839.
12. Saban M., Myers V., Ben-Shetrit S., Wilf-Miron R. Socioeconomic gradient in COVID-19 vaccination: evidence from Israel. *Int. J. Equity Health.* 2021; 20(1):242. DOI: 10.1186/S12939-021-01566-4.
13. McKinnon B., Quach C., Dubé È., Tuong Nguyen C., Zinszer K. Social inequalities in COVID-19 vaccine acceptance and uptake for children and adolescents in Montreal, Canada. *Vaccine.* 2021; 39(49):7140–5. DOI: 10.1016/j.vaccine.2021.10.077.
14. Ivanova A.V., Pospelov M.V., Zimirova A.A., Karnaukhov I.G., Shcherbakova S.A., Kuttyrev V.V., Vyatkin I.N., Matveeva N.I., Kozhanova O.I. [Characteristics of the epidemic process of COVID-19 in the Saratov Region]. [Internet]. Available from: <https://covid19-preprints.microbe.ru/files/233>. DOI: 10.21055/preprints-3111894.
15. Shcherbak S.G., Kamilova T.A., Golota A.S., Vologzhanin D.A. [Risk factors for severe course and lethal outcome of COVID-19]. *Fizicheskaya i Reabilitatsionnaya Meditsina, Meditsinskaya Reabilitatsiya [Physical and Rehabilitation Medicine, Medical Rehabilitation]*. 2022; 4(1):14–36. DOI: 10.36425/rehab104997.
16. Akimkin V.G., Kuzin S.N., Semenenko T.A., Ploskireva A.A., Dubodelov D.V., Tivanova E.V., Pshenichnaya N.Yu., Kalenskaya A.V., Yatsyshina S.B., Shipulina O.Yu., Rodionova E.N., Petrova N.S., Solov'eva I.V., Kvasova O.A., Verшинina M.A.,

Mamoshina M.V., Klushkina V.V., Churilova N.S., Panasyuk Y.V., Vlasenko N.V., Ostroushko A.A., Balmasov E.S., Mosunov A.V. [Gender-Age Distribution of Patients with COVID-19 at Different Stages of Epidemic in Moscow]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):27–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-27-35.

Authors:

Zimirova A.A., Kuklev V.E., Safronov V.A., Kuklev E.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Vyatkin I.N. Rospotrebnadzor Administration in the Saratov Region. 7, Volskaya St., Saratov, 410028, Russian Federation. E-mail: sarrpn@san.ru.

Об авторах:

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

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: 10.21055/0370-1069-2023-3-93-98

УДК 616.98:579.852.11

Ф.В. Логвин¹, О.В. Семенова², А.Г. Рязанова², И.В. Жарникова², Л.Ю. Аксенова², Д.В. Русанова²,
С.А. Курчева², О.Л. Старцева², А.С. Геогджаян², А.Н. Куличенко²

Оценка эффективности использования магнимоносорбентов для селективного концентрирования спор возбудителя сибирской язвы

¹ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт», Ставрополь, Российская Федерация

Цель исследования – оценка эффективности использования разработанных сибиреязвенных магнимоносорбентов (МИС) для селективного концентрирования спор *Bacillus anthracis* и повышения чувствительности методов детекции возбудителя сибирской язвы, в том числе при исследовании проб почвы. **Материалы и методы.** Исследование проведено на 10 вакцинных штаммах *B. anthracis*, 30 штаммах близкородственных бацилл рода *Bacillus* (*B. cereus* – 15, *B. thuringiensis* – 10, *B. megaterium* – 5) с типичными видовыми свойствами. В работу были взяты три экспериментальные серии магнимоносорбентов. Экстракцию ДНК и постановку ПЦР проводили согласно инструкции по применению набора реагентов для выявления ДНК *B. anthracis* «АмплиСенс *Bacillus anthracis*-FRT». **Результаты и обсуждение.** Показано, что при использовании МИС чувствительность культурального метода возрастает не менее чем в 7 раз (с учетом возможности сорбции на частице сорбента 1–10 и более спор). Чувствительность ПЦР-метода возрастает в 10 раз и составляет 50 спор *B. anthracis* в 1 мл для образцов, концентрированных на МИС. При исследовании искусственно контаминированных спорами *B. anthracis* проб почвы с использованием МИС чувствительность бактериологического метода возрастает в 7,5 раза. Таким образом, применение разработанных МИС позволяет существенно повысить чувствительность методов детекции возбудителя сибирской язвы и может рассматриваться в качестве эффективного способа пробоподготовки при исследовании объектов окружающей среды (почвы).

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, сибирская язва, диагностика, иммуномагнитные сорбенты, селективное концентрирование, полимеразная цепная реакция, лабораторная диагностика, исследование почвы.

Корреспондирующий автор: Семенова Ольга Викторовна, e-mail: anthraxlab.stv@mail.ru.

Для цитирования: Логвин Ф.В., Семенова О.В., Рязанова А.Г., Жарникова И.В., Аксенова Л.Ю., Русанова Д.В., Курчева С.А., Старцева О.Л., Геогджаян А.С., Куличенко А.Н. Оценка эффективности использования магнимоносорбентов для селективного концентрирования спор возбудителя сибирской язвы. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:93–98. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-93-98

Поступила 18.11.2022. Принята к публ. 01.03.2023.

F.V. Logvin¹, O.V. Semenova², A.G. Ryazanova², I.V. Zharnikova², L.Yu. Aksanova², D.V. Rusanova²,
S.A. Kurcheva², O.L. Startseva², A.S. Geogdzhayanyan², A.N. Kulichenko²

Assessment of the Effectiveness of Using Magnoimmunosorbents for the Selective Concentration of Anthrax Agent Spores

¹Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation;

²Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to assess the effectiveness of the developed anthrax magnoimmunosorbents (MIS) for the selective concentration of *Bacillus anthracis* spores and to increase the sensitivity of anthrax agent detection techniques, including when testing soil samples. **Materials and methods.** We used 10 vaccine strains of *B. anthracis* and 30 strains of closely related bacilli of the genus *Bacillus* (*B. cereus* – 15, *B. thuringiensis* – 10, *B. megaterium* – 5) with typical species properties. The work was performed on three experimental batches of magnoimmunosorbents. DNA extraction and PCR setting was carried out in compliance with the instructions for reagent panel for *B. anthracis* DNA detection “ApliSens *Bacillus anthracis*-FRT”. **Results and discussion.** It is shown that when using MIS, the sensitivity of the cultural method is increased by at least 7 times (taking into account the possibility of sorption of 1–10 or more spores on a sorbent particle). The sensitivity of the PCR method is improved by 10 times and amounts to 50 *B. anthracis* spores per 1 ml for the samples concentrated with the help of MIS. The sensitivity of the bacteriological method using MIS increases by a factor of 7.5 when testing the artificially contaminated with *B. anthracis* soil samples. Hence, application of the developed MIS makes it possible to significantly enhance the sensitivity of anthrax agent detection methods and can be considered as an effective means of sample preparation for the investigation of environmental objects (soil).

Key words: *Bacillus anthracis*, anthrax, diagnostics, immunomagnetic sorbents, selective concentration, polymerase chain reaction, laboratory diagnosis, studies of soil.

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

Funding: The work was carried out as part of the research project “Improving the methods of indication, identification of *Bacillus anthracis* and laboratory diagnosis of anthrax” under section 48.03 of the Sectoral Research Program of the Rospotrebnadzor for 2016–2020 “Problem-oriented scientific research in the field of epidemiological surveillance over infectious and parasitic diseases”.

Corresponding author: Olga V. Semenova, e-mail: anthraxlab.stv@mail.ru.

Citation: Logvin F.V., Semenova O.V., Ryazanova A.G., Zhamikova I.V., Aksenova L.Yu., Rusanova D.V., Kurcheva S.A., Startseva O.L., Geogdzhayan A.S., Kulichenko A.N. Assessment of the Effectiveness of Using Magnaimmunosorbents for the Selective Concentration of Anthrax Agent Spores. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:93–98. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-93-98

Received 18.11.2022. Accepted 01.03.2023.

Logvin F.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4410-1677>
Semenova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0274-898X>
Ryazanova A.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5196-784X>
Zhamikova I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8443-4089>
Aksenova L.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7744-3112>

Rusanova D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2229-6570>
Kurcheva S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3564-0791>
Startseva O.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5493-5296>
Geogdzhayan A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5563-8659>
Kulichenko A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Bacillus anthracis принадлежит к группе *Bacillus cereus* рода *Bacillus*, которая объединяет *B. anthracis* и близкородственные бациллы *B. cereus* (*sensu stricto*), *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. weichenstephanensis*, *B. wiedmannii*, *B. cytotoxicus*, *B. toyonensis*, *B. manliponensis*, *B. bingmayongensis*, *B. gaemokensis* [1]. Эти бациллы принадлежат к одной экологической нише, являясь почвенными микроорганизмами, и обладают значительной генетической и антигенной гомологией.

Споры *B. anthracis* характеризуются высокой устойчивостью к физическим и химическим воздействиям и поэтому обладают способностью длительно сохраняться в почве с формированием стойких почвенных очагов сибирской язвы, к которым в первую очередь относятся места захоронений павших животных.

В Российской Федерации насчитывается свыше 35 тыс. стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов, в которых учтено около 8 тыс. сибиреязвенных захоронений (СЯЗ) [2, 3]. Освоение новых территорий, строительство, разработка месторождений природных ресурсов, прокладка магистралей, выполнение других земляных работ на территориях с СЯЗ может привести к вспышкам сибирской язвы. Это обуславливает актуальность совершенствования методологий оценки эпидемиологической опасности СЯЗ [4].

Однако, как показывают исследования, частота обнаружения *B. anthracis* при исследовании почвы СЯЗ не превышает 3–4 % [5, 6]. Низкая частота выявления *B. anthracis* обусловлена неравномерным распределением возбудителя в СЯЗ и низкой концентрацией спор *B. anthracis* в пробах почвы. Сложность выделения *B. anthracis* из почвы также сопряжена с высоким уровнем содержания в пробах различных микроорганизмов, включая близкородственные бактерии рода *Bacillus* [7, 8]. Поэтому исследование почвы требует наличия высокоэффективных методов селективного концентрирования спор возбудителя. Один из перспективных методических подходов для прямого концентрирования микроорганизмов – иммуномагнитная сепарация, основанная на использовании магносорбентов с иммобилизованными на их поверхности лигандами (моноклональными и поликлональными антителами) [9–12]. Данный способ ранее показал свою эффективность при детекции возбудителей холеры и туляремии [13, 14]. Наиболее востребованным этот метод может быть при исследовании СЯЗ для определения их эпидемиологической опасности.

Цель работы – оценка эффективности использования магноиммуносорбентов (МИС) для селективного концентрирования спор *B. anthracis* и повышения чувствительности методов детекции возбудителя сибирской язвы, в том числе при исследовании проб почвы.

Материалы и методы

Исследование проведено на 10 вакцинных штаммах *B. anthracis*, 30 штаммах близкородственных бацилл рода *Bacillus* (*B. cereus* – 15, *B. thuringiensis* – 10, *B. megaterium* – 5) из коллекции ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора. Штаммы обладали типичными видовыми культурально-морфологическими, биохимическими и генетическими свойствами.

При выполнении бактериологического анализа использовали среды производства ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора: бульон Хоттингера (БХ), агар Хоттингера (АХ), агар Гладстона – Филдса, селективную дифференциально-диагностическую среду (СДДС) с динатриевой солью пара-нитрофенилфосфата (500 мг/л), цефтазидимом (20 мг/л), амфотерицином В (10 мг/л) (рН 7,2).

Для детекции ДНК *B. anthracis* методом ПЦР использовали набор реагентов «АмплиСенс *Bacillus anthracis*-FRT» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия).

В работу были взяты три экспериментальные серии магноиммуносорбентов (1-21, 2-21, 3-21), полученные окислением сульфата железа (II) в присутствии нагретого гидроксида калия с формированием труднорастворимого соединения – гидроксида железа, обладающего сорбционными и магнитными свойствами. Ранее нами было показано, что применение в качестве лиганда иммуноглобулинов, выделенных каприловым методом из гипериммунной антиспоровой сыворотки, обеспечило специфичную адсорбцию спор из имитированных проб [15, 16].

При подготовке гомологичных (*B. anthracis*) и гетерологичных (близкородственные бациллы рода *Bacillus*) проб для определения количества спор в тестируемых образцах культур готовили рабочие разведения из взвесей спор, выращенных на агаре Гладстона – Филдса, по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-85-2021 (10 МЕ); из разведений $1 \cdot 10^{-5}$, $1 \cdot 10^{-6}$, $1 \cdot 10^{-7}$ делали высев по 100 мкл на чашки с АХ по три чашки на каждое разведение. Посевы выдерживали 18–20 ч при температуре 37 °С, затем подсчитывали количество выросших колоний и определяли количество спор.

С целью оценки уровня эффективности селективного концентрирования сибиреязвенных МИС проведены испытания с взвесями спор штаммов *B. anthracis* и близкородственных бацилл рода *Bacillus* в стерильной дистиллированной воде. Взвеси спор готовили во флаконах типа фалькон до конечной концентрации 10, 50, 100, 500 и 1000 спор в 1 мл (общий объем 10 мл). МИС добавляли в подготовленные взвеси спор из расчета 5 мкл на 1 мл пробы, перемешивали, инкубировали при температуре 37 °С в течение 15–20 мин. После этого при помощи дозатора удаляли воду из флакона, удерживая МИС на дне пробирки постоянным магнитом, добавляли 100 мкл дистиллированной воды. Для проведения бактериологического исследования МИС с сорбированными на них спорами из проб, содержащих 100 и 1000 спор в 1 мл, высевали на чашки с АХ по 100 мкл.

Контрольные образцы представляли из себя взвеси спор *B. anthracis* и близкородственных бацилл рода *Bacillus* в указанных концентрациях без добавления МИС, которые высевали на чашки с АХ по 100 мкл.

Для проведения ПЦР отмытые МИС в объеме 100 мкл из проб, содержащих 10, 50, 100, 500, 1000 спор/мл, с целью обеззараживания переносили в 0,9 мл БХ, инкубировали при 37 °С в течение 2,5 часов, затем добавляли свежеприготовленный раствор пенициллина (до конечной концентрации 1000 ед./мл) и инкубировали 15 мин при температуре 37 °С, далее пробы прогревали при 100 °С в течение 10 мин. Таким же образом готовили контрольные пробы без МИС. Экстракцию ДНК и постановку ПЦР проводили согласно инструкции по применению набора реагентов для выявления ДНК *B. anthracis* «АмплиСенс *Bacillus anthracis*-FRT».

На следующем этапе исследований тестировали эффективность селективного концентрирования сибиреязвенных МИС при работе с пробами почвы, искусственно загрязненными спорами возбудителя сибирской язвы. Для подготовки загрязненных проб в колбу помещали 100 г почвы, добавляли взвесь, содержащую 1000 спор *B. anthracis* (20 мл взвеси с концентрацией 50 спор/мл), перемешивали, оставляли при температуре окружающей среды на 18–24 ч. Далее в колбу с загрязненными пробами почвы вносили стерильную дистиллированную воду до конечного объема 10 мл. Перемешивали круговыми движениями в течение 5–10 мин, давали отстояться 5 мин, после чего надосадочную жидкость в объеме 10 мл переносили во флакон (типа фалькон), добавляли сибиреязвенные МИС и проводили пробоподготовку, как описано выше. Отмытые МИС в объеме 100 мкл высевали на питательные среды, исследовали методом ПЦР. В качестве контроля использовали искусственно загрязненные спорами *B. anthracis* пробы почвы без концентрирования на МИС.

Все эксперименты проводили в трех повторях.

Результаты и обсуждение

Полученные данные свидетельствуют о селективной сорбции спор *B. anthracis* на МИС. При посевной дозе 100 мкл из концентрации 100 спор/мл без МИС после инкубации при 37 °С в течение 18–20 ч в среднем вырастало 7 колоний, а после обработки с МИС – в среднем 48–50 колоний. При высева 100 мкл из концентрации 1000 спор/мл без концентрирования на МИС вырастало в среднем 66 колоний, после инкубации с МИС – 490 (рис. 1).

При учете посевов опытных образцов взвесей спор близкородственных бацилл после инкубации с сибиреязвенными МИС выявлено, что споры большей части взятых в исследование штаммов сапрофитов (21 из 30 тестируемых) не сорбировались МИС. Девять штаммов близкородственных бацилл через 18–24 ч при 37 °С формировали рост единичных колоний на АХ после инкубации с МИС, что обусловлено значительной генетической гомологией и антигенным родством *B. anthracis* и близкородственных микроорганизмов рода *Bacillus*.

В результате проведенных экспериментов положительные результаты ПЦР получены с пробами после инкубации с МИС, содержащими споры сибиреязвенного микроба в концентрации 50 спор/мл, тогда как при постановке ПЦР с контрольными образцами (без концентрирования на МИС) ДНК *B. anthracis* выявлена при наличии не менее 500 спор сибиреязвенного микроба в 1 мл пробы (рис. 2).

В экспериментах по тестированию селективного концентрирования сибиреязвенных МИС с пробами почвы, искусственно загрязненными спорами штаммов возбудителя сибирской язвы при посеве на СДДС 100 мкл жидкости, полученной после пробоподготовки загрязненных образцов почвы, содержащих 1000 спор в 100 г пробы, с использованием МИС, и инкубации при 37 °С в течение 18–20 ч наблюдали рост в среднем 45 фосфатазонегативных колоний *B. anthracis* и единичные колонии почвенных бацилл (рис. 3).

В посевах контрольных загрязненных проб почвы без использования МИС на СДДС отмечен рост в среднем 6 колоний *B. anthracis* и обильный рост фосфатазопозитивных почвенных бацилл (рис. 4).

Получены положительные результаты при постановке ПЦР с пробами почвы, концентрированными на МИС; в контрольных образцах почвы (без использования МИС) ДНК *B. anthracis* не выявлена.

Таким образом, результаты исследования показали, что пробоподготовка путем предварительного избирательного концентрирования спор *B. anthracis* на сибиреязвенных МИС позволяет повысить чувствительность методов детекции *B. anthracis*, в том числе при исследовании почвенных образцов, характеризующихся высоким содержанием микроорганизмов, включающих близкородственные бациллы. В ходе лабораторных испытаний установлено, что при

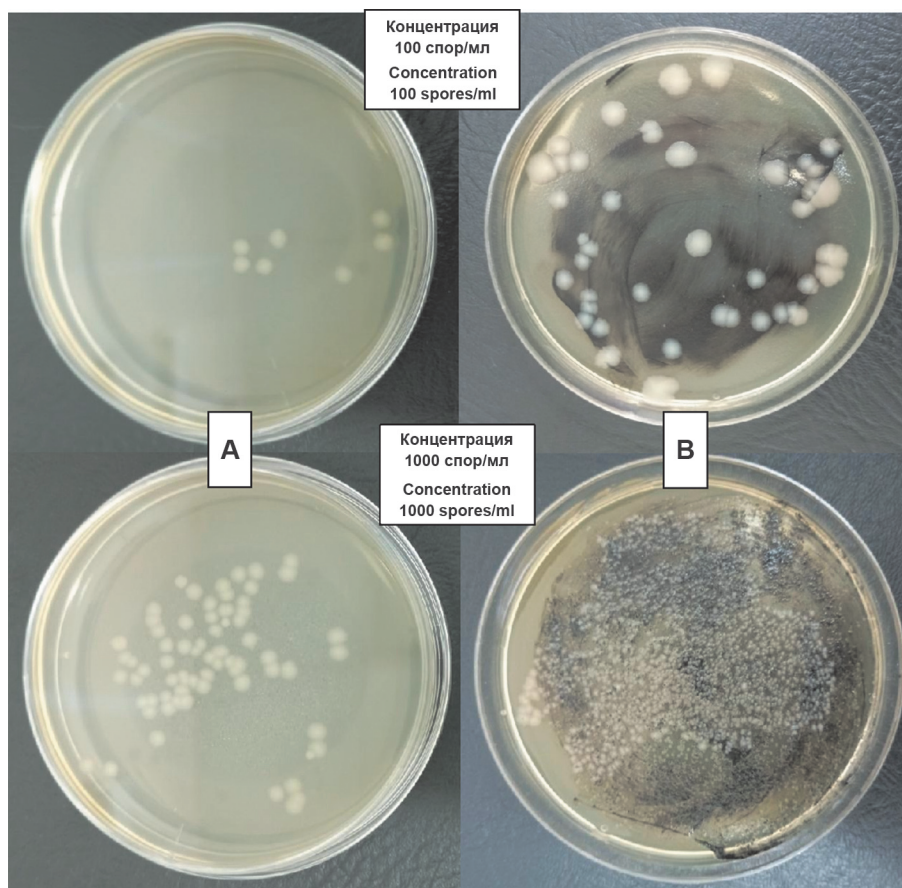


Рис. 1. Результат посева взвесей спор *B. anthracis* СТИ на АХ без применения МИС (А) и после инкубации с МИС (В)

Fig. 1. The results of seeding of *B. anthracis* STI spore suspensions on Hottinger's agar without magnoimmunosorbents (MIS) (A) and after incubation with MIS (B)

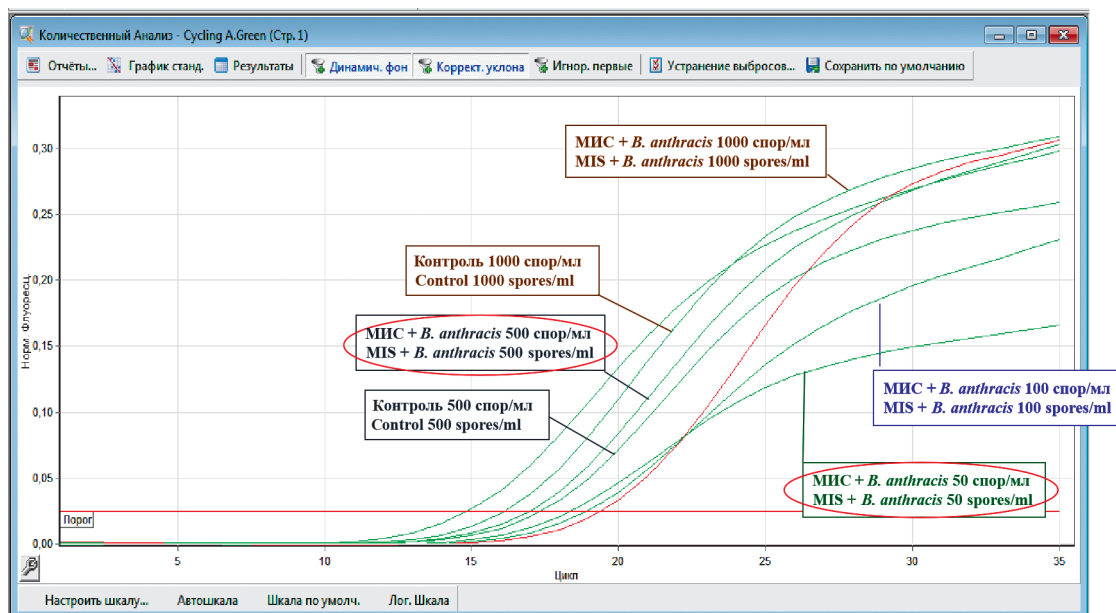


Рис. 2. Результаты оценки специфической активности (чувствительности) метода ПЦР при детекции проб *B. anthracis* СТИ в концентрациях 10–1000 спор/мл без применения МИС (контроль) и после инкубации с МИС

Fig. 2. Results of assessment of the specific activity (sensitivity) of PCR assay when detecting *B. anthracis* STI in concentrations of 10–1000 spores/ml without the use of MIS (control) and after incubation with MIS



Рис. 3. Результат посева образца почвы, искусственно загрязненного спорами *B. anthracis*, на СДДС после сорбции на МИС (опыт)

Fig. 3. The result of seeding a soil sample, artificially contaminated with *B. anthracis* spores, on selective differential diagnostic medium (SDDM) after sorption on MIS (experiment)

использовании МИС чувствительность бактериологического метода возрастает не менее чем в 7 раз, как при исследовании взвесей спор *B. anthracis*, так и образцов почвы, загрязненных спорами *B. anthracis*. При этом следует отметить, что на частицах МИС может сорбироваться различное количество спор (1–10 и более) и нет прямой корреляции между числом выросших колоний и количеством спор в пробе. Поэтому реальный уровень содержания спор в образце может быть на порядок выше.

Продemonстрировано, что для образцов, концентрированных на МИС, чувствительность метода ПЦР повышается в 10 раз и составляет 50 спор *B. anthracis* в 1 мл пробы. Результаты исследований позволяют сделать заключение, что использование МИС способствует выявлению *B. anthracis* в пробах почвы с концентрацией 1000 спор в 100 г (10 спор в 1 г) и более как при проведении бактериологического анализа, так и ПЦР.

Способность МИС к сорбции спор некоторых штаммов близкородственных бацилл не представляет проблему для лабораторной диагностики, поскольку сапрофиты исключаются из дальнейшего исследования по результатам комплекса идентификационных и дифференциально-диагностических бактериологических тестов, а использование ПЦР со специфичными для *B. anthracis* праймерами обеспечивает 100 % специфичность анализа.

Таким образом, очевидна перспективность практического применения данной технологии для повышения чувствительности лабораторного анализа при выявлении спор возбудителя сибирской язвы в объектах окружающей среды.

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

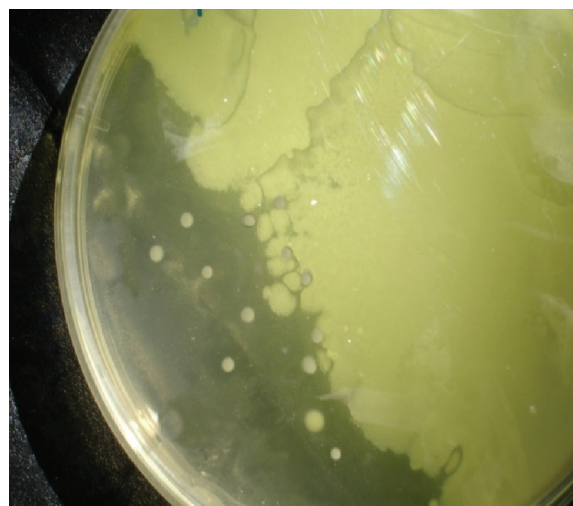


Рис. 4. Результат посева образца почвы, искусственно загрязненного спорами *B. anthracis*, на СДДС без применения МИС (контроль)

Fig. 4. The result of seeding a soil sample, artificially contaminated with *B. anthracis* spores, on SDDM without the use of MIS (control)

Финансирование. Работа выполнена в рамках научно-исследовательской работы «Совершенствование методов индикации, идентификации *Bacillus anthracis* и лабораторной диагностики сибирской язвы» раздела 48.03 Отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2016–2020 гг. «Проблемно-ориентированные научные исследования в области эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными болезнями».

Список литературы

1. Jung M.Y., Kim J.S., Paek W.K., Lim J., Lee H., Kim P.I., Ma J.Y., Kim W., Chang Y.H. *Bacillus manliponensis* sp. nov., a new member of the *Bacillus cereus* group isolated from foreshore tidal flat sediment. *J. Microbiol.* 2011; 49(6):1027–32. DOI: 10.1007/s12275-011-1049-6.
2. Черкасский Б.Л., редактор. Кадастр стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов Российской Федерации: Справочник. М.: ИНТЕРСЭН; 2005. 829 с.
3. Перечень скотомогильников (в том числе сибирезвенных), расположенных на территории Российской Федерации. Информ. издание. М.: ФГБНУ «Росинформагротех»; 2011–2013.
4. Буравцева Н.П., Мезенцев В.М., Рязанова А.Г., Головинская Т.М., Дегтярев Д.Ю., Пазенко А.Н., Семенова О.В., Куличенко А.Н. Использование геоинформационных систем для создания электронной базы данных сибирезвенных захоронений на территории Ставропольского края. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 4:31–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-31-36.
5. Черкасский Б.Л. Эпидемиология и профилактика сибирской язвы. М.: ИНТЕРСЭН; 2002. 384 с.
6. Симонова Е.Г., Картава С.А., Локтионова М.Н., Ладный В.И. Эпидемиологическая опасность сибирезвенных захоронений: теоретико-методологические аспекты. *Медицина в Кузбассе.* 2013; 12(2):26–31.
7. Рязанова А.Г., Еременко Е.И., Цыганкова О.И., Цыганкова Е.А. Усовершенствование методов идентификации атипичных штаммов возбудителя сибирской язвы и их дифференциация от близкородственных бацилл. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2009; 3:76–80.
8. Salgado J.R.S., Rabinovitch L., Gomes M.S., Allil R.C.D.S., Werneck M.M., Rodrigues R.B., Picão R.C., Oliveira Luiz F.B., Vivoni A.M. Detection of *Bacillus anthracis* and *Bacillus anthracis*-like spores in soil from state of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2020; 115:e200370. DOI: 10.1590/0074-02760200370.

9. Абгарян А.Г., Еременко Е.И., Ефременко В.И., Саркисова Н.В., Жарникова И.В., Афанасьев Е.Н., Жданова Е.В. Способ индикации возбудителя сибирской язвы в объектах внешней среды. Патент РФ № 2223499, опубли. 10.02.2004. Бюл. № 4.

10. Тюменцева И.С., Афанасьев Е.Н., Ляпустина Л.В., Коготкова О.И., Жарникова И.В., Ефременко В.И., Будыка Д.А., Василенко Н.Ф., Афанасьева Е.Е., Куличенко А.Н. Иммуномагнитные сорбенты для экспресс-диагностики опасных инфекционных заболеваний: аспекты биотехнологии и опыт применения. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 3:59–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-3(101)-59-61.

11. Жарникова Т.В., Жарникова И.В., Евченко Ю.М. Совершенствование биотехнологических процессов получения диагностических препаратов для выявления возбудителя туляремии с использованием иммобилизованных носителей. *Бактериология*. 2018; 3(1):55–8. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-55-58.

12. Цыганкова О.И., Еременко Е.И., Котенева Е.А., Буравцева Н.П., Воропаев В.В., Головинская Т.М., Семенова О.В., Рязанова А.Г. Сравнительная оценка эффективности лабораторных методов диагностики сибирской язвы и обнаружения ее возбудителя в объектах внешней среды. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(4):242–5. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-242-245.

13. Тюменцева И.С., Афанасьев Е.Н., Савельева И.В., Жарникова И.В., Жданова Е.В., Курчева С.А., Старцева О.Л., Куличенко А.Н. Разработка тест-систем магнитоиммунсорбентных для выявления холерного вибриона в объектах окружающей среды. *Здоровье населения и среда обитания*. 2014; 4:17–9.

14. Жарникова И.В., Ефременко В.И., Жарникова Т.В., Курчева С.А., Кальной С.М., Ефременко Д.В., Исакова А.А., Инденбом А.В. Серологические методы выявления возбудителя туляремии и их оценка. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2019; 4:32–8. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-4-32-38.

15. Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Гаркуша Ю.Ю., Жданова Е.В., Курчева С.А., Еременко Е.И., Буравцева Н.П., Головинская Т.М., Варфоломеева Н.Г., Рязанова А.Г. Разработка и изучение специфичности магнитоиммунсорбентов для детекции спорной формы *Bacillus anthracis*. В кн.: Куличенко А.Н., редактор. Актуальные проблемы болезней, общих для человека и животных: Материалы III Всерос. науч.-практ. конф. с международным участием. Ставрополь: Экспо-Медиа; 2019. С. 143–4. [Электронный ресурс]. URL: <https://snipchi.ru/updoc/2019/III%20Konferenziya.pdf>.

16. Жарникова И.В., Геогджаян А.С., Семирчева А.А., Гаркуша Ю.Ю., Жданова Е.В., Курчева С.А., Русанова Д.В., Афанасьев Е.Н. Конструирование магнитного иммуносорбента для селективного концентрирования спор сибиреязвенного микроба. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова*. 2022; 18(2):13–8.

References

1. Jung M.Y., Kim J.S., Paek W.K., Lim J., Lee H., Kim P.I., Ma J.Y., Kim W., Chang Y.H. *Bacillus manliponensis* sp. nov., a new member of the *Bacillus cereus* group isolated from foreshore tidal flat sediment. *J. Microbiol.* 2011; 49(6):1027–32. DOI: 10.1007/s12275-011-1049-6.

2. Cherkassky B.L., editor. [Cadastre of Stationary Potentially Hazardous as regards Anthrax Areas of the Russian Federation. Reference Book]. Moscow: “INTERSEN”; 2005. 829 p.

3. [The list of cattle burial sites (including anthrax ones) located on the territory of the Russian Federation: Inform. edition]. Moscow: “Rosinformagrotekh”; 2011–2013.

4. Buravtseva N.P., Mezentshev V.M., Ryzanova A.G., Golovinskaya T.M., Degtyarev D.Yu., Pazenko A.N., Semenova O.V., Kulichenko A.N. [Use of geographic information systems for creation of electronic database of anthrax burial sites in the Stavropol Territory]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (4):31–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-31-36.

5. Cherkassky B.L. [Epidemiology and Prevention of Anthrax]. Moscow: “INTERSEN”; 2002. 384 p.

6. Simonova E.G., Kartavaya S.A., Loktionova M.N., Ladny V.I. [Epidemiological hazard of anthrax burials: theoretical and methodological aspects]. *Medsina v Kuzbasse [J. Medicine in Kuzbass]*. 2013; 12(2):26–31.

7. Ryzanova A.G., Eremenko E.I., Tsygankova O.I., Tsygankova E.A. [Improvement of methods for identification of atypical strains of the anthrax agent and their differentiation from

closely related bacilli]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology]*. 2009; (3):76–80.

8. Salgado J.R.S., Rabinovitch L., Gomes M.S., Allil R.C.D.S., Werneck M.M., Rodrigues R.B., Picão R.C., Oliveira Luiz F.B., Vivoni A.M. Detection of *Bacillus anthracis* and *Bacillus anthracis*-like spores in soil from state of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 2020; 115:e200370. DOI: 10.1590/0074-02760200370.

9. Abgaryan A.G., Eremenko E.I., Efremenko V.I., Sarkisova N.V., Zharnikova I.V., Afanas'ev E.N., Zhdanova E.V. [The method of indication of the anthrax agent in environmental objects]. RF patent No. 2223499, publ. February 10, 2004 Bull. No. 4.

10. Tyumentseva I.S., Afanas'ev E.N., Lyapustina L.V., Kogotkova O.I., Zharnikova I.V., Efremenko V.I., Budyka D.A., Vasilenko N.F., Afanas'eva E.E., Kulichenko A.N. [Immune magnetic adsorbents used for express diagnosis of dangerous infectious diseases: biotechnology aspects and experience of application]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; (3):59–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-3(101)-59-61.

11. Zharnikova T.V., Zharnikova I.V., Evchenko Yu.M. [Improving biotechnological processes for production of diagnostic preparations for the detection of the causative agent of tularemia using immobilized carriers]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2018; 3(1):55–8. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-55-58.

12. Tsygankova O.I., Eremenko E.I., Koteneva E.A., Buravtseva N.P., Voropaev V.V., Golovinskaya T.M., Semenova O.V., Ryzanova A.G. [Comparative evaluation of the effectiveness of laboratory methods for anthrax diagnosis and the detection of its pathogen in environmental objects]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2016; 61(4):242–5. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-242-245.

13. Tyumentseva I.S., Afanas'ev E.N., Savel'eva I.V., Zharnikova I.V., Zhdanova E.V., Kurcheva S.A., Startseva O.L., Kulichenko A.N. [Development of magnoimmunisorbent test systems for the detection of *Vibrio cholerae* in environmental objects]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2014; (4):17–9.

14. Zharnikova I.V., Efremenko V.I., Zharnikova T.V., Kurcheva S.A., Kal'noy S.M., Efremenko D.V., Isakova A.A., Indenbom A.V. [Serological methods for detecting the causative agent of tularemia and their assessment]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2019; (4):32–8. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-4-32-38.

15. Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Garkusha Yu.Yu., Zhdanova E.V., Kurcheva S.A., Eremenko E.I., Buravtseva N.P., Golovinskaya T.M., Varfolomeeva N.G., Ryzanova A.G. [Development and study of the specificity of magnoimmunisorbents for the detection of the spore form of *Bacillus anthracis*]. In: Kulichenko A.N., editor. [Topical Issues of Diseases Common to Humans and Animals: Proceedings of the III All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation]. Stavropol: “Expo-Media”; 2019. P. 143–4. [Internet]. Available from: <https://snipchi.ru/updoc/2019/III%20Konferenziya.pdf>.

16. Zharnikova I.V., Geogdzhayan A.S., Semircheva A.A., Garkusha Yu.Yu., Zhdanova E.V., Kurcheva S.A., Rusanova D.V., Afanas'ev E.N. [Magnetic immunosorbent design for the selective concentration of spores of the anthrax microbe]. *[Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2022; 18(2):13–8.

Authors:

Logvin F.V. Rostov State Medical University. 29, Nakhichevansky Lane, Rostov-on-Don, 344022, Russian Federation. E-mail: okt@rostgmu.ru.

Semenova O.V., Ryzanova A.G., Zharnikova I.V., Aksenova L.Yu., Rusanova D.V., Kurcheva S.A., Startseva O.L., Geogdzhayan A.S., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Логвин Ф.В. Ростовский государственный медицинский университет. Российская Федерация, 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. E-mail: okt@rostgmu.ru.

Семенова О.В., Рязанова А.Г., Жарникова И.В., Аксенова Л.Ю., Русанова Д.В., Курчева С.А., Старцева О.Л., Геогджаян А.С., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-99-107

УДК 616.932(470.61)

Е.В. Монахова¹, А.К. Носков¹, В.Д. Кругликов¹, А.С. Водопьянов¹, Н.А. Селянская¹, Е.А. Меньшикова¹,
М.И. Ежова¹, Н.Б. Непомнящая¹, И.Г. Швиденко², О.А. Подойницына¹, Р.В. Писанов¹

Генотипическая характеристика клональных комплексов CTX-VPI⁺ *Vibrio cholerae* O1, обнаруживаемых в водоемах Ростовской области

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

²ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Цель работы – выявление генотипических особенностей клональных комплексов, образуемых CTX-VPI⁺ штаммами холерных вибрионов, выделенными в разные годы из водоемов Ростовской области, на основе биоинформационного анализа их полногеномных секвенсов (WGSs). **Материалы и методы.** Полногеномное секвенирование выполняли на платформе MiSeq (Illumina), идентификацию в WGSs генетических детерминант и биоинформационный анализ – с использованием программ BioEdit, BLASTN, BLASTP, CARD, Vector NTI. **Результаты и обсуждение.** В каждой группе изолятов 2002, 2005, 2007, 2020, 2021, 2022 гг. штаммы были практически идентичными и обнаруживались в разных точках отбора проб воды в течение более или менее длительных периодов (от 3 недель до 2 месяцев). Биоинформационный анализ WGSs представителей этих групп показал их разделение на 4 кластера, которые можно рассматривать как отдельные клональные комплексы, отличающиеся рядом характерных генетических маркеров: 1) изоляты 2002 г., содержащие один SNP в регуляторном гене *rpoS*; 2) штаммы 2007 г., несущие тандемно дублированный профаг preCTX; 3) штаммы, выделенные в 2020 г. в Ростове-на-Дону и в 2005 г. во время эпидосложнений в Каменском районе Ростовской области, которые имели «гибридный» остров патогенности, включающий кластер системы секреции 3-го типа и *nan-nag*-область острова VPI-2, а в гене *rpoS* присутствовало 9 SNP; 4) штаммы 2021 и 2022 гг. и единичный изолят 2018 г., содержащие делецию 9 п.н. в гене коллагеназы *vchC*. Несмотря на выявленные различия, представители всех клональных комплексов обладали достаточными наборами интактных детерминант факторов патогенности/персистенции для реализации вирулентных свойств и для обеспечения способности к выживанию в водоемах. Обнаружение в поверхностных водоемах клональных комплексов потенциально патогенных штаммов свидетельствует о периодическом создании благоприятных условий для их продолжительной циркуляции, что подчеркивает значимость постоянного мониторинга за холерными вибрионами на территории России.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, клональные комплексы, полногеномное секвенирование, биоинформационный анализ, факторы патогенности/персистенции.

Корреспондирующий автор: Монахова Елена Владимировна, e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru.

Для цитирования: Монахова Е.В., Носков А.К., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Селянская Н.А., Меньшикова Е.А., Ежова М.И., Непомнящая Н.Б., Швиденко И.Г., Подойницына О.А., Писанов Р.В. Генотипическая характеристика клональных комплексов CTX-VPI⁺ *Vibrio cholerae* O1, обнаруживаемых в водоемах Ростовской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:99–107. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-99-107

Поступила 14.10.2022. Отправлена на доработку 25.01.2023. Принята к публ. 30.05.2023.

E.V. Monakhova¹, A.K. Noskov¹, V.D. Kruglikov¹, A.S. Vodop'yanov¹, N.A. Selyanskaya¹,
E.A. Men'shikova¹, M.I. Ezhova¹, N.B. Nepomnyashchaya¹, I.G. Shvidenko², O.A. Podoinitsyna¹,
R.V. Pisanov¹

Genotypic Characteristics of CTX-VPI⁺ Clonal Complexes of *Vibrio cholerae* O1 Found in Water Bodies of the Rostov Region

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

²Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to identify genotypic features of clonal complexes formed by CTX-VPI⁺ strains of *Vibrio cholerae* isolated from water bodies of the Rostov Region in different years, based on bioinformatics analysis of their whole genome sequences (WGSs). **Materials and methods.** Whole genome sequencing was performed on the MiSeq (Illumina) platform; identification of genetic determinants in WGSs and bioinformatics analysis – by means of BioEdit, BLASTN, BLASTP, CARD, Vector NTI software packages. **Results and discussion.** The strains were almost identical in each group of 2002-, 2005-, 2007-, 2020-, 2021-, and 2022-isolates and were found at different points of water sampling over a longer or shorter periods of time (from 3 weeks to 2 months). Bioinformatics analysis of WGSs of representative strains divided them into 4 clusters, which can be considered as separate clonal complexes sharing a number of characteristic genetic markers: 1) 2002-isolates containing one SNP in regulatory *rpoS* gene; 2) 2007-strains carrying tandemly duplicated preCTX prophage; 3) strains isolated in 2020 in Rostov-on-Don and in 2005, during epidemiological complications in the Kamensk district of the Rostov Region, which had a “hybrid” pathogenicity island including the cluster of type 3 secretion system and the *nan-nag* region of the VPI-2 island, and 9 SNPs in *rpoS* gene; 4) 2021- and 2022-strains and a single 2018-isolate containing a 9 bp deletion in *vchC* collagenase gene. Despite the revealed differences, representatives of all clonal complexes possessed sufficient sets of intact determinants of pathogenicity/persistence factors to realize virulent properties and ability to survive in water bodies. Detection of clonal complexes of potentially pathogenic strains in surface water bodies indicates occasional emergence of favorable conditions

for their long-term circulation, which emphasizes the importance of constant monitoring of *V. cholerae* in the territory of Russia.

Key words: *Vibrio cholerae*, clonal complexes, whole genome sequencing, bioinformatics analysis, pathogenicity/persistence factors.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Elena V. Monakhova, e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru.

Citation: Monakhova E.V., Noskov A.K., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Selyanskaya N.A., Men'shikova E.A., Ezhova M.I., Nepomnyashchaya N.B., Shvidenko I.G., Podoinitsyna O.A., Pisanov R.V. Genotypic Characteristics of CTX-VPI⁺ Clonal Complexes of *Vibrio cholerae* O1 Found in Water Bodies of the Rostov Region. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:99–107. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-99-107

Received 14.10.2022. **Revised** 25.01.2023. **Accepted** 30.05.2023.

Monakhova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9216-7777>
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>
Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>
Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>
Selyanskaya N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0008-4705>

Men'shikova E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6003-4283>
Ezhova M.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4254-3313>
Nepomnyashchaya N.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0868-6791>
Podoinitsyna O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9996-4189>
Pisanov R.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7178-8021>

В процессе мониторинга за холерой из водных объектов окружающей среды (ООС) на территориях Российской Федерации ежегодно выделяются нетоксигенные (CTX⁻) штаммы *Vibrio cholerae* серогруппы O1. Несмотря на отсутствие эпидемической опасности, многие из них могут быть причастны к возникновению спорадических случаев и локальных вспышек острых кишечных инфекций (ОКИ) за счет экспрессии содержащихся в их геномах детерминант целого ряда факторов патогенности. В большинстве своем эти факторы одновременно способствуют обеспечению выживаемости холерных вибрионов в ООС [1], т.е. являются, по сути, факторами патогенности/персистенции. Иногда регистрируются случаи выделения практически идентичных штаммов из одних и тех же источников в диапазоне от трех недель до двух месяцев, и за это время может произойти заражение людей при условии наличия у вибрионов патогенетического потенциала. Ретроспективный анализ генотипов показал, что чаще всего клональные комплексы образуют штаммы, содержащие остров патогенности VPI с генами токсин-корегулируемых пилей TSP, тогда как CTX-VPI⁺ отличаются более выраженной гетерогенностью, хотя некоторые тоже обладают клональностью [2–5]. Так, в 2021 г. в Ростове-на-Дону был выявлен клональный комплекс, включающий 10 CTX-VPI⁺ изолятов, которые обнаруживались в воде р. Дон в трех разных точках отбора в течение трех недель. К этому же клональному комплексу был отнесен и единичный CTX-VPI⁺ штамм 2018 г., что указывало на возможность его длительной персистенции. Данный комплекс существенно отличался от такового 2020 г., образованного 8 CTX-VPI⁺ штаммами, выделенными из двух точек р. Мертвый Донец в течение более трех недель [5]. Полученные данные позволили предположить, что в регионе периодически складываются благоприятные условия для сохранения и распространения одинаковых штаммов в водоемах. Для адекватной оценки степени опасности клональных штаммов необходима их детальная генотипическая характеристика, включающая дальнейшее изучение геномов новых изолятов,

а также ретроспективный анализ генотипов штаммов предшествующих лет выделения и их сравнение со свежевыделенными.

Целью работы явилось выявление генотипических особенностей клональных комплексов, образуемых CTX-VPI⁺ штаммами холерных вибрионов, выделенными в разные годы из водоемов Ростовской области, на основе биоинформационного анализа их полногеномных сиквенсов.

Материалы и методы

Объектами исследования служили CTX-VPI⁺ штаммы *V. cholerae* O1, выделенные из ООС на территориях Ростова-на-Дону и Ростовской области. В табл. 1 показано общее число изолятов из разных точек, а число отобранных для секвенирования и биоинформационного анализа приведено в разделе «Результаты и обсуждение». Штаммы получены из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» Ростовского-на-Дону противочумного института, где хранились в лиофилизированном состоянии. Фенотипическую чувствительность/устойчивость штаммов к антибактериальным препаратам определяли методом двукратных серийных разведений в плотной питательной среде согласно МУК 4.2.2495-09.

ПЦР-детекцию генов факторов патогенности/персистенции с электрофоретическим учетом результатов проводили с использованием амплификатора «Терцик» («ДНК-Технология», Москва) и специфических праймеров, синтез которых осуществлен ЗАО «Евроген» (Москва). Набор генетических детерминант включал, помимо генов *ctxAB*, маркеры профагов preCTX (*rstRAB*, *cep*, *orfU*, *ace*, *zot*) и RS1 (*rstC*), островов патогенности VPI (*tcpA*, *toxT*, *tagA*, *aldA*, *mop*, *acfB*) и VPI-2 (*int*, *nanH*, *vce*), кластеров RTX (*rtxA*, *rtxC*), *msh* (*mshA*, *mshC*), систем секреции T3SS (*vcsN2*, *vcsC2*, *vcsV2*, *vspD*, *vopF*) и T6SS (*vasA*, *vasF*, *vasK*, *vgrG*, *hcp*), гены *chxA*, *cef*, *hapA*, *prtV*, *vesC*, *sto*, *toxR*, *hapR*, *ompW*, *ompU*.

Полногеномное секвенирование на платформе MiSeq (Illumina) и сборку геномов выполняли, как описано ранее [3], кластерный анализ полученных

Таблица 1 / Table 1

Общее число CTX-VPI⁺ штаммов, выделенных из разных стационарных точек
Total number of CTX-VPI⁺ strains isolated from different stationary sites

Годы Years	Даты Dates	Число штаммов Number of strains	Число стационарных точек Number of stationary sites	Источники выделения Sources of isolation	ПЦР-генотип PCR-genotype
2002	15.07–26.09	5	4	Таганровский залив, реки Дон, Темерник, Узяк Taganrog Bay, the rivers Don, Temernik, Uzyak	preCTX ⁻ , T3SS ⁻ , int ⁺ , nanH ⁺ , vce ⁺
2005	28.07–02.09	12+32 клин. clinical	1	оз. Ветровский карьер, больные, носители the lake Vetrovsky Quarry, patients, carriers	preCTX ⁻ , T3SS ⁺ , int ⁺ , nanH ⁺ , vce ⁻
2007	23.07–27.08	4	4	сточные воды, реки Дон, Темерник sewage waters, the rivers Don, Temernik	preCTX ⁺ , T3SS ⁻ , int ⁺ , nanH ⁺ , vce ⁺
2018	25.06	1	1	река Темерник river Temernik	preCTX ⁻ , T3SS ⁻ , int ⁺ , nanH ⁺ , vce ⁺
2020	10.08–02.09	8	2	река Мертвый Донец river Mertvy Donets	preCTX ⁻ , T3SS ⁺ , int ⁺ , nanH ⁺ , vce ⁻
2021	21.06–12.07	10	3	река Дон river Don	preCTX ⁻ , T3SS ⁻ , int ⁺ , nanH ⁺ , vce ⁺
2022	06.06–23.09	15	3	реки Дон, Темерник the rivers Don, Temernik	preCTX ⁻ , T3SS ⁻ , int ⁺ , nanH ⁺ , vce ⁺

сиквенсов (WGSs, whole genome sequences) проводили согласно предложенной ранее схеме [6], обновленная база включала 55 тыс. SNP.

Генетические детерминанты идентифицировали в WGSs с помощью программ BioEdit 7.2.5 (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit>) и BLASTN 2.2.29 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Прототипами служили геномы штаммов *V. cholerae* N16961 (AE003852, AE003853) и AM-19226 (AATY0200000000). Для поиска генетических детерминант лекарственной устойчивости использовали базу CARD (<https://card.mcmaster.ca>) и последовательности других найденных в NCBI генов, встречающихся у холерных вибрионов. Трансляцию генов, анализ их нуклеотидных последовательностей и аминокислотных (aa) последовательностей их продуктов осуществляли с использованием пакета программ Vector NTI Advance 11 (Invitrogen). Для определения наличия и локализации активных доменов в белках выполняли BLASTP-анализ (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Результаты и обсуждение

В процессе ПЦР-типирования установлено, что CTX-VPI⁺ штаммы, выделенные в течение каждого года, обладали идентичными друг другу генотипами, некоторые из которых полностью совпадали с таковыми штаммов других лет выделения (табл. 1). Для ответа на вопрос о клональном статусе данных групп мы выборочно провели секвенирование ДНК представителей изолятов всех лет, перечисленных в табл. 1, с последующим SNP-анализом полученных

WGSs. На рис. 1 показана дендрограмма, построенная по результатам этого анализа.

Как видно из рис. 1, WGSs изученных штаммов разделились на четыре кластера, каждый из которых можно рассматривать как отдельный клональный комплекс.

Штаммы 2002 г. образовали наиболее однородный по SNP-профилям кластер, что весьма неожиданно, поскольку они были выделены в течение более двух месяцев из разных точек, из которых две находились за пределами Ростова-на-Дону. Однако в

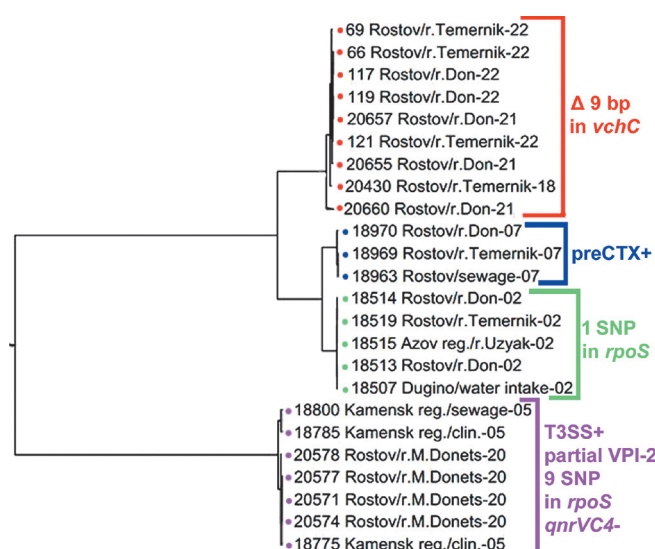


Рис. 1. Дендрограмма, построенная на основе анализа WGSs по 55 тыс. коровых SNP

Fig. 1. Dendrogram based on analysis of WGSs by 55 000 core SNPs

последующие годы такие штаммы в регионе не обнаруживались. Ближе всех к ним на дендрограмме располагались штаммы 2007 г., выделенные также из разных точек, но в пределах города. Они образовали отдельную ветвь и отнесены к другому клональному комплексу по причине обнаружения у них всех генов профага preCTX – RS2-элемента (*rstRAB*), *cep* (core encoded pilin), *orfU* (PIICTX), *ace* (accessory cholerae enterotoxin) и *zot* (zonula occludens toxin).

Изоляты 2022 г. вошли в один кластер с такими 2021 г. и идентичным им штаммом 2018 г. Очевидно, первые сохранились в ООС с прошлого года, а штаммы 2021 г., возможно, являются потомками последнего [5].

Наиболее отдаленный от других кластер объединил изоляты 2020 г., а также практически идентичные им штаммы 2005 г., выделенные в Каменском районе Ростовской области во время локальной вспышки ОКИ [2].

Дальнейший анализ был направлен на идентификацию в WGSs отдельных генов, их кластеров, геномных островов, мобильных элементов. У всех без исключения штаммов полностью отсутствовали, помимо CTX, профаг RS1, гены cholix-токсина *chxA*, термостабильного токсина *stn/sto*, острова пандемичности VSP-1 и VSP-2, но присутствовали

полные кластеры генов системы секреции 6-го типа (T6SS), биопленкообразования *vps1-rbm-vps2*, *msh*, жгутикообразования *fla1*, *fla2*, синтеза цитотоксина-актиномодулятора MARTX (*rtxACBDE*), интактные гены гемолизина *hlyA*, протеаз *hapA*, *prtV*, *vesA*, *vesB*, *vesC*, цитотонического токсина *cef*, регуляторов *toxR*, *hapR*, *hns*, *luxO*. Оказалось, что по большинству аллелей детерминант факторов патогенности/персистенции все штаммы почти не различались. Тем не менее нам удалось выявить и маркеры, характерные для каждого клонального комплекса (табл. 2, рис. 1).

Так, изоляты 2002 г. содержали полный остров патогенности VPI-2, значительно измененные по сравнению с прототипом кластеры *fla1* и *fla2*: в 7 из 8 генов обнаружено от 7 до 27 SNP с одной и той же локализацией у всех штаммов. Данные замены не привели к сдвигам рамок считывания (*orf*) либо образованию преждевременных стоп-кодонов, и гены остались интактными. Кроме того, 39 SNP присутствовали в гене *gyrA*, имеющем отношение к устойчивости к фторхинолонам. Другой ген такой резистентности, *qnrVC4*, выявлен у них программой CARD. В регуляторном гене *cytR* присутствовали 11 идентичных SNP.

Интересно, что такими же особенностями обладали и штаммы 2018, 2021 и 2022 гг. (один клональ-

Таблица 2 / Table 2

Основные различия между штаммами холерных вибрионов – представителями клональных комплексов по данным биоинформационного анализа WGSs

Main differences between *V. cholerae* strains - representatives of clonal complexes according to bioinformatics analysis of WGSs

Гены Genes	Годы Years	2002	2007	2005	2020	2021	2018	2022
	n/N	5/5	2/4	3/32	4/8	3/10	1/1	5/12
preCTX	профаг prophage	–	+ тандем + tandem	–	–	–	–	–
VPI2	остров island	полный complete	полный complete	фрагмент fragment	фрагмент fragment	полный complete	полный complete	полный complete
T3SS	кластер cluster	–	–	+	+	–	–	–
<i>vchC</i>	ген gene	pt	pt	pt	pt	Δ 9bp	Δ 9bp	Δ 9bp
<i>fla-1</i> (<i>flaA</i> , <i>C</i> , <i>fglL</i> , <i>M</i>)	кластер cluster	10, 27, 14, 15 SNP	10, 27, 14, 15 SNP	pt	pt	10, 27, 14, 15 SNP	10, 27, 14, 15 SNP	10, 27, 14, 15 SNP
<i>fla-2</i> (<i>flaE</i> , <i>D</i> , <i>B</i>)	кластер cluster	16, 7, 10 SNP	16, 7, 10 SNP	pt	pt	16, 7, 10 SNP	16, 7, 10 SNP	16, 7, 10 SNP
<i>gyrA</i>	ген gene	38 SNP	38 SNP	pt	pt	38 SNP	38 SNP	38 SNP
<i>qnrVC4</i>	ген gene	+	+	–	–	+	+	+
<i>cytR</i>	ген gene	11 SNP	11 SNP	pt	pt	11 SNP	11 SNP	11 SNP
<i>rpoS</i>	ген gene	1 SNP	pt	9 SNP	9 SNP	pt	pt	pt/ins6bp

Примечания: n/N – число секвенированных штаммов / общее число изолятов; pt – прототипные гены. Количество SNP определено по отношению к генам прототипа *V. cholerae* N16961.

Notes: n/N – number of sequenced strains / total number of isolates; pt – prototype genes. Number of SNPs is determined against *V. cholerae* N16961 prototype genes.

ный комплекс), причем все SNP полностью совпадали. Вместе с тем у них имелась делеция 9 п.н. в гене коллагеназы *vchC*, не сопровождающаяся сдвигом *orf*, но приведшая к укорочению продукта его трансляции на 3 аа, активные домены в нем сохранились.

У трех из пяти проанализированных изолятов 2022 г. внутри гена *proS* появилась вставка 6 п.н. без сдвига рамки, а в продукте трансляции – соответственно два «лишних» аа, что могло быть результатом мутационной изменчивости в процессе длительной персистенции в ООС.

Штаммы 2007 г., как отмечено выше, отличались от остальных присутствием в геноме tandemно дублированного профага *preCTX* с геном *rstR* типа Эль Тор. При этом в конце каждого из профагов располагался сайт специфической интеграции *attRS1*. Нуклеотидные последовательности двух профагов полностью совпадали, не считая 2 SNP в генах *zot*, но наличие тандема не вызывает сомнений, поскольку при сборке WGS штамма 18969 они попали в один контиг, где последовательность между *attRS1-1* и *rstR-2* (477 п.н.) совершенно не совпадала по длине и нуклеотидному составу с таковой между *attRS1-2* и последующим геном *rtxA* (333 п.н.). В геномах других штаммов найдено только по одной копии *preCTX*, однако в содержащих их контигах кроме дистального сайта *attRS1-2* в начале присутствовала часть *attRS1-1* (12–18 п.н.). Тандемная дубликация указывает на потенциальную способность к продукции вирионов *preCTXφ* [7]. Штаммы, содержащие *preCTX*, встречаются в водоемах России довольно редко и имеют заносное происхождение. Они обладают повышенным патогенным потенциалом, поскольку в состав профага входят гены дополнительных факторов патогенности *Ser*, *Ace* и *Zot*, которые могут утяжелять симптоматику ОКИ. По всей видимости, в 2007 г. имели место занос и последующее распространение нового клона, поскольку среди выделенных ранее *preCTX⁺* вибрионов ни один не содержал аллель *rstR* типа Эль Тор, имелись различия и по структуре других генов профага.

Штаммы 2020 и 2005 гг. обладали наибольшим числом отличительных маркеров. В первую очередь это присутствие в геномах полного интактного кластера T3SS, что указывает на потенциальную возможность системы экспрессироваться и в случае заражения людей вносить существенный вклад в развитие заболеваний. Известно, что эффекторы данной системы способствуют колонизации кишечника лабораторных животных и могут вызывать тяжелую диарею с летальным исходом [8–11]. Кроме того, заслуживает внимания предположение о ее возможном вкладе в выживаемость вибрионов в водных ООС в ассоциации с их обитателями [12]. Косвенным свидетельством в пользу такой вероятности может служить способность T3SS⁺ штаммов вызывать серьезное заболевание креветок в аквакультуре, хотя причастны к этому могут быть и другие факторы патогенности [13]. Другим отличительным

признаком клонального комплекса является неполный остров патогенности VPI-2, в котором отсутствовала протяженная проксимальная часть – кластер генов рестрикции-модификации, сохранилась интактная *nan-nag*-область, экспрессия которой обеспечивает катаболизм и транспорт сиаловых кислот. Последние служат источниками углерода для питания бактерий в разных экологических нишах [14, 15]. Дистальная часть VPI-2 практически отсутствовала, кластер фагоподобных генов был делетирован, сохранились только следующие за *nan-nag*-областью гены ДНК-связывающего белка (VC1785), ДНК-репаратора *radC* и завершающие этот кластер гены гипотетического белка VC1805 и фаговой репликазы VC1806. Ген гипотетического белка VC1804 утратил 12 первых аа включая старт-кодон. В литературе описана аналогичная структура, выявленная в геномах штаммов не только неO1/неO139, но и отдельных представителей серогруппы O1; авторы обозначили этот «гибридный» кластер как остров патогенности VPI-3 [16, 17]. Между кластером T3SS и участком VPI-2 находятся две неизвестные *orf*, отсутствующие у T3SS⁺ штаммов, содержащих полный VPI-2. Продукт трансляции одной из них программа BLASTP идентифицировала как гипотетический белок, а другой – как белок, содержащий Ig-подобный домен (Ig-like domain-containing protein). Функции этого белка, состоящего из 681 аа, остаются неизвестными. Вероятно, данные *orf* относятся к T3SS-кластеру, хотя на представленных в публикациях схемах в него не включены.

Ген интегразы находился в начале кластера T3SS и отличался от таковых других T3SS⁺ штаммов (WGSs которых получены нами ранее либо найдены в NCBI), но гену интегразы VPI-2 такой же длины (1236 п.н.) он идентичен на 98 %.

По всей видимости, исследуемые штаммы содержат «гибридный» остров патогенности VPI-3 (рис. 2), который мог образоваться в результате обмена проксимального участка VPI-2 на кластер T3SS и дополнительной делеции в дистальной части VPI-2. Как и у других T3SS⁺ холерных вибрионов, кластер интегрирован в хромосому рядом с геном *tPHK*, как и полный VPI-2 T3SS⁺ штаммов. Более того, перед геном *tPHK* в обоих случаях находится один и тот же ген транспортного белка семейства AcrB/D/F (VC1767), т.е. позиция «гибридного» острова не изменилась. Для ответа на вопросы, является ли такая структура специфичной для всех T3SS⁺ холерных вибрионов и в чем состоит смысл ее формирования, требуется дальнейший анализ с включением большего числа штаммов по сравнению с ограниченной выборкой, изученной на сегодняшний день.

Наконец, штаммы 2020 и 2005 гг. отличались наличием 9 SNP в гене сигма-фактора *proS*, не нарушивших его интактность. Повреждение этого гена могло бы привести к значительному снижению вирулентности и способности к колонизации кишечника [18].

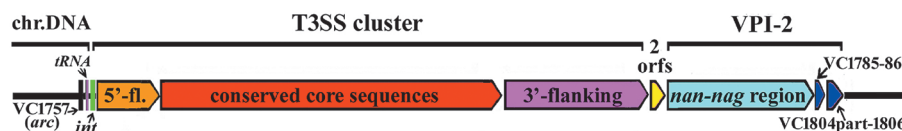


Рис. 2. Схематическое изображение структуры «гибридного» острова, включающего кластер T3SS и часть VPI-2, в геноме штаммов 2005 и 2020 гг.

Fig. 2. Schematic representation of the “hybrid” island structure, including T3SS cluster and a fragment of VPI-2, in the genome of 2005- and 2020-isolates

Обнаружение совпадения генотипов штаммов 2020 г. с таковыми 2005 г., вызвавшими эпидосложнения в Ростовской области более 15 лет назад, оказалось неожиданным. Во время упомянутой клональной вспышки идентичные друг другу штаммы выделялись не только от людей, но и из воды озера, используемого в рекреационных целях [2]. В связи с этим возникает вопрос, могли ли эти штаммы так долго сохраняться в ООС, ни разу себя не обнаружив в течение всего периода, например, перейдя в некультивируемое состояние [19]. Такая возможность полностью не исключена, хотя более вероятным представляется новый занос клона, сформировавшегося и циркулирующего в азиатских регионах. Вспышку 2005 г. связывали с трудовыми мигрантами из Таджикистана, работавшими в то время на стройке. Значительный поток трудовых мигрантов в Россию, в т.ч. в Ростовскую область, не прекращается, какая-то их часть может оставаться на ПМЖ, однако сомнения вызывает возможность столь длительного носительства. К сожалению, обследование людей на данной территории в отсутствие эпидпоказаний невозможно, как и получение штаммов из Таджикистана и других стран Азии.

Несмотря на выявленные различия, представители всех клональных комплексов обладали достаточными наборами интактных детерминант факторов патогенности/персистенции для реализации вирулентных свойств и для обеспечения способности к выживанию в ООС.

В частности, *tcp*-кластер в составе VPI обеспечивает продукцию TCP, которые не только являются ключевым фактором колонизации кишечника, но и способствуют биопленкообразованию на хитиновых поверхностях водных членистоногих [19, 20], что повышает персистентный потенциал холерных вибрионов. Другие факторы, обеспечивающие формирование биопленок, кодируются кластерами *msh* и *vpsI-rbm-vpsII* [3], имеющимися у всех изученных штаммов.

Присутствие основного и трех дополнительных (*Aux*-1, -2, -3) кластеров T6SS указывает на высокую вероятность ее экспрессии, несмотря на отсутствие *Aux*-4 (наличие *Aux*-5 не определяли в связи с недоступностью его сиквенса) [21, 22]. Эта система секреции является мощным фактором патогенности/персистенции, убивающим макрофаги и способствующим в организме человека колонизации кишечника, а в ООС – хитина ракообразных [18, 19, 21, 22]. Она защищает вибрионов от поедания одно-

клеточными хищниками и лизирует конкурентные бактерии, продукты лизиса которых используются как источники питания.

Все штаммы за счет присутствия интактных детерминант обладали потенциальной способностью к продукции MARTX, HlyA (VCC), Cef, протеаз HA/P, PrtV, VchC, VesA, VesB, VesC, IvaP, RssP [23, 24]. Многие структурные и регуляторные гены были идентичны либо близки прототипам, другие содержали довольно большое число нуклеотидных замен. Продукты трансляции таких измененных генов также отличались по первичной структуре, что, вероятно, сказывается на их активности в сторону усиления или ослабления. Однако мы полагаем, что при наличии широких спектров детерминант экспрессия хотя бы некоторых из них может обеспечивать реализацию патогенного и персистентного потенциала.

Во всех WGSs программами BioEdit и CARD не обнаружено большинства детерминант резистентности к антибиотикам, в частности к тетрациклинам (*tetA*, *R*), хлорамфениколу (*floR*, *catB9*), ампициллину и другим бета-лактамам (*blaP1*, *carb7*, 9, *blaNDM-1*), цефалоспорином (*blaCTX-M*), стрептомицину (*strA*, *B*, *aadA1*), канамицину (*aphA1*), гентамицину (*aadA2*), рифампицину (*arr2*, 3), триметоприму (*dfrA-18*, -1, -5, -12, -23), сульфаметоксазолу (*sul1*, 2). Что касается генов устойчивости к фторхинолонам, то ни в одном геноме не выявлено гена *qnrVC1*, но в то же время у всех штаммов, за исключением изолятов 2005 и 2020 гг., присутствовал ген *qnrVC4*. Представители всех клональных комплексов обладали геном β-лактамазы *varG*, ответственной за устойчивость к пенициллинам, а также гомологом гена *nfsA*, хотя причастность его продукта к резистентности к фуразолидону для холерных вибрионов не доказана. У всех штаммов также выявлены детерминанты эффлюкс-помп RND (CPR) и MATE (гены *VC1634*, *vcmABDHMN*); не выявлены SXT-элементы, интегроны 1-го класса и плазмиды.

В большинстве случаев отсутствие генов антибиотикорезистентности совпадало с фенотипической чувствительностью, в частности, к гентамицину, канамицину, хлорамфениколу, тетрациклину, доксициклину, налидиксовой кислоте, ципрофлоксацину, рифампицину. Вместе с тем иногда наблюдались и исключения. Так, штаммы 2005 г. были устойчивы к стрептомицину и триметоприму/сульфометаксазолу, хотя перечисленные выше гены резистентности не были обнаружены, тогда как штаммы 2020 г. из того же клонального комплекса оставались чувствитель-

ными. Причины этого факта неясны, возможно, резистентность была связана с другими, еще не описанными либо отсутствующими в использованной базе генами, которые по каким-то причинам не работали у остальных штаммов. К триметоприму/сульфаметаксазолу также были чувствительны все изученные представители клона 2018, 2021, 2022 гг. Культуры с устойчивостью либо промежуточной устойчивостью к ампициллину встречались во всех клональных комплексах, кроме 2007 г. (preCTX⁺), хотя они так же содержали ген *varG*. Штаммы 2005 г. проявляли промежуточную устойчивость к цефотаксиму, не имея гена *blaCTX-M*. И наоборот, присутствие гена *qnrVC4* у представителей трех клональных комплексов не обеспечило им устойчивости к фторхинолонам. Аналогичные штаммы (с геном *qnrVC1*) ранее описаны в литературе [25]. Резистентность к фуразолидону отсутствовала у клона 2002 г., остальные были устойчивы, что совпадает с литературными данными о том, что реальная устойчивость к нитрофуранам выявлялась не у всех штаммов холерных вибрионов, выделенных до 2008–2010 гг., тогда как в последующие годы их число возрастало, и в настоящее время подавляющее большинство обладает резистентностью [26].

Следует отметить, что внутри каждого комплекса имелись межштаммовые различия в фенотипическом проявлении устойчивости к антимикробным агентам (ампициллину, триметоприму, сульфаметоксазолу) от нулевой до промежуточной и выраженной. Это может быть связано с мутационной изменчивостью в процессе пребывания в ООС, однако для полного понимания данного явления требуются дальнейшие углубленные исследования, возможно с использованием дополнительных компьютерных программ и баз данных.

Полученные данные еще раз подтверждают возможность достаточно длительного сохранения в водоемах CTX-VPI⁺ штаммов холерных вибрионов, представляющих потенциальную опасность возникновения спорадических заболеваний либо локальных вспышек ОКИ. Также следует иметь в виду, что клональные комплексы могут формироваться и CTX-VPI⁺ штаммами. Например, такие комплексы ранее выявлены в водоемах в Сочи [3], Республике Калмыкия [4], Сибири и на Дальнем Востоке [5], а также в Китае [27], Франции [28], США [29]. В Бразилии и Аргентине два клона (Amazonia и Tucumán) в конце прошлого столетия вызвали локальные вспышки холероподобных заболеваний [30], а в Чили в 2018 г. зарегистрирована вспышка острого гастроэнтерита, обусловленная T3SS+ клоном *V. cholerae* nonO1/nonO139 [16]. Наконец, нельзя полностью исключить и возможность сохранения и распространения в ООС завозных токсигенных штаммов. Один такой случай имел место в Ростове-на-Дону в 2001 г., когда на фоне эпидемического благополучия в течение двух недель три генетически измененных штамма были выделены из трех раз-

ных точек. Происхождение их не установлено, хотя они могли быть занесены из Казани, где в это время возникла вспышка эпидемической холеры, вызванная такими же штаммами. Все это подчеркивает значимость постоянного мониторинга за холерными вибрионами на территории РФ, а случаи выявления в ООС клональных комплексов требуют повышенного внимания.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Sakib S.N., Reddi G., Almagro-Moreno S. Environmental role of pathogenic traits in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2018; 200(15):e00795-17. DOI: 10.1128/JB.00795-17.
2. Онищенко Г.Г., Ломов Ю.М., Москвитина Э.А., Подосинникова Л.С., Водяницкая С.Ю., Прометной В.И., Монахова Е.В., Водопьянов С.О., Телесманин Н.Р., Дудина Н.А. Холера, обусловленная *Vibrio cholerae* O1 ctxAB-tcpA⁺. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2007; 1:23–9.
3. Титова С.В., Монахова Е.В., Алексеева Л.П., Писанов Р.В. Молекулярно-генетические основы биопленкообразования как составляющей персистенции *Vibrio cholerae* в водоемах Российской Федерации. *Экологическая генетика.* 2018; 16(4):23–32. DOI: 10.17816/ecogen16423-32.
4. Крицкий А.А., Смирнова Н.И., Каляева Т.Б., Оброткина Н.Ф., Грачева И.В., Катышев А.Д., Кутырев В.В. Сравнительный анализ молекулярно-генетических свойств нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, изолированных в России и на эндемичных по холере территориях. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 3:72–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-72-82.
5. Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Монахова Е.В., Миронова Л.В., Крицкий А.А., Лопатын А.А., Чеминова 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: 10.21055/0370-069-2022-1-24-34.
6. Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Водопьянов С.О., Мишанькин Б.Н., Олейников И.П., Кругликов В.Д., Титова С.В. Молекулярная эпидемиология *Vibrio cholerae* – разработка алгоритма анализа данных полногеномного секвенирования. *Эпидемиология и инфекционные болезни.* 2016; 21(3):146–52. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-3-146-152.
7. Fan F., Kan B. Survival and proliferation of the lysogenic bacteriophage CTXφ in *Vibrio cholerae*. *Virol. Sin.* 2015; 30(1):19–25. DOI: 10.1007/s12250-014-3550-7.
8. Tam V.C., Serruto D., Dziejman M., Briehner W., Mekalanos J.J. A type III secretion system in *Vibrio cholerae* translocates a formin/spire hybrid-like actin nucleator to promote intestinal colonization. *Cell Host Microbe.* 2007; 1(2):95–107. DOI: 10.1016/j.chom.2007.03.005.
9. Tam V.C., Suzuki M., Coughlin M., Saslowsky D., Biswas K., Lencer W.I., Faruque S.M., Mekalanos J.J. Functional analysis of VopF activity required for colonization in *Vibrio cholerae*. *mBio.* 2010; 1(5):e00289-10. DOI: 10.1128/mBio.00289-10.
10. Alam A., Miller K.A., Chaand M., Butler J.S., Dziejman M. Identification of *Vibrio cholerae* type III secretion system effector proteins. *Infect. Immun.* 2011; 79(4):1728–40. DOI: 10.1128/IAI.01194-10.
11. 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:e00106-11. DOI: 10.1128/mBio.00106-11.
12. Dziejman M., Serruto D., Tam V.C., Sturtevant D., Diraphat P., Faruque S.M., Rahman M.H., Heidelberg J.F., Decker J., Li L., Montgomery K.T., Grills G., Kuchlerapati R., Mekalanos J.J. Genomic characterization of non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* reveals genes for a type III secretion system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2005; 102(9):3465–70. DOI: 10.1073/pnas.0409918102.
13. Zhou Y., Gu S., Li J., Ji P., Zhang Y., Wu C., Jiang Q., Gao X., Zhang X. Complete genome analysis of highly pathogenic non-O1/O139 *Vibrio cholerae* isolated from *Macrobrachium rosenbergii*

reveals pathogenicity and antibiotic resistance-related genes. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9:882885. DOI: 10.3389/fvets.2022.882885.

14. Jermyn W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (*nanH*) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. *Microbiology*. 2002; 148(Pt. 11):3681–93. DOI: 10.1099/00221287-148-11-3681.

15. Almagro-Moreno S., Boyd E.F. Sialic acid catabolism confers a competitive advantage to pathogenic *Vibrio cholerae* in the mouse intestine. *Infect. Immun.* 2009; 77(9):3807–16. DOI: 10.1128/IAI.00279-09.

16. Arteaga M., Velasco J., Rodriguez S., Vidal M., Arellano C., Silva F., Carreño L.J., Vidal R., Montero D.A. Genomic characterization of the non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* strain that caused a gastroenteritis outbreak in Santiago, Chile, 2018. *Microb. Genom.* 2020; 6(3):e000340. DOI: 10.1099/mgen.0.000340.

17. Carpenter M.R., Kalburge S.S., Borowski J.D., Peters M.C., Colwell R.R., Boyd E.F. CRISPR-Cas and contact-dependent secretion systems present on excisable pathogenicity islands with conserved recombination modules. *J. Bacteriol.* 2017; 199(10):e00842-16. DOI: 10.1128/JB.00842-16.

18. Silva A.J., Benitez J.A. *Vibrio cholerae* biofilms and cholera pathogenesis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(2):e0004330. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004330.

19. Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun S., McDougald D. Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2013; 4:375. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00375.

20. Reguera G., Kolter R. Virulence and the environment: a novel role for *Vibrio cholerae* toxin-coregulated pili in biofilm formation on chitin. *J. Bacteriol.* 2005; 187(10):3551–5. DOI: 10.1128/JB.187.10.3551-3555.2005.

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

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

23. Mondal A., Tapader R., Chatterjee N.S., Ghosh A., Sinha R., Koley H., Saha D.R., Chakrabarti M.K., Wai S.N., Pal A. Cytotoxic and inflammatory responses induced by outer membrane vesicle-associated biologically active proteases from *Vibrio cholerae*. *Infect. Immun.* 2016; 84(5):1478–90. DOI: 10.1128/IAI.01365-15.

24. Vaitkevicius K., Rompikuntal P.K., Lindmark B., Vaitkevicius R., Song T., Wai S.N. The metalloprotease PrtV from *Vibrio cholerae*. *FEBS J.* 2008; 275(12):3167–77. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2008.06470.x.

25. Селянская Н.А., Егизарян Л.А., Ежова М.И., Пасюкова Н.И., Водопьянов С.О. Анализ устойчивости к антибактериальным препаратам холерных вибрионов, выделенных из объектов окружающей среды в России в 2019 г. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66(3-4):4–11. DOI: 10.24411/0235-2990-2021-66-3-4-4-11.

26. Parvin I., Shahunja K.M., Khan S.H., Alam T., Shahrin L., Ackhter M.M., Sarmin M., Dash S., Rahman M.W., Shahid A.S.M.S.B., Golam Faruque A.S., Ahmed T., Chisti M.J. Changing susceptibility pattern of *Vibrio cholerae* O1 isolates to commonly used antibiotics in the largest diarrheal disease hospital in Bangladesh during 2000–2018. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020; 103(2):652–8. DOI: 10.4269/ajtmh.20-0058.

27. Zhou H., Zhao X., Wu R., Cui Z., Diao B., Li J., Wang D., Kan B., Liang W. Population structural analysis of O1 El Tor *Vibrio cholerae* isolated in China among the seventh cholera pandemic on the basis of multilocus sequence typing and virulence gene profiles. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 22:72–80. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.12.016.

28. Kirchberger P.C., Orata F.D., Barlow E.J., Kauffman K.M., Case R.J., Polz M.F., Boucher Y. A small number of phylogenetically distinct clonal complexes dominate a coastal *Vibrio cholerae* population. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82(18):5576–86. DOI: 10.1128/AEM.01177-16.

29. Esteves K., Mosser T., Aujoulat F., Hervio-Heath D., Monfort P., Jumas-Bilak E. Highly diverse recombining populations of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* in French Mediterranean coastal lagoons. *Front. Microbiol.* 2015; 6:708. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00708.

30. Pichel M., Rivas M., Chinen I., Martín F., Ibarra C., Binsztajn N. Genetic diversity of *Vibrio cholerae* O1 in Argentina and emergence of a new variant. *J. Clin. Microbiol.* 2003. 41(1):124–34. DOI: 10.1128/JCM.41.1.124-134.2003.

References

1. Sakib S.N., Reddi G., Almagro-Moreno S. Environmental role of pathogenic traits in *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 2018; 200(15):e00795-17. DOI: 10.1128/JB.00795-17.

2. Onishchenko G.G., Lomov Yu.M., Moskvitina E.A., Podosinnikova L.S., Vodyanitskaya S.Yu., Prometnoy V.I., Monakhova E.V., Vodopyanov S.O., Telesmanich N.R., Dudina N.A. [Cholera caused by *Vibrio cholerae* O1 ctxAB tcpA⁺]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2007; (1):23–9.

3. Titova S.V., Monakhova E.V., Alekseeva L.P., Pisanov R.V. [Molecular-genetic basis of biofilm formation as a component of *Vibrio cholerae* persistence in water reservoirs of Russian Federation]. *Ekologicheskaya Genetika* [Ecological Genetics]. 2018; 16(4):23–32. DOI: 10.17816/ecogen16423-32.

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

5. 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., Vodopyanov A.S., Stenina S.I., Pisanov R.V., Levchenko O.A., Podomnitsyna 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.

6. Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Vodopyanov S.O., Mishankin B.N., Oleynikov I.P., Kruglikov V.D., Titova S.V. [Molecular epidemiology of *Vibrio cholerae* – development of the algorithm for data analysis of whole genome sequencing]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni* [Epidemiology and Infectious Diseases]. 2016; 21(3):146–52. DOI: 10.17816/EID40917.

7. Fan F., Kan B. Survival and proliferation of the lysogenic bacteriophage CTXφ in *Vibrio cholerae*. *Virol. Sin.* 2015; 30(1):19–25. DOI: 10.1007/s12250-014-3550-7.

8. Tam V.C., Serruto D., Dziejman M., Briehier W., Mekalanos J.J. A type III secretion system in *Vibrio cholerae* translocates a formin/spire hybrid-like actin nucleator to promote intestinal colonization. *Cell Host Microbe*. 2007; 1(2):95–107. DOI: 10.1016/j.chom.2007.03.005.

9. Tam V.C., Suzuki M., Coughlin M., Saslowsky D., Biswas K., Lencer W.I., Faruque S.M., Mekalanos J.J. Functional analysis of VopF activity required for colonization in *Vibrio cholerae*. *mBio*. 2010; 1(5):e00289-10. DOI: 10.1128/mBio.00289-10.

10. Alam A., Miller K.A., Chaand M., Butler J.S., Dziejman M. Identification of *Vibrio cholerae* type III secretion system effector proteins. *Infect. Immun.* 2011; 79(4):1728–40. DOI: 10.1128/IAI.01194-10.

11. 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:e00106-11. DOI: 10.1128/mBio.00106-11.

12. Dziejman M., Serruto D., Tam V.C., Sturtevant D., Diraphat P., Faruque S.M., Rahman M.H., Heidelberg J.F., Decker J., Li L., Montgomery K.T., Grills G., Kucherlapati R., Mekalanos J.J. Genomic characterization of non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* reveals genes for a type III secretion system. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005; 102(9):3465–70. DOI: 10.1073/pnas.0409918102.

13. Zhou Y., Gu S., Li J., Ji P., Zhang Y., Wu C., Jiang Q., Gao X., Zhang X. Complete genome analysis of highly pathogenic non-O1/O139 *Vibrio cholerae* isolated from *Macrobrachium rosenbergii* reveals pathogenicity and antibiotic resistance-related genes. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9:882885. DOI: 10.3389/fvets.2022.882885.

14. Jermyn W.S., Boyd E.F. Characterization of a novel *Vibrio* pathogenicity island (VPI-2) encoding neuraminidase (*nanH*) among toxigenic *Vibrio cholerae* isolates. *Microbiology*. 2002; 148(Pt. 11):3681–93. DOI: 10.1099/00221287-148-11-3681.

15. Almagro-Moreno S., Boyd E.F. Sialic acid catabolism confers a competitive advantage to pathogenic *Vibrio cholerae* in the mouse intestine. *Infect. Immun.* 2009; 77(9):3807–16. DOI: 10.1128/IAI.00279-09.

16. Arteaga M., Velasco J., Rodriguez S., Vidal M., Arellano C., Silva F., Carreño L.J., Vidal R., Montero D.A. Genomic characterization of the non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* strain that caused a gastroenteritis outbreak in Santiago, Chile, 2018. *Microb. Genom.* 2020; 6(3):e000340. DOI: 10.1099/mgen.0.000340.

17. Carpenter M.R., Kalburge S.S., Borowski J.D., Peters M.C., Colwell R.R., Boyd E.F. CRISPR-Cas and contact-dependent secretion systems present on excisable pathogenicity islands with conserved recombination modules. *J. Bacteriol.* 2017; 199(10):e00842-16. DOI: 10.1128/JB.00842-16.

18. Silva A.J., Benitez J.A. *Vibrio cholerae* biofilms and cholera pathogenesis. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10(2):e0004330. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004330.

19. Lutz C., Erken M., Noorian P., Sun S., McDougald D. Environmental reservoirs and mechanisms of persistence of *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2013; 4:375. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00375.

20. Reguera G., Kolter R. Virulence and the environment: a novel role for *Vibrio cholerae* toxin-coregulated pili in biofilm formation on chitin. *J. Bacteriol.* 2005; 187(10):3551–5. DOI: 10.1128/JB.187.10.3551-3555.2005.
21. Crisan C.V., Chande A.T., Williams K., Raghuram V., Rishishwar L., Steinbach G., Watve S.S., Yunker P., Jordan I.K., Hammer B.K. Analysis of *Vibrio cholerae* genomes identifies new type VI secretion system gene clusters. *Gen. Biol.* 2019; 20(1):163. DOI: 10.1186/s13059-019-1765-5.
22. Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Kul'shan' T.A., Shvidenko I.G., Kritsky A.A. [*Vibrio cholerae* secretion system of the type VI]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (2):27–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-27-35.
23. Mondal A., Tapader R., Chatterjee N.S., Ghosh A., Sinha R., Koley H., Saha D.R., Chakrabarti M.K., Wai S.N., Pal A. Cytotoxic and inflammatory responses induced by outer membrane vesicle-associated biologically active proteases from *Vibrio cholerae*. *Infect. Immun.* 2016; 84(5):1478–90. DOI: 10.1128/IAI.01365-15.
24. Vaitkevicius K., Rompikuntal P.K., Lindmark B., Vaitkevicius R., Song T., Wai S.N. The metalloprotease PrtV from *Vibrio cholerae*. *FEBS J.* 2008; 275(12):3167–77. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2008.06470.x.
25. Selyanskaya N.A., Egiazyryan L.A., Ezhova M.I., Pasyukova N.I., Vodopyanov S.O. [Analysis of antibiotic resistance of *Vibrio cholerae* isolated from environmental objects in Russia in 2019]. *Antibiotiki i Khimioterapiya [Antibiotics and Chemotherapy]*. 2021; 66(3-4):4–11. DOI: 10.24411/0235-2990-2021-66-3-4-4-11.
26. Parvin I., Shahunja K.M., Khan S.H., Alam T., Shahrin L., Ackhter M.M., Sarmin M., Dash S., Rahman M.W., Shahid A.S.M.S.B., Golam Faruque A.S., Ahmed T., Chisti M.J. Changing susceptibility pattern of *Vibrio cholerae* O1 isolates to commonly used antibiotics in the largest diarrheal disease hospital in Bangladesh during 2000–2018. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2020; 103(2):652–8. DOI: 10.4269/ajtmh.20-0058.
27. Zhou H., Zhao X., Wu R., Cui Z., Diao B., Li J., Wang D., Kan B., Liang W. Population structural analysis of O1 El Tor *Vibrio cholerae* isolated in China among the seventh cholera pandemic on the basis of multilocus sequence typing and virulence gene profiles. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 22:72–80. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.12.016.
28. Kirchberger P.C., Orata F.D., Barlow E.J., Kauffman K.M., Case R.J., Polz M.F., Boucher Y. A small number of phylogenetically distinct clonal complexes dominate a coastal *Vibrio cholerae* population. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82(18):5576–86. DOI: 10.1128/AEM.01177-16.
29. Esteves K., Mosser T., Aujoulat F., Hervio-Heath D., Monfort P., Jumas-Bilak E. Highly diverse recombining populations of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* in French Mediterranean coastal lagoons. *Front. Microbiol.* 2015; 6:708. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00708.
30. Pichel M., Rivas M., Chinen I., Martín F., Ibarra C., Binsztajn N. Genetic diversity of *Vibrio cholerae* O1 in Argentina and emergence of a new variant. *J. Clin. Microbiol.* 2003. 41(1):124–34. DOI: 10.1128/JCM.41.1.124-134.2003.

Authors:

Monakhova E.V., Noskov A.K., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Selyanskaya N.A., Men'shikova E.A., Ezhova M.I., Nepomnyashchaya N.B., Podoinitsyna O.A., Pisanov R.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.

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

Об авторах:

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

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-108-117

УДК 616.98:578.834.1

Н.В. Павлович¹, О.С. Чемисова¹, Н.В. Аронова¹, М.В. Цимбалистова¹, А.С. Анисимова¹, Е.Н. Гудуева¹,
О.Н. Колотова², Л.В. Катаева², К.Б. Степанова², А.П. Бондаренко³, Е.Д. Теплякова⁴, О.Е. Троценко³,
Т.Ф. Степанова², А.К. Носков¹

Сравнительный анализ структуры возбудителей внебольничных и внутрибольничных пневмоний у пациентов в медицинских организациях Ростовской, Тюменской областей и Хабаровского края в современный период пандемии новой коронавирусной инфекции

¹ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ²ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии», Тюмень, Российская Федерация; ³ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», Хабаровск, Российская Федерация; ⁴Министерство здравоохранения Ростовской области, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Цель работы – сравнительный анализ спектра и антибиотикорезистентности возбудителей вторичных пневмоний, выделенных на территориях Ростовской, Тюменской областей и Хабаровского края на фоне пандемии новой коронавирусной инфекции. **Материалы и методы.** Исследованы образцы мокроты от SARS-CoV-2-позитивных и SARS-CoV-2-негативных пациентов с внебольничными пневмониями из медицинских организаций с использованием бактериологического метода, ПЦР, масс-спектрометрии. **Результаты и обсуждение.** Изучение этиологической структуры возбудителей вторичных пневмоний, выделенных от больных в медицинских организациях Южного, Уральского и Дальневосточного федеральных округов, показало, что доминирующими культурами у SARS-CoV-2-позитивных и SARS-CoV-2-негативных пациентов являются дрожжи и дрожжеподобные грибы. Обнаружено, что при разнообразии изолированных грибов превалировал вид *Candida albicans*. Бактериальная микрофлора представлена разнообразными грамположительными и грамотрицательными бактериями, из которых наиболее часто в мокроте присутствовали *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*. Установлено также, что еще до госпитализации больных внебольничные пневмонии могут быть обусловлены микроорганизмами группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.), которые обычно рассматриваются как полиантибиотикорезистентные возбудители нозокомиальных инфекций. Более того, у SARS-CoV-2-позитивных пациентов с вторичной внебольничной пневмонией эти возбудители выделялись в 2–3 раза чаще, чем у SARS-CoV-2-негативных больных. При анализе чувствительности/устойчивости изолированных штаммов к антибактериальным препаратам установлена общая тенденция: большинство штаммов, вне зависимости от вида, характеризовались узким спектром чувствительности, имея три и более маркеров антибиотикорезистентности. Это подтверждает необходимость и целесообразность микробиологического сопровождения больного в течение всего инфекционного процесса. Наиболее адекватными препаратами выбора, обеспечивающими активность против 60–70 % штаммов семейства *Enterobacteriaceae*, являются амикацин и цефоперазон/сульбактам.

Ключевые слова: возбудители внебольничной и внутрибольничной пневмонии, антибиотикорезистентность, COVID-19.

Корреспондирующий автор: Павлович Наталья Владимировна, e-mail: pavlovich_nv@antiplague.ru.

Для цитирования: Павлович Н.В., Чемисова О.С., Аронова Н.В., Цимбалистова М.В., Анисимова А.С., Гудуева Е.Н., Колотова О.Н., Катаева Л.В., Степанова К.Б., Бондаренко А.П., Теплякова Е.Д., Троценко О.Е., Степанова Т.Ф., Носков А.К. Сравнительный анализ структуры возбудителей внебольничных и внутрибольничных пневмоний у пациентов в медицинских организациях Ростовской, Тюменской областей и Хабаровского края в современный период пандемии новой коронавирусной инфекции. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 3:108–117. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-108-117

Поступила 28.06.2022. Принята к публ. 05.10.2022.

N.V. Pavlovich¹, O.S. Chemisova¹, N.V. Aronova¹, M.V. Tsimbalistova¹, A.S. Anisimova¹,
E.N. Gudueva¹, O.N. Kolotova², L.V. Kataeva², K.B. Stepanova², A.P. Bondarenko³, E.D. Teplyakova⁴,
O.E. Trotsenko³, T.F. Stepanova², A.K. Noskov¹

Comparative Analysis of the Pathogen Structure in Patients with Community-Acquired and Nosocomial Pneumonia in Medical Organizations of the Rostov, Tyumen Regions and Khabarovsk Territory at the Current Stage of a New Coronavirus Infection Pandemic

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation; ²Tyumen Research Institute of Regional Infectious Pathology, Tyumen, Russian Federation; ³Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Khabarovsk, Russian Federation; ⁴Ministry of Health of the Rostov Region, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to conduct a comparative analysis of the spectrum and antibiotic resistance of secondary pneumonia pathogens isolated in the territories of the Rostov, Tyumen Regions and Khabarovsk Territory against the background of a new coronavirus infection pandemic. **Materials and methods.** We investigated sputum samples from coronavirus-positive and coronavirus-negative patients with community-acquired pneumonia from medical organizations using bacteriological method, PCR mass spectrometry. **Results and discussion.** The study of the etiological structure of secondary pneumonia agents isolated from patients in medical organizations of the Southern, Ural and Far Eastern Federal Districts has revealed that the dominant cultures in SARS-CoV-2 “+” and SARS-CoV-2 “–” patients were yeast and yeast-like fungi. It has been found that under diversity of isolated fungi, *Candida albicans*

species prevailed. The bacterial microflora is represented by a variety of gram-positive and gram-negative bacteria, of which *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae* were most often present in sputum. It has also been established that even before hospitalization of patients, community-acquired pneumonia could be caused by microorganisms of the ESKAPE group (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.), which are usually considered as polyantibiotic-resistant pathogens of nosocomial infections. Moreover, in coronavirus-positive patients with secondary community-acquired pneumonia, those pathogens were isolated 2–3 times more frequently than in coronavirus-negative ones. Assessment of sensitivity/resistance of isolated strains to antibacterial drugs has revealed a general trend: the majority of the strains, regardless of the type, were characterized by a narrow spectrum of sensitivity, having 3 or more markers of antibiotic resistance. This confirms the necessity and expediency of microbiological support of the patient during the entire infectious process. The most adequate drugs of choice, providing activity against 60–70 % of strains of the *Enterobacteriaceae* family, are amikacin and cefoperazone/sulbactam.

Key words: community-acquired and nosocomial pneumonia, antibiotic resistance, COVID-19.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Natalia V. Pavlovich, e-mail: pavlovich_nv@antiplague.ru.

Citation: Pavlovich N.V., Chemisova O.S., Aronova N.V., Tsimbalistova M.V., Anisimova A.S., Gudueva E.N., Kolotova O.N., Kataeva L.V., Stepanova K.B., Bondarenko A.P., Teplyakova E.D., Trotsenko O.E., Stepanova T.F., Noskov A.K. Comparative Analysis of the Pathogen Structure in Patients with Community-Acquired and Nosocomial Pneumonia in Medical Organizations of the Rostov, Tyumen Regions and Khabarovsk Territory at the Current Stage of a New Coronavirus Infection Pandemic. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 3:108–117. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-108-117

Received 28.06.2022. Accepted 05.10.2022.

Pavlovich N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8287-4294>
Chemisova O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>
Aronova N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7772-9276>
Tsimbalistova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4091-649X>
Anisimova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4010-2138>
Gudueva E.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6114-9891>
Kolotova O.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-0798-5549>

Kataeva L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9966-8454>
Stepanova K.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5420-0919>
Bondarenko A.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9197-8519>
Teplyakova E.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3585-7026>
Trotsenko O.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3050-4472>
Stepanova T.F., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6289-6274>
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

В последние десятилетия во всем мире регистрируется тревожная тенденция к нарастанию антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных болезней [1]. Особую остроту эта проблема приобретает в настоящее время на фоне длительно протекающей пандемии коронавирусной инфекции, при которой достаточно часто у людей развиваются выраженная иммуносупрессия и поражение легких. Вирусная пневмония, вызванная SARS-CoV-2, создает благоприятный фон для вторичных осложнений бактериальной или грибковой природы [2]. По мнению многих исследователей, именно развитие вторичных внебольничных (ВП) или внутрибольничных пневмоний является причиной высоких показателей летальности при COVID-19 [3–5]. Особого внимания заслуживает тот факт, что уже при поступлении больных в инфекционный госпиталь они имеют симптомы бактериальной ВП. Анализ результатов изучения этиологической структуры ВП, проведенный специалистами-микробиологами в Ростовской, Тюменской областях и Хабаровском крае, четко продемонстрировал, что среди этиологических агентов ВП преобладают патогены, которые по биологическим свойствам относятся к так называемым возбудителям внутрибольничных инфекций [4, 6, 7]. Основной характеристикой таких бактерий является их поли- или панантибиотикорезистентность.

Устойчивость к противомикробной терапии возрастает наиболее часто у семи патогенов: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* [8]. Именно они являются наиболее частыми возбудителями вспышек

внутрибольничных инфекций во всем мире, с крайне негативной тенденцией выхода за пределы стационаров [9].

Систематический обзор исследований этиологической структуры возбудителей внебольничной пневмонии, выполненных в период с 1945 по 2020 г., показал, что наиболее частыми бактериальными возбудителями ВП были *Streptococcus pneumoniae* (33–50 % всех случаев) и *Haemophilus influenzae* (7–16 %). *Staphylococcus aureus* и представители семейства *Enterobacteriaceae*, включая род *Klebsiella*, участвовали в этиологии ВП примерно с одинаковой частотой (4–10 %) [10]. В то же время анализ современных публикаций по изучению вторичных осложнений бактериального происхождения при коронавирусной пневмонии выявил более разнообразный микробный пейзаж [11].

Важным аспектом проблемы антибиотикостойчивости бактерий является их быстрое распространение с вытеснением антибиотикочувствительных штаммов. Иллюстрацией этому может служить широкое распространение плазмокоагулирующих метициллинрезистентных *S. aureus* (MRSA) и панрезистентных форм *S. haemolyticus*. Возрастает клиническая значимость бактерий кишечной группы в этиологии пневмоний [12]. Появляется все больше сообщений о замещении *Candida albicans* на более агрессивные и устойчивые к антимикотикам виды, в частности, *C. tropicalis*, *C. glabrata* и *C. auris* [13–15]. Описаны случаи вспышек внутрибольничных инфекций, вызванных редкими микроорганизмами, например *Elizabethkingia meningoseptica* или *E. anophelis* [16, 17]. Поэтому существует необходимость постое-

янного контроля за возможным появлением новых опасных видов микроорганизмов. Результаты мониторинга циркулирующих на различных территориях РФ штаммов позволят определить наиболее эффективные меры по предотвращению распространения полиантибиотикорезистентных патогенов.

В течение 2020–2021 гг. в профильных лабораториях Ростова-на-Дону (ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора), Тюмени (ФБУН Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора) и Хабаровска (ФБУН Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора) проведены исследования по определению этиологической структуры возбудителей пневмоний у SARS-CoV-2-позитивных и SARS-CoV-2-негативных больных и оценке их антибиотикочувствительности/устойчивости. В связи с этим представляло интерес сравнительное изучение циркулирующих на разных территориях штаммов с целью выявления их региональных особенностей.

Цель исследования – провести сравнительный анализ спектра и антибиотикорезистентности возбудителей внебольничных пневмоний, выделяемых на территориях Ростовской, Тюменской областей и Хабаровского края на фоне продолжающейся пандемии новой коронавирусной инфекции.

Материалы и методы

Образцы мокроты от больных доставляли в лабораторию не позднее 24 часов с момента их забора при условии хранения при 4 °С. Для проведения исследования сформированы две группы пациентов с пневмонией, подтвержденной данными компьютерной томографии (КТ). Первая группа – пациенты с отрицательными результатами ПЦР-теста на наличие РНК вируса SARS-CoV-2, вторая группа – больные с положительным ПЦР-тестом, поступившие в медицинские организации (МО) не более 48 часов назад.

Исследования методом ПЦР мазков из носоглотки на наличие РНК вируса SARS-CoV-2 выполняли с использованием наборов для выделения РНК «РИБО-преп» и наборов для постановки ПЦР «АмплиСенс Cov-Bat-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. Реакцию и учет результатов проводили согласно рекомендациям производителя.

Бактериологическое исследование проб мокроты выполняли в соответствии с МУК 4.2.3115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний», МР 4.2.0114-16 «Лабораторная диагностика внебольничной пневмонии пневмококковой этиологии», а также согласно рекомендациям [18].

Для оценки видового состава микрофлоры мокроты проводили количественные посевы на различные дифференциально-диагностические среды (МПА, среды Эндо и Сабура, желточно-солевой,

шоколадный и кровяной агары) с последующим подсчетом колоний. За этиологически значимые количества для бактериальных культур принимали показатель $\geq 10^5$ КОЕ/мл, для дрожжей и дрожжеподобных грибов рода *Candida* – $\geq 10^4$ КОЕ/мл. Показатель $\leq 5 \cdot 10^3$ КОЕ/мл рассматривали как незначительную колонизацию верхних дыхательных путей (кандидоносительство).

Идентификацию чистых культур микроорганизмов выполняли традиционными микробиологическими методами (окраска по Граму, морфология колоний, биохимическая активность) и белковым профилированием с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Получение спектров исследованных культур выполняли с использованием масс-спектрометра Autoflex speed III Bruker Daltonics (Германия) и программного обеспечения Flex Control, идентификацию – с помощью программы Biotyper. Достоверность идентификации оценивали при Score $\geq 2,0$. Для дрожжевых и дрожжеподобных грибов пробоподготовку осуществляли методом экстракции белков этанолом и муравьиной кислотой, для бактериальных культур – с использованием метода прямого нанесения образца на мишень. Часть штаммов исследовалась с помощью баканализатора VITEK-2.

Чувствительность выделенных клинически значимых культур к антибактериальным и противогрибковым препаратам определяли диско-диффузионным методом. Результаты учитывали в соответствии с МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» и согласно инструкции производителей дисков с противогрибковыми препаратами.

Результаты и обсуждение

Количество культур, выделенных в диагностических значениях, с учетом групп пациентов, представлено на рис. 1. Наблюдается четко выраженная тенденция к более частому выделению этиологически значимых инфекционных агентов у больных с новой коронавирусной инфекцией. Выявлено, что в течение всего периода исследования зарегистрировано нарастание осложненных форм пневмоний, обусловленных присоединением бактериальной или грибковой микрофлоры.

Как видно из представленных данных, во всех регионах у SARS-CoV-2-позитивных больных зарегистрирована общая тенденция – наличие преобладающей дрожжевой микрофлоры в ассоциации с бактериальными возбудителями пневмоний. При этом если в МО Ростова-на-Дону и Тюмени частота выделения грибов сопоставима (31–43 %), то этот показатель в МО Хабаровска составлял 59–65 %. Подобная разница может быть обусловлена несколькими причинами: схемами лечения пациентов в разных регионах, самостоятельным приемом антибиотиков широкого спектра действия, назначением не-

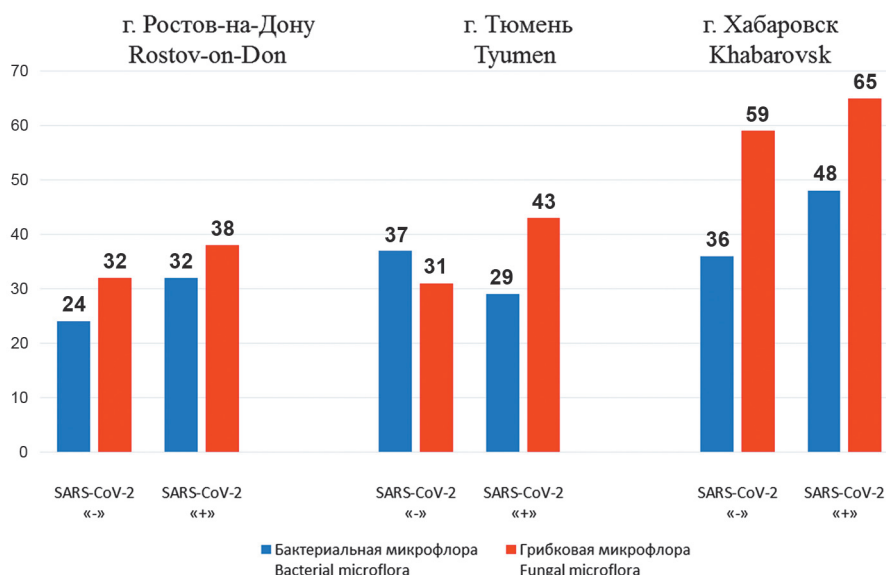


Рис. 1. Частота выделения клинически значимых бактериальных и грибковых микроорганизмов (в диагностических количествах) при исследовании образцов мокроты у больных с внебольничными пневмониями, %

Fig. 1. Frequency of isolation of clinically significant bacterial and fungal microorganisms (in diagnostic quantities) when studying sputum samples in patients with community-acquired pneumonia, %

адекватной этиотропной терапии в догоспитальный период и т.д.

Видовое разнообразие выделенных бактериальных культур суммировано в табл. 1.

Спектр бактериальных возбудителей ВП представлен разнообразной грамположительной и грамотрицательной микрофлорой. Частота выделения различных возбудителей в зависимости от региона исследования варьировала, однако лидирующее место занимали *S. aureus* и *K. pneumoniae*. Кроме того, выявлена общая для трех округов тенденция увеличения вторичных осложнений, вызываемых *P. aeruginosa* у SARS-CoV-2-положительных пациентов. При анализе полученных результатов обращает на себя внимание тот факт, что как у SARS-CoV-2-негативных, так и у SARS-CoV-2-положительных больных, госпитализированных с диагнозом «внебольничная пневмония», достаточно часто выделялись виды микроорганизмов, относящиеся к группе ESCAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.) – возбудителям внутрибольничных пневмоний. Например, в зависимости от региона, частота выделения *S. aureus* составляла от 2,5 до 6,2 %, *K. pneumoniae* – от 2,2 до 11,6 %, а *A. baumannii* – от 1,5 до 7 %.

Наиболее часто этиологическими агентами пневмоний являются бактерии семейства *Enterobacteriaceae* и неферментирующие грамотрицательные бактерии (рис. 2). Исключение составил Уральский федеральный округ, в котором на репрезентативной выборке пациентов четко установлено, что грамотрицательные инфекционные агенты доминируют только у SARS-CoV-2-негативных больных.

Результаты наших исследований показали, что при развитии у человека внебольничной коронавирусной пневмонии уже на догоспитальном этапе бактериальные и грибковые патогены могут колонизировать нижние дыхательные пути.

Следует подчеркнуть, что внедрение в лабораторную практику MALDI-TOF масс-спектрометрии

для идентификации бактерий существенно ускорило и расширило возможности выявления трудно идентифицируемых новых и редких возбудителей. В частности, в некоторых случаях в мокроте больных обнаружены в клинически значимых количествах такие редкие возбудители оппортунистических инфекций, как *Kerstersia gyiorum*, *Rizobium radiobacter* и *Elizabethkingia anophelis* (Ростов-на-Дону), *Burkholderia* spp. (Хабаровск).

На фоне общего снижения иммунитета при коронавирусной инфекции, помимо распространенных дрожжей рода *Candida*, изолированы некоторые виды грибов, не характерные для микрофлоры верхних дыхательных путей человека: *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia terricola* и плесневые грибы (*Aspergillus* spp.). Видовой спектр и частота выделения дрожжевых и дрожжеподобных культур из проб мокроты больных представлены в табл. 2.

Доминирующим видом является *C. albicans*: на его долю от общего количества изолированных грибов приходилось 73–81 %. Однако необходимо отметить, что у SARS-CoV-2-положительных пациентов, в отличие от SARS-CoV-2-негативных, наблюдалось большее видовое разнообразие грибов: в МО Ростовской области – 17 и 8 видов соответственно, в Тюменской области – 14 и 11 видов соответственно. Помимо *C. albicans*, среди других видов достаточно часто обнаружены *C. glabrata*, *C. krusei* и *C. tropicalis*. Ни в одном случае у больных из трех изученных регионов не удалось зарегистрировать наличие в мокроте резистентного к антимикотикам и дезинфектантам вида *C. auris*. В то же время в специально проведенном ранее исследовании нами доказано, что для повышения достоверности результатов при идентификации грибов с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии требуется экстракция образцов с применением этанола и муравьиной кислоты [19].

Таким образом, в большом числе случаев еще до госпитализации больных, помимо пневмонии вирусной этиологии, выявлены микробные ассоциации: вирусно-бактериальные, вирусно-грибковые

Таблица 1 / Table 1

Спектр и частота выявления этиологически значимых микроорганизмов у SARS-CoV-2-негативных и SARS-CoV-2-позитивных больных с внебольничными пневмониями

Spectrum and frequency of detection of etiologically significant microorganisms in coronavirus-negative and coronavirus-positive patients with community-acquired pneumonia

Виды микроорганизмов Species of microorganisms	Количество изолированных культур в группах пациентов, % Number of isolated cultures in patient groups, %					
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don		Тюмень Tyumen		Хабаровск Khabarovsk	
	SARS-CoV-2 «-» (n=324)	SARS-CoV-2 «+» (n=863)	SARS-CoV-2 «-» (n=1034)	SARS-CoV-2 «+» (n=2240)	SARS-CoV-2 «-» (n=87)	SARS-CoV-2 «+» (n=86)
<i>Candida</i> spp.	32	34	30	38,3	59	65
Дрожжеподобные грибы Yeast-like fungi	0,6	0,8	0,2	0,7	0	0
Плесневые грибы Mold fungi	0	2,7	1,3	3,8	0	0
<i>S. pneumoniae</i>	2,5	2,5	0,4	0,8	3,6	2,3
<i>S. aureus</i>	6,2	6,7	3,4	2,5	3,6	9,3
<i>S. haemolyticus</i>	1,9	1,3	3,0	3,8	1,2	2,3
<i>S. epidermidis</i>	0,6	0,2	0,5	0,7	3,4	2,3
<i>S. hominis</i>	0	0,2	0,2	0,4	1,1	1,2
<i>Enterococcus</i> spp.	2,2	2,6	5,8	7,4	0	0
<i>Haemophilus influenzae</i>	0,6	0,5	0,3	0,4	0	0
<i>E. coli</i>	1,9	2,2	1,5	1,2	1,2	2,3
<i>Enterobacter</i> spp.	0,6	2,4	2,2	2,2	3,4	1,2
<i>E. cloacae</i>	0,6	2,1	1,8	1,4	3,4	1,2
<i>E. kobei</i>	0,3	0,2	0,3	0,2	0	0
<i>E. asburiae</i>	0	0,2	0,1	0,4	0	0
<i>E. ludwigii</i>	0	0,2	0	0,2	0	0
<i>Klebsiella</i> spp.	2,2	4,3	8,1	7,0	11,5	11,6
<i>K. pneumoniae</i>	1,8	3,9	7,7	6,6	11,5	9,3
<i>K. oxytoca</i>	0	0,3	0,3	0,4	0	1,2
<i>K. ornithinolytica</i>	0,3	0	0,1	0,01	0	1,2
<i>Serratia</i> spp.	0	0,2	0,5	0,3	0	0
<i>Proteus</i> spp.	0,3	0,1	0,4	0,2	0	1,2
<i>Acinetobacter</i> spp.	1,5	3,8	7,2	5,3	3,4	5,8
<i>A. baumannii</i>	1,2	2,7	6,8	4,8	3,4	5,8
<i>A. lwoffii</i>	0	0,3	0,1	0	0	0
<i>A. johnsonii</i>	0,3	0,3	0	0,01	0	0
<i>A. pittii</i>	0	0,1	0,1	0,4	0	0
<i>A. junii</i>	0	0,2	0,2	0,1	0	0
<i>A. bouvetii</i>	0	0,1	0	0	0	0
<i>Chryseobacterium</i> spp.	0,3	0,5	0	0,01	0	0
<i>Pseudomonas</i> spp.	1,2	3,1	1,7	1,9	0	3,5
<i>P. aeruginosa</i>	1,2	2,4	1,6	1,6	0	3,5
<i>P. monteilii</i>	0	0,3	0	0	0	0
<i>P. putida</i>	0	0,2	0,1	0,3	0	0
<i>P. gessardi</i>	0	0,1	0	0	0	0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,5	0,9	1,6	1,6	1,1	2,3
<i>Alcaligenes faecalis</i>	0	0,1	0	0	0	0
<i>Elizabethkingia anophelis</i>	0	0,1	0	0	0	0
<i>Kerstersia gyiorum</i>	0	0,1	0	0	0	0
<i>Rizobium radiobacter</i>	0	0,3	0	0	0	0
<i>Burkholderia</i> spp.	0	0	0	0	1,1	0

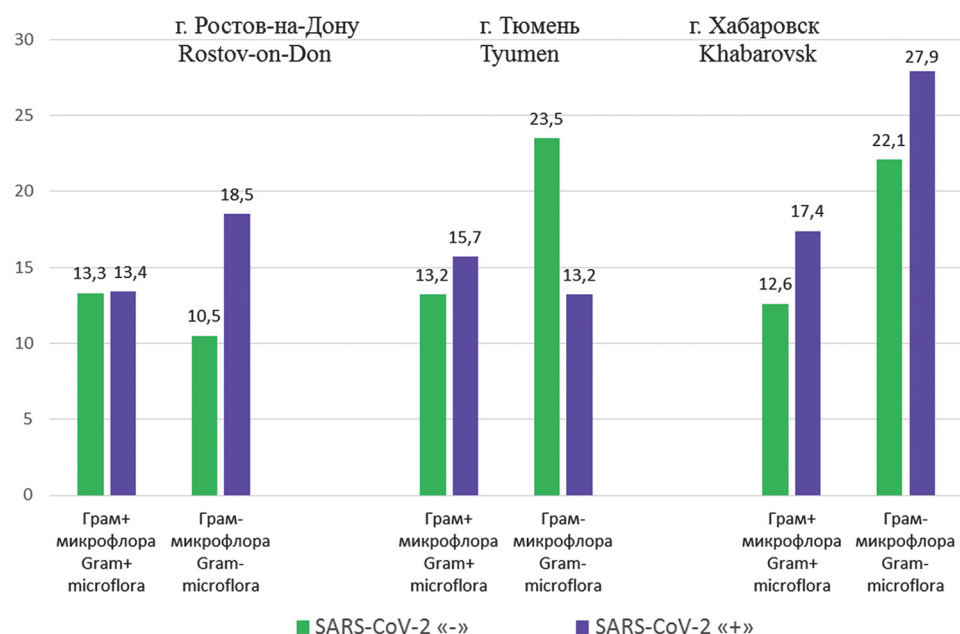


Рис. 2. Частота выделения этиологически значимой бактериальной грамположительной и грамотрицательной микрофлоры у больных пневмониями, %

Fig. 2. Frequency of isolation of etiologically significant bacterial gram-positive and gram-negative microflora in patients with pneumonia, %

Таблица 2 / Table 2

Спектр и частота выделения грибковой микрофлоры (в диагностических количествах) от больных внебольничными пневмониями
Spectrum and frequency of fungal microflora isolation (in diagnostic quantities) from patients with community-acquired pneumonia

Вид микроорганизма Species of microorganism	Количество изолированных культур, % Number of isolated cultures, %					
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don		Тюмень Tyumen		Хабаровск Khabarovsk	
	SARS-CoV-2 «-» (n=324)	SARS-CoV-2 «+» (n=863)	SARS-CoV-2 «-» (n=1034)	SARS-CoV-2 «+» (n=2240)	SARS-CoV-2 «-» (n=87)	SARS-CoV-2 «+» (n=86)
<i>C. albicans</i>	26	28	24,1	31,3	44,8	47,7
<i>C. tropicalis</i>	2,1	2,0	0,4	1,2	—	—
<i>C. krusei</i>	1,2	0,6	0,3	1,3	5,7	7,0
<i>C. glabrata</i>	0,9	1,5	1,6	1,4	8,1	10,5
<i>C. kefyr</i>	0,6	0,7	1,0	1,6	0	0
<i>C. inconspicua</i>	0	0,6	0,3	0,3	0	0
<i>C. dubliniensis</i>	0,3	0,2	0,6	0,5	0	0
<i>C. lusitanae</i>	0,3	0,1	0,7	0,4	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	0	0,1	0,3	0,2	0	0
<i>C. guilliermondii</i>	0	0,1	0	0,2	0	0
<i>C. barbicans</i>	0	0	0,5	0,01	0	0
<i>Pichia terricola</i>	0	0,2	0	0	0	0
<i>Pichia kluyveri</i>	0	0,1	0	0	0	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	0,1	0	0,2	0	0
<i>Geotrichum capitatum</i>	0,6	0,5	0	0	0	0
<i>Trichosporon asahii</i>	0	0,1	0	0,4	0	0
Плесневые грибы Mold fungi	0	2,5	1,3	3,8	0	0
<i>Aspergillus niger</i>	0	0,1	0	0	0	0
Всего Total	32	38	31	43	58,6	65,1

и вирусно-бактериально-грибковые, причем подобный феномен характерен для всех трех регионов: Южного, Уральского и Дальневосточного федеральных округов.

Важным практическим аспектом настоящей работы явилось определение чувствительности/устойчивости выделенных возбудителей к антибактериальным и противогрибковым препаратам (табл. 3).

Таблица 3 / Table 3

Маркеры резистентности этиологически значимых бактериальных культур, изолированных от SARS-CoV-2 «+» и SARS-CoV-2 «-» пациентов с внебольничными пневмониями
Resistance markers of etiologically significant bacterial cultures isolated from coronavirus-negative (SARS-CoV-2 “-”) and coronavirus-positive (SARS-CoV-2 “+”) patients with community-acquired pneumonia

Виды микроорганизмов Species of microorganisms	Место выделения Site of isolation	Группы пациентов Sars-CoV-2 «+» и «-» Groups of Sars-CoV-2 “+” and “-” patients	Количество штаммов Number of strains	Количество маркеров резистентности у штаммов Number of resistance markers in strains	Маркеры устойчивости штаммов к антибактериальным препаратам Markers of resistance to antibacterial drugs								Азитромицин Azithromycin	Доксициклин Doxycycline	Клиндамицин Clindamycin	Ципрофлоксацин Ciprofloxacin
					Ампициллин Ampicillin	Амоксициллин/ клава, к-та Amoxicillin/ clav. acid	Цефотаксим Cefotaxime	Цефоперазон/ сульбактам Cefoperazone/ sulbactam	Гентамицин Gentamicin	Амикацин Amikacin	Доксициклин Doxycycline	Азитромицин Azithromycin				
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		
<i>S. pneumoniae</i>	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	22	5	S	S	R	R	RR	-	RR	S	R	S		
	Тюмень Tyumen	«-»	8	4	S	S	R	S	RR	-	RR	S	R	SR		
	Тюмень Tyumen	«+»	19	0	SR	SR	-	S	-	-	S	SR	S	S		
	Тюмень Tyumen	«-»	4	1	R	S	-	S	-	-	S	S	S	S		
<i>Enterococcus spp.</i>	Хабаровск Khabarovsk	«+»	2*	4	R	R	S	S	S	-	S	R	R	S		
	Хабаровск Khabarovsk	«-»	3*	2	R	R	S	S	S	-	S	RR	RR	S		
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	22	4	S	S	RR	-	RR	RR	RR	R	-	S		
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«-»	7	4	S	S	RR	-	RR	R	RR	RR	-	SR		
<i>S. aureus</i>	Тюмень Tyumen	«+»	166	4/4	RR	RR	-	-	RR	-	-	-	-	RR		
	Тюмень Tyumen	«-»	60	4/4	R	R	-	-	R	-	-	-	-	RR		
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Хабаровск Khabarovsk	«-»	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
<i>S. aureus</i>	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	58	0	SR	S	S	-	S	S	S	S	S	S		
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«-»	20	1	R	S	S	-	S	S	S	S	S	S		
	Тюмень Tyumen	«+»	55	0	S	S	-	-	-	S	-	S	S	S		
	Тюмень Tyumen	«-»	35	0	S	S	-	-	-	S	-	S	S	S		
<i>S. haemolyticus</i>	Хабаровск Khabarovsk	«+»	8	3	RR	R	S	-	S	S	S	S	S	R		
	Хабаровск Khabarovsk	«-»	3*	2	RR	SR	SR	-	S	S	S	S	SR	R		
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	11	6	RR	R	R	-	SR	SR	RR	RR	S	S		
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«-»	6	7	RR	R	R	-	R	SR	R	RR	S	RR		
<i>S. haemolyticus</i>	Тюмень Tyumen	«+»	86	6	RR	RR	-	-	-	SR	RR	RR	R	RR		
	Тюмень Tyumen	«-»	31	6	RR	RR	-	-	-	S	RR	RR	R	RR		
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	2*	6	RR	S	RR	-	RR	RR	RR	RR	-	RR		
	Хабаровск Khabarovsk	«-»	1*	7	RR	RR	RR	-	RR	RR	RR	RR	-	RR		

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
<i>E. coli</i>	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	19	5	RR	RR	RR	S	S	S	RR	RR	–	SR
	Тюмень Tyumen	«+»	27	3/4	R	R	–	–	–	RR	–	–	–	SR
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	15	2/4	R	R	–	–	–	S	–	–	–	SR
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	2*	1	R	S	S	S	S	S	S	S	–	S
<i>K. pneumoniae</i>	Тюмень Tyumen	«+»	147	4/4	RR	RR	–	–	–	R	–	–	–	RR
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	80	4/4	RR	RR	–	–	–	RR	–	–	–	RR
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	34	5	RR	RR	R	S	SR	S	RR	RR	–	SR
	Тюмень Tyumen	«+»	6	4	RR	R	SR	S	S	S	RR	RR	–	S
<i>E. cloacae</i>	Хабаровск Khabarovsk	«+»	8	1	RR	S	SR	S	S	S	S	S	–	S
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	10	1	RR	S	S	S	S	S	S	S	–	S
	Тюмень Tyumen	«+»	18	5	RR	RR	R	S	SR	S	RR	R	–	SR
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	2*	4	RR	RR	R	S	S	S	RR	S	–	S
<i>S. maltophilia</i>	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	31	2/4	RR	RR	–	–	–	S	–	–	–	S
	Тюмень Tyumen	«+»	19	2/4	RR	RR	–	–	–	S	–	–	–	S
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	1*	3	RR	RR	S	S	S	S	RR	S	–	S
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	3*	3	RR	RR	R	S	S	S	SR	S	–	S
<i>A. baumannii</i>	Тюмень Tyumen	«+»	8	6	RR	RR	RR	R	SR	S	RR	R	–	S
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	5	4	RR	RR	RR	SR	SR	S	RR	SR	–	S
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	36	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Тюмень Tyumen	«+»	17	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>P. aeruginosa</i>	Хабаровск Khabarovsk	«+»	2*	8	RR	RR	RR	R	RR	S	RR	R	–	RR
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	1*	8	RR	RR	RR	RR	RR	S	RR	RR	–	RR
	Тюмень Tyumen	«+»	23	7	RR	RR	RR	SR	RR	R	RR	RR	–	RR
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	4	7	RR	RR	RR	R	R	S	RR	S	–	R
<i>P. aeruginosa</i>	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	108	4/4	RR	–	–	RR	–	RR	–	–	–	RR
	Тюмень Tyumen	«+»	70	4/4	RR	–	–	RR	–	RR	–	–	–	RR
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	5	2	RR	RR	SR	SR	SR	SR	SR	SR	–	SR
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	3*	2	RR	RR	SR	S	S	S	S	S	–	S
<i>P. aeruginosa</i>	Тюмень Tyumen	«+»	21	6	RR	RR	RR	S	RR	S	RR	RR	–	S
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	4	6	RR	RR	R	S	RR	S	RR	RR	–	S
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	36	0	SR	–	–	SR	–	SR	–	–	–	SR
	Тюмень Tyumen	«+»	17	0	S	–	–	S	–	S	–	–	–	SR
<i>P. aeruginosa</i>	Хабаровск Khabarovsk	«+»	3*	5	RR	RR	RR	S	S	S	RR	RR	–	S
	Ростов-на-Дону Rostov-on-Don	«+»	0	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	Тюмень Tyumen	«+»	36	0	SR	–	–	SR	–	SR	–	–	–	–
	Хабаровск Khabarovsk	«+»	17	0	S	–	–	S	–	S	–	–	–	–

Примечания: S – более 70 % чувствительных штаммов; SR – от 30 до 50 % устойчивых штаммов; R – от 50 до 70 % устойчивых штаммов; RR – более 70 % устойчивых штаммов; * в связи с незначительным количеством изолятов, оценка их антибиотикочувствительности/резистентности затруднена.

Notes: S – more than 70 % of sensitive strains; SR – from 30 to 50 % of resistant strains; R – from 50 to 70 % of resistant strains; RR – more than 70 % of resistant strains; * small number of isolates makes it difficult to assess antibiotic sensitivity/resistance.

Сравнительный анализ антибиотикорезистентности этиологически значимых клинических изолятов показал существенные различия. В частности, установлено, что, в отличие от других территорий, большинство штаммов *S. pneumoniae*, *Enterococcus* spp., циркулирующих в Ростовской области, сохраняют чувствительность к антибиотикам группы пенициллинов (ампициллин, амоксициллин) при высокой резистентности к цефалоспорином. Обращает на себя внимание тот факт, что большинство циркулирующих во всех трех регионах штаммов *S. aureus*, который входит в список потенциальных возбудителей нозокомиальных инфекций (ESCAPE), характеризовались достаточно широким спектром чувствительности к цефалоспорином, аминогликозидам, макролидам, фторхинолонам, клиндамицину. В противоположность этому вид *S. haemolyticus* включал штаммы, устойчивые ко всем группам антибиотиков, сохраняя чувствительность только к клиндамицину и амикацину.

Результаты исследования представителей грамотрицательной микрофлоры продемонстрировали, что большинство изолированных из мокроты бактериальных видов обладали множественной антибиотикостойчивостью, имея по три и более маркеров резистентности. В частности, зарегистрирована достаточно высокая частота выделения культур, резистентных к фторхинолонам, цефалоспорином III поколения и гентамицину. Нельзя исключить, что некоторые отличия могут быть обусловлены как несопоставимым количеством изученных штаммов, так и предпочтительным использованием в МО разных регионов тех или иных антибактериальных препаратов. Интересно, что если в Тюменской области грамотрицательная микрофлора доминировала у SARS-CoV-2-негативных больных с пневмониями, то в Ростовской области и Хабаровском крае грамотрицательные бактерии доминировали у SARS-CoV-2-позитивных пациентов.

Таким образом, показано, что на фоне коронавирусной инфекции этиологическая структура возбудителей пневмоний и их антибиотикорезистентность имеют региональные особенности. Перспективным представляется дальнейшее изучение причин возникновения полиантибиотикостойчивых штаммов, выделяемых от больных с вне- и внутрибольничными пневмониями. Установлено, что в отношении большинства видов семейства *Enterobacteriaceae* необходимым, на наш взгляд, является включение в определение спектра чувствительности к антибиотикам амикацина и цефоперазона/сульбактама как наиболее адекватных препаратов выбора.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Aslam B., Wang W., Arshad M.I., Khurshid M., Muzammil S., Rasool M.H., Nisar M.A., Alvi R.F., Aslam M.A., Qamar M.U., Salamat M.K.F., Baloch Z. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect. Drug Resist.* 2018; 11:1645–58. DOI: 10.2147/IDR.S173867.
2. Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W.S. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect.* 2020; 81(2):266–75. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.05.046.
3. Sharov K.S. SARS-CoV-2-related pneumonia cases in pneumonia picture in Russia in March-May 2020: Secondary bacterial pneumonia and viral co-infections. *J. Glob. Health.* 2020; 10(2):020504. DOI: 10.7189/jogh.10.020504.
4. Катаева Л.В., Вакарина А.А., Степанова Т.Ф., Степанова К.Б. Микробиота нижних дыхательных путей при внебольничных пневмониях, в том числе ассоциированных с SARS-CoV-2. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2021; 98(5):528–37. DOI: 10.36233/0372-9311-107.
5. Павлович Н.В., Цимбалюкова М.В., Аронова Н.В., Анисимова А.С., Водополян С.О., Водополян А.С., Гудуева Е.Н., Сагакянц М.М., Ковалев Е.В., Носков А.К. Внебольничные пневмонии бактериальной этиологии и спектр чувствительности возбудителей к антибиотикам у коронапозитивных и коронанегативных больных г. Ростова-на-Дону. *Антибиотики и химиотерапия.* 2021; 66(1-2):26–32. DOI: 10.37489/0235-2990-2021-66-1-2-26-32.
6. Бондаренко А.П., Шмыленко В.А., Троценко О.Е., Котова В.О., Бутакова Л.В., Базыкина Е.А. Характеристика бактериальной микрофлоры, выделенной из проб мокроты больных пневмонией в Хабаровске и Хабаровском крае в начальный период пандемии COVID-19 (май–июнь 2020 г.). *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 3:43–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-43-49.
7. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Чеминова О.С., Твердохлебова Т.И., Павлович Н.В., Водополян С.О., Цимбалюкова М.В., Гаевская Н.Е., Воловикова С.Ф., Стенина С.И., Гудуева Е.Н., Сагакянц М.М., Алешукина А.В., Слис С.С. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 4:99–105. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105.
8. Patil R.H., Luptáková D., Havlíček V. Infection metallomics for critical care in the post-COVID era. *Mass Spectrom. Rev.* 2021; Dec 2. DOI: 10.1002/mas.21755.
9. Фесенко О.В., Швайко С.Н. Пневмонии, вызванные *Klebsiella pneumoniae* (фридлендеровские пневмонии). *Практическая пульмонология.* 2019; 1:22–31.
10. Харитонов М.А., Салухов В.В., Крюков Е.В., Паценко М.Б., Рудаков Ю.В., Богомолов А.Б., Иванов В.В., Минаков А.А. Вирусные пневмонии: новый взгляд на старую проблему (обзор литературы). *Медицинский совет.* 2021; 16:60–77. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-16-60-77.
11. Авдеева М.Г., Кулбужева М.И., Зотов С.В., Журавлева Е.В., Яцуклова А.В. Микробный пейзаж у госпитальных больных с новой коронавирусной инфекцией COVID-19, сравнительная антибиотикорезистентность с «доковидным» периодом: проспективное исследование. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2021; 28(5):14–28. DOI: 10.25207/1608-6228-2021-28-5-14-28.
12. Эсауленко Н.Б., Каменева О.А., Косякова К.Г., Зайцев А.А., Казаков С.П., Тутельян А.В., Акимкин В.Г. Нозокомиальные инфекции и микробиологический мониторинг в многопрофильных лечебных учреждениях. *Медицинский алфавит.* 2018; 2(35):14–9.
13. Steinbach W.J., Roilides E., Berman D., Hoffman J.A., Groll A.H., Bin-Hussain I., Palazzi D.L., Castagnola E., Halasa N., Velegriaki A., Dvorak C.C., Charkabarti A., Sung L., Danziger-Isakov L., Lachenauer C., Arrieta A., Knapp K., Abzug M.J., Ziebold C., Lehnbecher T., Klingspor L., Warris A., Leckerman K., Martling T., Walsh T.J., Benjamin D.K. Jr, Zaoutis T.E. Results from a prospective, international, epidemiologic study of invasive candidiasis in children and neonates. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2012; 31(12):1252–7. DOI: 10.1097/INF.0b013e3182737427.
14. Kathuria S., Singh P.K., Sharma C., Prakash A., Masih A., Kumar A., Meis J.F., Chowdhary A. Multidrug-resistant *Candida auris* misidentified as *Candida haemulonii*: characterization by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and DNA sequencing and its antifungal susceptibility profile variability by Vitek 2, CLSI broth microdilution, and Etest method. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53(6):1823–30. DOI: 10.1128/JCM.00367-15.
15. Багирова Н.С., Дмитриева Н.В. Резистентность *Candida* spp. к амфотерицину В у онкологических больных. *Журнал инфектологии.* 2016; 8(1):26–31.
16. Канащенко М.Е., Карцев Н.Н., Мицевич И.П., Храмов М.В., Светоч Э.А. *Elizabethkingia meningoseptica* как значимый клинический патоген. *Бактериология.* 2019; 4(1):58–63. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-1-58-63.

17. Канашенко М.Е., Мицевич И.П., Карцев Н.Н., Асташкин Е.И., Детушева Е.В., Храмов М.В., Светоч Э.А., Фурсова Н.К. *Elizabethkingia meningoseptica* – характеристика клинически значимого патогена. *Бактериология*. 2021; 6(1):8–15. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-8-15.

18. Гельфанд Б.Р., Проценко Д.Н., Белоцерковский Б.З., редакторы. Нозокомиальная пневмония у взрослых: Российские национальные рекомендации. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Изд-во «Медицинское информационное агентство»; 2016. 176 с.

19. Анисимова А.С., Полеева М.В., Аронова Н.В., Цимбалистова М.В., Павлович Н.В. Особенности идентификации грибов рода *Candida* с помощью масс-спектрометрического анализа (MALDI-ToF MS). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(4):244–9. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-4-244-249.

References

1. Aslam B., Wang W., Arshad M.I., Khurshid M., Muzammil S., Rasool M.H., Nisar M.A., Alvi R.F., Aslam M.A., Qamar M.U., Salamat M.K.F., Baloch Z. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect. Drug Resist.* 2018; 11:1645–58. DOI: 10.2147/IDR.S173867.

2. Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W.S. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect.* 2020; 81(2):266–75. DOI: 10.1016/j.jinf.2020.05.046.

3. Sharov K.S. SARS-CoV-2-related pneumonia cases in pneumonia picture in Russia in March-May 2020: Secondary bacterial pneumonia and viral co-infections. *J. Glob. Health.* 2020; 10(2):020504. DOI: 10.7189/jogh.10.020504.

4. Kataeva L.V., Vakarina A.A., Stepanova T.F., Stepanova K.B. [Microbiota of the lower respiratory tract in case of community-acquired pneumonia, including those associated with SARS-CoV-2]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2021; 98(5):528–37. DOI: 10.36233/0372-9311-107.

5. Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Aronova N.V., Anisimova A.S., Vodop'yanov S.O., Vodop'yanov A.S., Gudueva E.N., Sagakyants M.M., Kovalev E.V., Noskov A.K. [Community-acquired pneumonia of bacterial etiology and antibiotic sensitivity spectrum in coronavirus-positive and coronavirus-negative patients in Rostov-on-Don]. *Antibiotiki i Khimioterapiya [Antibiotics and Chemotherapy]*. 2021; 66(1-2):26–32. DOI: 10.37489/0235-2990-2021-66-1-2-26-32.

6. Bondarenko A.P., Shmylenko V.A., Trotsenko O.E., Kotova V.O., Butakova L.V., Bazykina E.A. [Characteristics of bacterial microflora isolated from sputum of patients with pneumonia registered in Khabarovsk city and Khabarovsk Territory in the initial period of COVID-19 pandemic in May–June, 2020]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):43–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-43-49.

7. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Noskov A.K., Kovalev E.V., Chemisova O.S., Tverdokhlebova T.I., Pavlovich N.V., Vodop'yanov S.O., Tsimbalistova M.V., Gaevskaya N.E., Volovikova S.V., Stenina S.I., Gudueva E.N., Sagakyants M.M., Aleshukina A.V., Slis' S.S. [Features of etiology of community-acquired pneumonia associated with COVID-19]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (4):99–105. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105.

8. Patil R.H., Luptakova D., Havlicek V. Infection metallomics for critical care in the post-COVID era. *Mass Spectrom. Rev.* 2021; Dec 2. DOI: 10.1002/mas.21755.

9. Fesenko O.V., Shvaiko S.N. [Pneumonia caused by *Klebsiella pneumonia* (Friedländer pneumonia)]. *Prakticheskaya Pul'monologiya [Practical Pulmonology]*. 2019; (1):22–31.

10. Kharitonov M.A., Salukhov V.V., Kryukov E.V., Patsenko M.B., Rudakov Yu.V., Bogomolov A.B., Ivanov V.V., Minakov A.A. [Viral pneumonia: a new approach to an old problem (literature review)]. *Meditsinsky Sovet [Medical Advice]*. 2021; (16):60–77. DOI: 10.21518/2079-701X-2021-16-60-77.

11. Avdeeva M.G., Kulbuzheva M.I., Zotov S.V., Zhuravleva E.V., Yatsukova A.V. [Microbial landscape in hospitalized patients with new coronavirus infection COVID-19, comparative antibiotic resistance with pre-COVID period: a prospective study]. *Kubansky Nauchnyy Meditsinsky Vestnik [Kuban Scientific Medical Bulletin]*. 2021; 28(5):14–28. DOI: 10.25207/1608-6228-2021-28-5-14-28.

12. Esaulenko N.B., Kameneva O.A., Kosyakova K.G., Zaitsev A.A., Kazakov S.P., Tutel'yan A.V., Akimkin V.G. [Nosocomial infections and microbiological monitoring in multi-functional medical treatment institutions]. *Meditsinsky Alfavit [Medical Alphabet]*. 2018; 2(35):14–9.

13. Steinbach W.J., Roilides E., Berman D., Hoffman J.A., Groll A.H., Bin-Hussain I., Palazzi D.L., Castagnola E., Halasa N., Velegriaki A., Dvorak C.C., Charkabarti A., Sung L., Danziger-Isakov L., Lachenauer C., Arrieta A., Knapp K., Abzug M.J., Ziebold C., Lehnbecher T., Klingspor L., Warris A., Leckerman K., Martling T., Walsh T.J., Benjamin D.K. Jr, Zaoutis T.E. Results from a prospective, international, epidemiologic study of invasive candidiasis in children and neonates. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2012; 31(12):1252–7. DOI: 10.1097/INF.0b013e3182737427.

14. Kathuria S., Singh P.K., Sharma C., Prakash A., Masih A., Kumar A., Meis J.F., Chowdhary A. Multidrug-resistant *Candida auris* misidentified as *Candida haemulonii*: characterization by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry and DNA sequencing and its antifungal susceptibility profile variability by Vitek 2, CLSI broth microdilution, and Etest method. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53(6):1823–30. DOI: 10.1128/JCM.00367-15.

15. Bagirova N.S., Dmitrieva N.V. [Resistance of *Candida* spp. to amphotericin B in cancer patients]. *Zhurnal Infektsologii [Journal of Infectology]*. 2016; 8(1):26–31.

16. Kanashenko M.E., Kartsev N.N., Mitsevich I.P., Khramov M.V., Svetoch E.A. [*Elizabethkingia meningoseptica* as a significant clinical pathogen]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2019; 4(1):58–63. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-1-58-63.

17. Kanashenko M.E., Mitsevich I.P., Kartsev N.N., Astashkin E.I., Detusheva E.V., Khramov M.V., Svetoch E.A., Fursova N.K. [*Elizabethkingia meningoseptica*: characteristics of a clinically significant pathogen]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2021; 6(1):8–15. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-1-8-15.

18. Gelfand B.R., Protchenko D.N., Belotserkovsky B.Z., editors. [Nosocomial Pneumonia in Adults: Russian National Guidelines]. 2nd ed., revised and expanded. Moscow: Publishing House "Medical Information Agency"; 2016. 176 p.

19. Anisimova A.S., Poleeva M.V., Aronova N.V., Tsimbalistova M.V., Pavlovich N.V. [Peculiarities of fungi identification of the genus *Candida* using mass spectrometric analysis (MALDI-ToF MS)]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2022; 67(4):244–9. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-4-244-249.

Authors:

Pavlovich N.V., Chemisova O.S., Aronova N.V., Tsimbalistova M.V., Anisimova A.S., Gudueva E.N., 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@aanet.ru.

Kolotova O.N., Kataeva L.V., Stepanova K.B., Stepanova T.F. Tyumen Research Institute of Regional Infectious Pathology. 147, Respubliki St., Tyumen, 625026, Russian Federation. E-mail: info@tniikp.rospotrebnadzor.ru.

Bondarenko A.P., Trotsenko O.E. Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 2, Shevchenko St., Khabarovsk, 680610, Russian Federation. E-mail: adm@hniiem.ru.

Tepliyakova E.D. Ministry of Health of the Rostov Region. 33, 1st Konnoy Armii St., Rostov-on-Don, 344065, Russian Federation. E-mail: minzdrav@donland.ru.

Об авторах:

Павлович Н.В., Чемисова О.С., Аронова Н.В., Цимбалистова М.В., Анисимова А.С., Гудуева Е.Н., Носков А.К. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Ростовская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aanet.ru.

Колотова О.Н., Катаева Л.В., Степанова К.Б., Степанова Т.Ф. Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии. Российская Федерация, 625026, Тюмень, ул. Республики, 147. E-mail: info@tniikp.rospotrebnadzor.ru.

Бондаренко А.П., Троценко О.Е. Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии. Российская Федерация, 680610, Хабаровск, ул. Шевченко, 2. E-mail: adm@hniiem.ru.

Теплякова Е.Д. Министерство здравоохранения Ростовской области. Российская Федерация, 344065, Ростов-на-Дону, ул. 1-й Конной Армии, 33. E-mail: minzdrav@donland.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-118-122

УДК 616.932:579.25

О.А. Подойницына, В.Д. Кругликов, Д.А. Левченко, А.С. Водопьянов, М.И. Ежова, А.К. Носков

Изучение структуры липополисахаридного кластера в геномах штаммов *Vibrio cholerae* R-вариантов

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

При определении способности штаммов *Vibrio cholerae* агглютинироваться диагностическими холерными сыворотками возможны затруднения при отнесении вибрионов к той или иной серогруппе в случае отклонения культуры от типичных по агглютинабельности признаков. Изучение генетических детерминант, позволяющих установить серогруппу, является актуальной задачей при проведении мониторинга контаминации холерными вибрионами поверхностных водоемов. **Целью** данной работы явилось сравнительное изучение структурной организации липополисахаридных кластеров (O-LPS) штаммов холерных вибрионов R-вариантов. **Материалы и методы.** Полногеномное секвенирование проведено на приборе Illumina MiSeq. Сборка осуществлялась *de novo* программой-сборщиком SPAdes (v. 3.11.1). Для поиска генов использовали программу blastn 2.5.0, для аннотирования входящих в кластеры генов – программу GeneMarkS. Поиск гомологичных участков проводили с помощью программы nucmer. Визуализация O-LPS-кластеров выполнена в программе SnapGene Viewer. **Результаты и обсуждение.** Кластеры генов, ответственных за биосинтез O-антигена, различались у разных штаммов *V. cholerae* R-вариантов. Определено три типа O-LPS-кластеров, отличающихся размером и количеством входящих в их состав генов. Уникальных участков ДНК, общих для всей группы штаммов *V. cholerae* R-вариантов, обнаружить не удалось. Определены два гена, встречающиеся у всех R-вариантов, но они не являются уникальными для этой группы штаммов и присутствуют также у представителей других серогрупп. Для двух типов кластеров обнаружен общий с *V. cholerae* O1 участок, содержащий IS-элемент.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, R-вариант, липополисахаридный кластер, серогруппа, *wbe*, *rfb*.

Корреспондирующий автор: Подойницына Оксана Андреевна, e-mail: podoinitsyna_oa@antiplague.ru.

Для цитирования: Подойницына О.А., Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Ежова М.И., Носков А.К. Изучение структуры липополисахаридного кластера в геномах штаммов *Vibrio cholerae* R-вариантов. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 3:118–122. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-118-122

Поступила 15.06.2022. Отправлена на доработку 03.08.2022. Принята к публ. 06.09.2022.

O.A. Podoinitsyna, V.D. Kruglikov, D.A. Levchenko, A.S. Vodop'yanov, M.I. Ezhova, A.K. Noskov

Investigation of the Lipopolysaccharide Cluster Structure in the Genomes of *Vibrio cholerae* Rough Variants

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

Abstract. Determination of *Vibrio cholerae* affiliation to one or another serogroup may meet some difficulties in cases of atypical agglutination with diagnostic cholera sera. The study of genetic determinants that allows for identifying a serogroup is a relevant task in monitoring of surface water body contamination with cholera vibrios. **The aim** of the work was to compare the structural organization (quantitative and qualitative gene composition) of LPS clusters in *V. cholerae* rough variants. **Materials and methods.** We used Illumina MiSeq for the whole genome sequencing; SPAdes software (version 3.11.1) for *de novo* assembly; and blastn (v. 2.5.0) for gene searching. GeneMarkS software was deployed for annotation of the genes incorporated in the clusters; nucmer – for searching homologous sites. Visualization of O-LPS clusters was carried out by means of SnapGene Viewer. **Results and discussion.** Strains of *V. cholerae* rough variants had diverse gene clusters responsible for O-antigen biosynthesis. We have identified three types of O-LPS clusters with different size and number of genes. Unique DNA sites, common to the whole group of *V. cholerae* rough variants, have not been detected. Two genes present in all rough strains have been defined, but they are not unique for this group of strains and can be found in representatives of other serogroups. For two types of clusters, a region containing the IS-element, common with *V. cholerae* O1, has been revealed.

Key words: *Vibrio cholerae*, R-variant, lipopolysaccharide cluster, serogroup, *wbe*, *rfb*.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Oksana A. Podoinitsyna, e-mail: podoinitsyna_oa@antiplague.ru.

Citation: Podoinitsyna O.A., Kruglikov V.D., Levchenko D.A., Vodop'yanov A.S., Ezhova M.I., Noskov A.K. Investigation of the Lipopolysaccharide Cluster Structure in the Genomes of *Vibrio cholerae* Rough Variants. Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 3:118–122. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-118-122

Received 15.06.2022. Revised 03.08.2022. Accepted 06.09.2022.

Podoinitsyna O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9996-4189>
Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>
Levchenko D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4676-0377>

Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>
Ezhova M.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4254-3313>
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

Одной из основных характеристик биологических свойств штаммов холерных вибрионов, выделяемых в ходе мониторинга контаминации холерными вибрионами поверхностных водоемов, является их способность агглютинироваться в диагностических титрах диагностическими холерными сыворотками O1 и O139. Штаммы этих серогрупп могут содержать гены, кодирующие основные факторы патогенности: гены холерного токсина (*ctxAB*) и токсин-корегулируемых пилей адгезии (*tcpA*) [1]. Известно, что среди холерных вибрионов, изолируемых в ходе мониторинга, могут встречаться типичные по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам штаммы, находящиеся в гладкой (S – smooth) форме, но проявляющие при этом атипичные свойства в отношении способности агглютинироваться диагностическими холерными сыворотками. Адаптивно измененные холерные вибрионы, которые агглютинируются в диагностических титрах только RO-сывороткой при отсутствии агглютинации холерными сыворотками O1, O139, относятся к R-вариантам. Некоторые культуры могут агглютинироваться одновременно RO- и O-сыворотками [2]. Вибрионы R-вариантов представляют интерес как изоляты, являющиеся атипичными по признаку агглютинабельности, но при этом в ряде случаев также способны нести гены факторов патогенности [3].

У возбудителя холерных вибрионов выделяют три типа полисахаридных структур: липополисахарид (ЛПС), компонентом которого является О-антиген; капсульный полисахарид, или К-антиген; и ругозный полисахарид, также известный как экзополисахарид (ЭПС), или вибриополисахарид [4, 5].

Серологические особенности R-вариантов связаны со строением ЛПС. Согласно данным K. De et al., штаммы *Vibrio cholerae*, утратившие способность к полноценному синтезу О-антигена и презентующие на поверхности клетки только коровую часть ЛПС, не способны агглютинироваться диагностическими холерными сыворотками до рабочих титров, но агглютинируются RO-сывороткой [6, 7]. Такие штаммы формируют колонии, морфологически не отличающиеся от колоний в S-форме [3]. В свою очередь штаммы, образующие морщинистые колонии, т.е. имеющие ругозный (*rugose*) фенотип, являются таковыми за счет продукции ЭПС, за синтез которого отвечает кластер генов VPS (*Vibrio polysaccharide*). Повышенная продукция ЭПС на поверхности отдельных клеток приводит к изменению морфологии клеток и формированию ругозных колоний [8, 9]. Напротив, R-варианты имеют особый тип строения ЛПС, за биосинтез О-антигена в котором отвечают гены кластера *wbe*. В этом состоит принципиальное различие между ругозными формами и R-вариантами.

В ситуации, когда штамм не агглютинируется холерными диагностическими сыворотками, возникает вопрос о том, не является ли он атипичной формой штамма O1-серогруппы.

В связи с этим **целью** данной работы явилось сравнительное изучение структурной организации О-липополисахаридных кластеров (О-LPS) штаммов холерных вибрионов R-вариантов.

В задачи исследования входило проведение секвенирования области, отвечающей за продукцию О-антигена, и последующий сравнительный биоинформационный анализ для определения наличия/отсутствия общих последовательностей среди штаммов *V. cholerae* R-вариантов, *V. cholerae* O1 и *V. cholerae* O139.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы. Для изучения О-LPS кластера в исследование взяты шесть штаммов *V. cholerae* R-вариантов из лаборатории «Коллекция патогенных вибрионов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора: N16290 (Забайкальский край, 1993), N13910 (Казахстан, 1988), N18237 (Рязанская область, 1998), N15865 (Казахстан, 1991), N18298 (Приморский край, 2000), N19336 (Республика Калмыкия, 2012), агглютинирующихся в диагностическом рабочем титре (1/800). У всех указанных штаммов отсутствовали гены *ctxAB* и *tcpA-F*, кодирующие основные факторы патогенности. Для сравнения генетических детерминант кластеров, кодирующих О-антиген, взяты нуклеотидные последовательности типовых штаммов *V. cholerae* N16961 O1 серотипа Инаба и *V. cholerae* O139 MO45.

Полногеномное секвенирование проведено на приборе MiSeq (Illumina). Выделение ДНК производили с использованием набора для выделения РНК/ДНК из клинического материала «РИБО-преп». Подготовку геномных библиотек осуществляли с помощью набора Nextera DNA flex в соответствии с инструкцией производителя. Для секвенирования использован набор реагентов MiSeq v2 Reagent Kit (500 Cycles PE).

Биоинформационный анализ. Последующая проверка качества ридов реализована с помощью программы FastQC [10]. Для очистки ридов использовали программу для фильтрации данных Trimmomatic [11], сборка осуществлялась *de novo* программой-сборщиком SPAdes (v. 3.11.1) [12]. На собранных контигах с помощью программы blastn 2.5.0 (нуклеотидный BLAST – Basic local alignment search tool) [13] осуществлен поиск генов, фланкирующих О-LPS-кластеры. Присутствие определенных генов в каждом из кластеров также проверяли с помощью алгоритма blastn 2.5.0. Аннотирование входящих в кластеры генов проводили с использованием программы GeneMarkS [14]. Поиск гомологичных участков проводили с использованием программы nucmer из пакета программ MUMmer4 (версия 4.0.0) с параметрами “--maxmatch --mincluster=100” [15]. Координатные файлы, полученные nucmer, визуализировали с помощью circus (версия 0.69-8) [16].

Визуализация O-LPS-кластеров выполнена в программе SnapGene Viewer [17].

Результаты и обсуждение

При сравнении ответственных за синтез О-антигена участков с *wbe*-кластером типового штамма *V. cholerae* N16961 серотипа Инаба обнаружено, что изучаемые последовательности не идентичны между собой и значительно отличаются от *wbe*-кластера *V. cholerae* N16961. По количеству генов, входящих в отвечающий за биосинтез ЛПС участок, штаммы разделились на три группы (рис. 1).

В первую группу вошли два из шести штаммов, обладавшие О-LPS-кластером, размер которого не превышал 18,6 т.п.н., а в его составе с помощью программы GeneMarkS определено 15 генов (включая гены, фланкирующие весь фрагмент и одинаковые для всех *V. cholerae*). Во вторую группу вошли три штамма, содержавшие О-LPS-кластер размером около 23,8 т.п.н., с 21 геном в нем (включая фланкирующие). Третью группу образовал один штамм *V. cholerae*, обладавший протяженным О-LPS-кластером размером свыше 48 т.п.н. с 47 генами. Взятый для сравнения штамм *V. cholerae* N16961 нес в составе первой хромосомы О-LPS-кластер размером более 24 т.п.н. с 20 генами, включая фланкирующие. Для *V. cholerae* MO45 O139 размер этого участка соответствует 38,7 т.п.н.

Представляло интерес выявление последовательностей, общих для липополисахаридных кластеров *V. cholerae* R-вариантов, но отсутствующих у *V. cholerae* O1, а также у штаммов других серогрупп. Обнаружено, что во всех трех типах кластеров присутствует участок размером 2,4 т.п.н., на котором расположены два гена, кодирующие галактозилтрансферазу и предполагаемую эпимеразу/дегидратазу. У *V. cholerae* O1 N16961 данные гены отсутствовали. На рис. 2 схематично показаны О-LPS-кластеры R-вариантов, а также представителей O1 и O139-серогрупп. На схеме ярко-зеленым цветом выделены области, где расположены гомологичные для представленных кластеров гены, кодирующие галактозилтрансферазу и предполагаемую эпимеразу/дегидратазу. Чтобы определить, является ли рассматриваемый участок уникальным для О-LPS-кластера R-вариантов, нами осуществлен поиск данных генов у штаммов *V. cholerae*, геномы которых представлены в базе данных NCBI. В результате установлено, что гены галактозилтрансферазы и предполагаемой эпимеразы/дегидратазы присутствуют у штаммов *V. cholerae* различных серогрупп, в том числе у *V. cholerae* O139, при этом они могут располагаться как рядом друг с другом, так и на расстоянии. Но в любом случае данные гены не обнаруживаются у холерных вибрионов O1. Таким образом, определено, что гены галактозилтрансферазы и предполагаемой эпимеразы/дегидратазы не являются особенностью

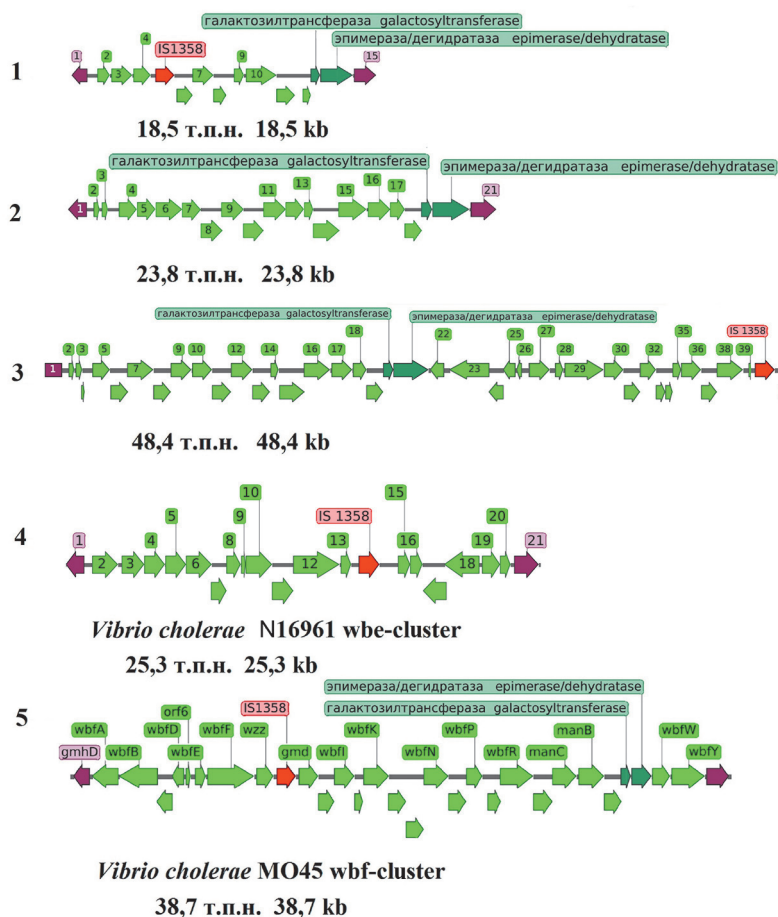


Рис. 1. Структура О-LPS-кластеров:

1 – О-LPS-кластер размером около 18,6 т.п.н. Обнаружен у *V. cholerae* 15865 (Казахстан, 1991), 18298 (Приморский край, 2000); 2 – О-LPS-кластер размером около 23,8 т.п.н. Обнаружен у *V. cholerae* 16290 (Забайкальский край, 1993), 13910 (Казахстан, 1988), 18237 (Рязанская область, 1998); 3 – О-LPS-кластер размером около 48,4 т.п.н. Обнаружен у *V. cholerae* 19336 (Республика Калмыкия, 2012); 4 – О-LPS-кластер размером около 24 т.п.н. *V. cholerae* O1 N16961; 5 – О-LPS-кластер размером около 38,7 т.п.н. *V. cholerae* O139 MO45

Fig. 1. Structure of O-LPS clusters:

1 – O-LPS cluster the size of approximately 18.6 kb, detected in *V. cholerae* 15865 (Kazakhstan, 1991), 18298 (Primorsk Territory, 2000); 2 – O-LPS cluster the size of 23.8 kb, detected in *V. cholerae* 16290 (Trans-Baikal Territory, 1993), 13910 (Kazakhstan, 1988), 18237 (Ryazan Region, 1998); 3 – O-LPS cluster the size of 48.4 kb, detected in *V. cholerae* 19336 (Republic of Kalmykia, 2012); 4 – O-LPS cluster the size of approximately 24 kb, *V. cholerae* O1 N16961; 5 – O-LPS cluster the size of 38.7 kb in *V. cholerae* O139 MO45

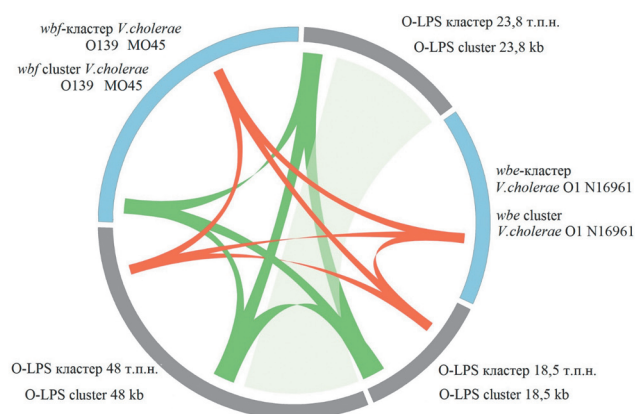


Рис. 2. Схематичное расположение генов, общих для O1/O139, а также *V. cholerae* R-вариантов O-LPS-кластеров:

Показаны гомологичные участки трех типов O-LPS-кластеров R-вариантов. Соединительные линии красного цвета обозначают гомологичный фрагмент, включающий в себя ген, кодирующий *IS 1358*, и небольшие участки до и после этого гена размером около 100–130 п.н. Ярко-зеленым цветом обозначены гомологичные области, содержащие гены галактозилтрансферазы и предполагаемой эпимеразы/дегидратазы. Лентой светло-зеленого цвета показана область более 16 т.п.н., включающая идентичные наборы генов у второго и третьего типов кластеров

Fig. 2. Schematic arrangement of genes common to *V. cholerae* O1/O139, as well as O-LPS clusters of *V. cholerae* rough variants:

Homologous sites of three types of O-LPS clusters in rough variants of *V. cholerae* are depicted. Connecting lines of red color indicate a homologous fragment including the gene encoding *IS 1358* and small areas about 100–130 bp before and after this gene. Bright green line indicates homologous regions containing the genes of galactosyltransferase and putative epimerase/dehydratase. A light green stripe shows an area covering more than 16 kb, comprising identical sets of genes in the second and third types of clusters

R-вариантов, но при этом, по-видимому, являются типичными для представителей различных (но не всех) серогрупп.

У двух кластеров (второго и третьего типов) обнаружен протяженный гомологичный участок размером более 16 т.п.н. На рис. 2 показано расположение этого участка. Однако в кластере первого типа участков, гомологичных данному локусу, не обнаружено.

Для установления общих черт в строении исследуемых кластеров, а также их возможного происхождения, реализована задача найти последовательности, общие для O1-серогруппы и для рассматриваемых в данном исследовании O-LPS-кластеров R-вариантов. В результате у *V. cholerae* O1 и у двух кластеров из трех обнаружен участок размером 1,3 kb с 94–96 % идентичности, включающий последовательность *IS 1358* (предположительно IS-элемент), и небольшие участки до и после него размером около 100–130 п.н. На рис. 2 показана локализация *IS 1358* у четырех кластеров из пяти. Данный ген присутствовал на самой большой последовательности из трех (48,4 т.п.н.), а также на самой маленькой (18,5 т.п.н.). У штаммов холерных вибрионов 16290 и 13910, обладавших вторым типом O-LPS-кластера (23,8 т.п.н.), *IS 1358* не выявлен. Другие названия гена *IS 1358*, которые можно встретить в базах данных и литературе: *rfbQRS* или *tnpA*.

В соответствии с литературными данными, *IS 1358* присутствует в хромосомах штаммов различных серогрупп, в частности обнаружен у *V. cholerae*

O1, O2, O22, O139, O155. При этом у серогрупп O15, O39, O141 этот ген, напротив, отсутствует. Кроме того, он может встречаться в геноме как в одной, так и в нескольких копиях [18]. Ген, кодирующий *IS 1358*, обнаружен нами также и в кластере O-LPS *V. cholerae* O139, что продемонстрировано на рис. 2 и также соответствует литературным данным [18]. Ген *wbeT*, являющийся маркерным при определении принадлежности штаммов к O1-серогруппе методом ПЦР с использованием набора реагентов для выявления ДНК *V. cholerae* «АмплиСенс *Vibrio cholerae*-FL», находится внутри O-LPS-кластера штаммов, относящихся к O1-серогруппе. У шести взятых в исследование R-вариантов данный ген не обнаружен.

Таким образом, O-LPS-кластеры штаммов *V. cholerae* R-вариантов демонстрируют значительные различия в своем строении и составе. У них не удалось обнаружить участков ДНК, свойственных только этой группе штаммов. Пара генов, присутствующих у всех взятых в исследование R-вариантов, обнаружена также у *V. cholerae* O139, а значит, не является уникальной. По всей видимости, изучаемые штаммы в прошлом являлись представителями разных серогрупп, одним из которых, в частности, свойственно наличие гена *IS 1358*, а другим нет. Вероятно, эти штаммы утратили способность к полноценному синтезу О-антигена и в настоящее время агглютинируются только RO-сывороткой, так как, согласно данным литературы, такой способностью обладают клетки, на поверхности которых присутствует только коровая часть ЛПС [7]. Поскольку маркерный ген *wbeT*, используемый в качестве мишени для установления серогруппы, также отсутствовал на кластерах *V. cholerae* R-вариантов, это дополнительно свидетельствует о принадлежности данных штаммов к серогруппам неO1/неO139.

Принимая во внимание факт, что в составе кластеров O-LPS у *V. cholerae* O1 и рассматриваемых в данной работе штаммов либо вообще отсутствуют общие последовательности, либо присутствует только один общий ген, можно сделать вывод, что изучаемые штаммы не могут быть отнесены к представителям O1-серогруппы, поскольку кластеры, ответственные за продукцию О-антигена, дающего тот или иной тип агглютинации с диагностическими холерными сыворотками, полностью отличаются от такового у *V. cholerae* O1, за исключением одного гена, являющегося IS-элементом. В то же время нельзя исключать возможность происхождения других, не рассматриваемых в данном исследовании R-вариантов от представителей O1-серогруппы, поскольку дефекты в синтезе полноценного О-антигена, предположительно, могут быть свойственны любым штаммам. По-видимому, утратить способность к образованию полноценного ЛПС и стать R-вариантом могут штаммы любой серогруппы, в том числе и O1.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Cabral J.P. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2010; 7(10):3657–703. DOI: 10.3390/ijerph7103657.
2. Подосинникова Л.С., Черепяхина И.Я. Изменчивость холерных вибрионов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 1998; 4:9–12.
3. Mitra R.K., Nandy R.K., Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., Yamasaki S., Shimada T., Takeda Y., Nair G.B. Molecular characterisation of rough variants of *Vibrio cholerae* isolated from hospitalised patients with diarrhoea. *J. Med. Microbiol.* 2001; 50(3):268–76. DOI: 10.1099/0022-1317-50-3-268.
4. Rashid M.H., Rajanna C., Ali A., Karaolis D.K. Identification of genes involved in the switch between the smooth and rugose phenotypes of *Vibrio cholerae*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2003; 227(1):113–9. DOI: 10.1016/S0378-1097(03)00657-8.
5. Sozhamannan S., Yildiz F.H. Diversity and genetic basis of polysaccharide biosynthesis in *Vibrio cholerae*. In: Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., editors. *Epidemiological and Molecular Aspects on Cholera*. Infectious Disease Series. New York: Springer; 2011. P. 129–60.
6. Алексеева Л.П., Черепяхина И.Я., Сальникова О.И., Бурлакова О.С. Изучение антигенных взаимосвязей типичных и R-форм холерных вибрионов на основе моноклональных антител. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1998; 4:9–12.
7. De K., Ramamurthy T., Faruque S.M., Yamasaki S., Takeda Y., Nair G.B., Nandy R.K. Molecular characterisation of rough strains of *Vibrio cholerae* isolated from diarrhoeal cases in India and their comparison to smooth strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004; 232(1):23–30. DOI: 10.1016/S0378-1097(04)00013-8.
8. Yildiz F.H., Schoolnik G.K. *Vibrio cholerae* O1 El Tor: identification of a gene cluster required for the rugose colony type, exopolysaccharide production, chlorine resistance, and biofilm formation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1999; 96(7):4028–33. DOI: 10.1073/pnas.96.7.4028.
9. Beyhan S., Yildiz F.H. Smooth to rugose phase variation in *Vibrio cholerae* can be mediated by a single nucleotide change that targets c-di-GMP signaling pathway. *Mol. Microbiol.* 2007; 63(4):995–1007. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05568.x.
10. Yang X., Liu D., Liu F., Wu J., Zou J., Xiao X., Zhao F., Zhu B. HTQC: a fast quality control toolkit for Illumina sequencing data. *BMC Bioinformatics*. 2013; 14:33. DOI: 10.1186/1471-2105-14-33.
11. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014; 30(15):2114–20. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.
12. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Pribelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
13. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 1990; 215(3):403–10. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.
14. Besemer J., Lomsadze A., Borodovsky M. GeneMarkS: a self-training method for prediction of gene starts in microbial genomes. Implications for finding sequence motifs in regulatory regions. *Nucleic Acids Research*. 2001; 29(12):2607–18. DOI: 10.1093/nar/29.12.2607.
15. Marçais G., Delcher A.L., Phillippy A.M., Coston R., Salzberg S.L., Zimin A. MUMmer4: A fast and versatile genome alignment system. *PLoS Comput. Biol.* 2018; 14(1):e1005944. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005944.
16. Krzywinski M., Schein J., Birol I., Connors J., Gascoyne R., Horsman D., Jones S.J., Marra M.A. Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res*. 2009; 19(9):1639–45. DOI: 10.1101/gr.092759.109.
17. Kahl L.J., Endy D. A survey of enabling technologies in synthetic biology. *J. Biol. Eng.* 2013; 7(1):13. DOI: 10.1186/1754-1611-7-13.
18. Dumontier S., Trieu-Cuot P., Berche P. Structural and functional characterization of IS1358 from *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 1998; 180(23):6101–6. DOI: 10.1128/JB.180.23.6101-6106.1998.
2. Podosinnikova L.S., Cherepakina I.Ya. [Variability of *Vibrio cholerae*]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 1998; (4):9–12.
3. Mitra R.K., Nandy R.K., Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., Yamasaki S., Shimada T., Takeda Y., Nair G.B. Molecular characterisation of rough variants of *Vibrio cholerae* isolated from hospitalised patients with diarrhoea. *J. Med. Microbiol.* 2001; 50(3):268–76. DOI: 10.1099/0022-1317-50-3-268.
4. Rashid M.H., Rajanna C., Ali A., Karaolis D.K. Identification of genes involved in the switch between the smooth and rugose phenotypes of *Vibrio cholerae*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2003; 227(1):113–9. DOI: 10.1016/S0378-1097(03)00657-8.
5. Sozhamannan S., Yildiz F.H. Diversity and genetic basis of polysaccharide biosynthesis in *Vibrio cholerae*. In: Ramamurthy T., Bhattacharya S.K., editors. *Epidemiological and Molecular Aspects on Cholera*. Infectious Disease Series. New York: Springer; 2011. P. 129–60.
6. Алексеева Л.П., Черепяхина И.Я., Сальникова О.И., Бурлакова О.С. [Investigation of antigenic interrelations of typical and rough forms of *Vibrio cholerae* based on monoclonal antibodies]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1998; (4):9–12.
7. De K., Ramamurthy T., Faruque S.M., Yamasaki S., Takeda Y., Nair G.B., Nandy R.K. Molecular characterisation of rough strains of *Vibrio cholerae* isolated from diarrhoeal cases in India and their comparison to smooth strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004; 232(1):23–30. DOI: 10.1016/S0378-1097(04)00013-8.
8. Yildiz F.H., Schoolnik G.K. *Vibrio cholerae* O1 El Tor: identification of a gene cluster required for the rugose colony type, exopolysaccharide production, chlorine resistance, and biofilm formation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1999; 96(7):4028–33. DOI: 10.1073/pnas.96.7.4028.
9. Beyhan S., Yildiz F.H. Smooth to rugose phase variation in *Vibrio cholerae* can be mediated by a single nucleotide change that targets c-di-GMP signaling pathway. *Mol. Microbiol.* 2007; 63(4):995–1007. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05568.x.
10. Yang X., Liu D., Liu F., Wu J., Zou J., Xiao X., Zhao F., Zhu B. HTQC: a fast quality control toolkit for Illumina sequencing data. *BMC Bioinformatics*. 2013; 14:33. DOI: 10.1186/1471-2105-14-33.
11. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014; 30(15):2114–20. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.
12. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., Nikolenko S.I., Pham S., Pribelski A.D., Pyshkin A.V., Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 2012; 19(5):455–77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021.
13. Altschul S.F., Gish W., Miller W., Myers E.W., Lipman D.J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 1990; 215(3):403–10. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2.
14. Besemer J., Lomsadze A., Borodovsky M. GeneMarkS: a self-training method for prediction of gene starts in microbial genomes. Implications for finding sequence motifs in regulatory regions. *Nucleic Acids Research*. 2001; 29(12):2607–18. DOI: 10.1093/nar/29.12.2607.
15. Marçais G., Delcher A.L., Phillippy A.M., Coston R., Salzberg S.L., Zimin A. MUMmer4: A fast and versatile genome alignment system. *PLoS Comput. Biol.* 2018; 14(1):e1005944. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005944.
16. Krzywinski M., Schein J., Birol I., Connors J., Gascoyne R., Horsman D., Jones S.J., Marra M.A. Circos: an information aesthetic for comparative genomics. *Genome Res*. 2009; 19(9):1639–45. DOI: 10.1101/gr.092759.109.
17. Kahl L.J., Endy D. A survey of enabling technologies in synthetic biology. *J. Biol. Eng.* 2013; 7(1):13. DOI: 10.1186/1754-1611-7-13.
18. Dumontier S., Trieu-Cuot P., Berche P. Structural and functional characterization of IS1358 from *Vibrio cholerae*. *J. Bacteriol.* 1998; 180(23):6101–6. DOI: 10.1128/JB.180.23.6101-6106.1998.

References

1. Cabral J.P. Water microbiology. Bacterial pathogens and water. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2010; 7(10):3657–703. DOI: 10.3390/ijerph7103657.

Authors:

Podoinitsyna O.A., Kruglikov V.D., Levchenko D.A., Vodopyanov A.S., Ezhova M.I., 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@aanet.ru.

Об авторах:

Подойницина О.А., Кругликов В.Д., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Ежова М.И., Носков А.К. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aanet.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-123-131

УДК 616.98:578.833.2(571.53)

М.И. Толмачёва¹, А.Я. Никитин¹, Е.И. Андаев¹, И.Г. Чумаченко²**Динамика эпидемического процесса клещевого вирусного энцефалита на территории Иркутской области в 2001–2021 гг.**

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация; ²Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Иркутской области, Иркутск, Российская Федерация

Цель работы – проанализировать пространственно-временные особенности динамики эпидемического процесса клещевого вирусного энцефалита (КВЭ) на территории Иркутской области за 2001–2021 гг. **Материалы и методы.** Проанализированы данные Управления Роспотребнадзора по Иркутской области, Референс-центра Иркутского научно-исследовательского противочумного института, материалы государственной статистической отчетности формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», научные публикации. Прослежены хронологические и хорологические особенности изменения инцидентности КВЭ. В последнем случае проведена дифференциация административно-территориальных образований (АТО) субъекта по группам эпидемиологического риска за два десятилетних периода: 2001–2010 гг. и 2011–2020 гг. На каждом временном отрезке группировка районов по уровню инцидентности КВЭ проведена с применением расчета 95 % доверительного интервала. Временные последовательности наблюдений анализировали с помощью построения регрессионных уравнений. Использованы стандартные методы вариационной статистики в программе Excel. **Результаты и обсуждение.** На протяжении XXI столетия заболеваемость КВЭ в Иркутской области снижается. По данным 2001–2010 гг., в шести АТО случаи КВЭ отсутствовали, а эндемичные районы включали три группы: с низкой (15 районов), средней (6) и высокой (8) инцидентностью КВЭ. Отдельно проведен анализ заболеваемости в административном центре субъекта – г. Иркутске. В 2011–2020 гг. структура АТО различного эпидемиологического риска КВЭ претерпела изменение. Выделено шесть неэндемичных районов, группы низкого (12 АТО), среднего (9), высокого (6) и очень высокого (2) эпидемиологического риска. Изменилось пространственное расположение зон высокого эпидемиологического риска, причем их площадь возросла. Каждый кластер АТО с различной заболеваемостью КВЭ в 2011–2020 гг. охарактеризован по числу случаев КВЭ и объемам мероприятий профилактики инфекции. Сделан вывод о недостаточности объемов профилактических мероприятий в группах АТО высокого и очень высокого эпидемиологического риска.

Ключевые слова: клещевой вирусный энцефалит, заболеваемость, дифференциация территорий, эпидемиологический риск.

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

Для цитирования: Толмачёва М.И., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Чумаченко И.Г. Динамика эпидемического процесса клещевого вирусного энцефалита на территории Иркутской области в 2001–2021 гг. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:123–131. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-123-131

Поступила 24.01.2023. Принята к публ. 27.01.2023.

M.I. Tolmacheva¹, A.Ya. Nikitin¹, E.I. Andaev¹, I.G. Chumachenko²**Dynamics of the Epidemic Process of Tick-Borne Encephalitis in Irkutsk Region in 2001–2021**

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

²Rospotrebnadzor Administration in the Irkutsk Region, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The aim of this work was to analyze the spatial and temporal features of the epidemic process dynamics of tick-borne encephalitis (TBE) in Irkutsk Region in 2001–2021. **Materials and methods.** The data of the Rospotrebnadzor Administration for the Irkutsk Region, the Reference Center of the Irkutsk Research Anti-Plague Institute, the materials of the state statistical reporting form No. 2 “Information on infectious and parasitic diseases”, and scientific publications were analyzed. The chronological and chorological features of the change in the incidence of TVE have been traced. In the latter case, the administrative-territorial formations (ATF) of the subject were differentiated by epidemiological risk groups over two ten-year periods: 2001–2010 and 2011–2020. At each time interval, the grouping of areas according to the level of TBE incidence was carried out using the calculation of 95% confidence interval. Time sequences of observations were analyzed using the construction of regression equations. Standard methods of variation statistics in the Microsoft Excel were deployed. **Results and discussion.** Over the course of the 21st century, the incidence of TBE in Irkutsk Region has been declining. Based on 2001–2010 data, there were no cases of TBE in six ATF, and endemic areas were divided into three groups: with low (15 districts), medium (6) and high (8) incidence of TBE. A separate assessment of morbidity rates was conducted in the administrative center of the entity, the city of Irkutsk. In 2011–2020, the structure of ATF with varying epidemiological risk of TBE underwent a change. Six non-endemic areas, groups of low (12 ATFs), medium (9), high (6) and very high (2) epidemiological risk were identified. The spatial arrangement of high epidemiological risk zones changed, and their area increased. Each ATF cluster with different TBE incidence in 2011–2020 is characterized by the number of TBE cases and the volume of measures to prevent the infection. It is concluded that preventive measures were insufficient in ATF groups of high and very high epidemiological risk.

Key words: tick-borne encephalitis, incidence, differentiation of the territory, epidemiological risk.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

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

Citation: Tolmacheva M.I., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Chumachenko I.G. Dynamics of the Epidemic Process of Tick-Borne Encephalitis in Irkutsk Region in 2001–2021. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:123–131. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-123-131 Received 24.01.2023. Accepted 27.01.2023.

Tolmacheva M.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5710-5311>
Nikitin A.Ya., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3918-7832>

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

Иркутская область входит в группу субъектов Российской Федерации, для которых характерен высокий уровень заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ) [1]. Кроме того, область граничит с Красноярским краем, где в последние годы регистрируют самую высокую в стране инцидентность КВЭ, а также иркутяне массово посещают санаторно-курортные районы соседней Республики Бурятия, характеризующиеся устойчиво высокой и очень высокой активностью природных очагов этой инфекции [2, 3]. Эти обстоятельства наряду с данными об изменении ареалов опасных для человека видов членистоногих, в том числе основных переносчиков вируса (*Ixodes persulcatus*, *I. ricinus*, *I. pavlovskyi*) [1, 4–9], предполагают необходимость усиления внимания специалистов к проблеме мониторинга и профилактики КВЭ на территории Иркутской области.

Цель работы – проанализировать пространственно-временные особенности динамики эпидемического процесса клещевого вирусного энцефалита на территории Иркутской области за 2001–2021 гг.

Материалы и методы

Ретроспективный анализ эпидемиологической обстановки по КВЭ основан на данных Управления Роспотребнадзора по Иркутской области, Референс-центра Иркутского научно-исследовательского противочумного института, материалах государственной статистической отчетности формы № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», научных публикациях.

Данные о заболеваемости КВЭ приведены в расчете на 100 тыс. населения (‰_{0000}). Динамика изменения среднескользящих показателей (СМП) инцидентности КВЭ в Иркутской области, обращаемости в медицинские организации лиц, пострадавших от присасывания клещей, проанализированы методами регрессионного анализа [10, 11].

Для сравнения изменения хронологической структуры проявлений КВЭ на территории области в разрезе административно-территориальных образований (АТО) субъекта, собранные материалы разбиты на два десятилетних периода: 2001–2010 гг. и 2011–2020 гг. Приведены данные о числе случаев болезни, повторяемости их выявления в каждом АТО, ежегодной обращаемости населения по поводу присасывания клещей, объемах мер вакцинации, серопротекции, акарицидных обработок.

Алгоритм дифференциации территорий АТО по степени эпидемиологического риска, изложенный

в предшествующих публикациях [12, 13], включает два основных этапа: выделение групп неэндемичных и эндемичных районов, с распределением последних в три кластера путем расчета 95 % доверительного интервала (ДИ) по СМП инцидентности КВЭ; оценку принадлежности отклоняющихся значений к исследуемой группе с формированием, в случае необходимости, дополнительного кластера [10]. Статистическая обработка основана на применении стандартных методов вариационной статистики. Все расчеты проведены в программе Excel.

Результаты и обсуждение

Временные особенности динамики заболеваемости КВЭ в Иркутской области. Заболеваемость КВЭ в Иркутской области за период 2001–2021 гг. характеризуется статистически значимым ($P < 0,001$) снижением (рис. 1, А; коэффициент детерминации (R^2) линейной регрессии – 51,2 %) со среднегодовым темпом – 11,2 %. СМП заболеваемости КВЭ за этот период составил 5,0 ‰_{0000} . Максимум показателя зарегистрирован в 2002 г. (12,3 ‰_{0000}), что выше СМП инцидентности КВЭ в 2,5 раза. Минимум – в 2021 г. (1,2 ‰_{0000} – в 4,2 раза ниже СМП). Вместе с тем в 2008–2017 гг. заболеваемость находилась практически на стационарном уровне, в то время как обращаемость населения, пострадавшего от присасывания клещей, в медицинские организации экспоненциально увеличивалась (рис. 1, В). С 2018 г. начался новый спад инцидентности КВЭ, сопровождающийся снижением числа зарегистрированных случаев присасывания клещей. Оба процесса по времени совпали с пандемией COVID-19 (2019–2022 гг.), возможно, повлиявшей на полноту собранной по ним информации. Всего за 2011–2021 гг. общее число пострадавших от присасывания клещей составило 146378 человек с варьированием по годам от 8478 до 19103, а число зарегистрированных случаев КВЭ – 1031 с колебаниями от 28 до 138 за сезон.

Активность эпидемического процесса КВЭ в 2001–2010 гг. Проявления заболеваемости КВЭ в АТО Иркутской области характеризуются выраженной пространственной неоднородностью [4, 14–19]. Одной из причин этого является разнообразие биоценотической структуры природных очагов КВЭ, связанное с многообразием ландшафтов субъекта (от сухостепных до таежно-плоскогорных), расположенного в центре материка на стыке Среднесибирского плоскогорья, гор Сибири и Байкальской рифтовой зоны [20]. В частности, вирус клещевого энце-

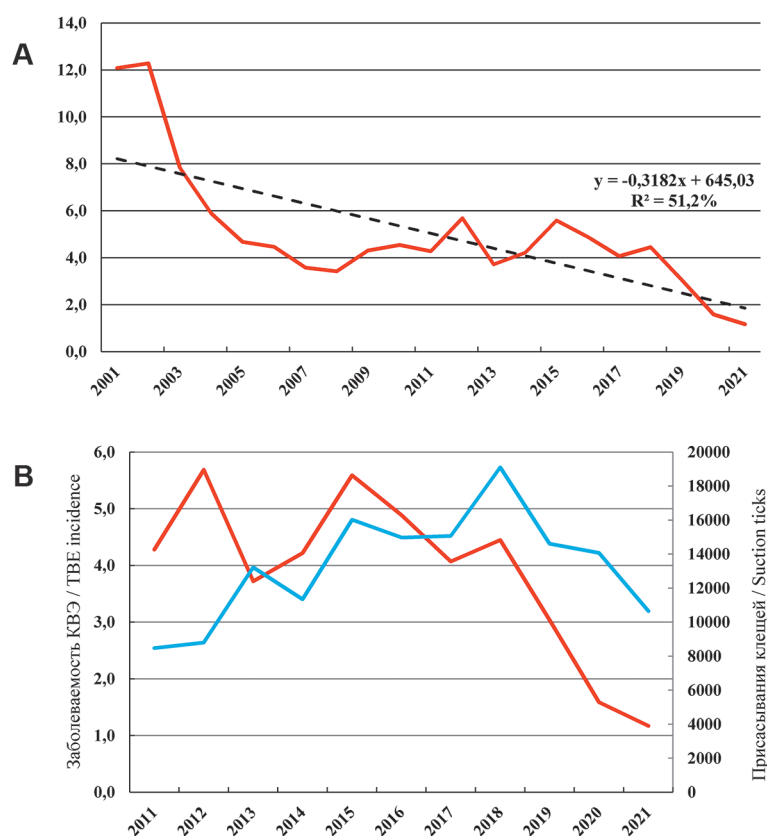


Рис. 1. Динамика заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в Иркутской области за 2001–2021 гг. (А) и характер изменения инцидентности инфекции (красная линия) в сравнении с показателем обращаемости населения по поводу присасываний клещей (синяя линия) за 2011–2021 гг. (В):

левая ось ординат – заболеваемость на 100 тыс. населения; правая ось ординат (В) – число присасываний клещей к людям

Fig. 1. Dynamics of tick-borne viral encephalitis incidence in the Irkutsk Region over the period of 2001–2021 (A) and the nature of the change in the incidence of infection (red line) as compared to the rate of appeals of the population regarding tick bites (blue line) in 2011–2021 (B):

the left axis of ordinates is the incidence rate per 100,000 population; the right y-axis (B) is the number of tick bites

фалита в регионе представлен четырьмя субтипами: сибирским, дальневосточным, европейским и байкальским (группа 886-84) [1, 18, 21], а фауна иксодовых клещей – шестью распространенными и четырьмя редкими видами [22]. Вместе с тем на большей части территории субъекта доминирует сибирский субтип вируса, а основную роль в поддержании его циркуляции в природных очагах инфекции и в передаче возбудителя людям выполняет таежный клещ (*Ixodes persulcatus*) [1, 4, 15, 21, 22].

В соответствии с целью работы проведена дифференциация АТО Иркутской области на группы от низкого до очень высокого эпидемиологического риска КВЭ путем анализа материалов о заболеваемости за 2001–2010 гг. (табл. 1). Кроме АТО, где случаи болезни отсутствовали в течение 10 лет (Г0 – шесть районов), с применением расчета 95 % ДИ остальные районы разделены на три группы: с низкой (Г1), средней (Г2) и высокой (Г3) заболеваемостью КВЭ (табл. 1). Согласно проведенному анализу показано, что группа Г1 включает 15 районов, Г2 – шесть, Г3 – восемь. Административный центр области (г. Иркутск) рассмотрен в качестве самостоятельной группы (Г4) в связи с резкими отличиями некоторых его характеристик (высокая плотность населения, наличие пригородных антропоургических очагов КВЭ, большая доступность организаций по оказанию медицинской помощи и лабораторной диагностике, особые социально-бытовые и экономические условия жизни людей и т.д.), которые влияют как на заболеваемость КВЭ, так и на выявление контактов населения с клещами, а также возможность про-

ведения мероприятий по профилактике инфекции. Вместе с тем необходимо отметить, что число эндемичных территорий, как и их структура по уровню эпидемиологического риска, не остаются постоянными и требуют контроля. Так, за 1986–2012 гг. количество эндемичных по КВЭ районов увеличилось с 15 до 30 [18]. Приводимые нами данные подтверждают, что с начала XXI в. число АТО с проявлением КВЭ составляет 30 районов. Причем в 2001–2010 гг. наиболее эпидемиологически опасные в отношении КВЭ АТО располагались на юго-востоке области (рис. 2, А).

Активность эпидемического процесса КВЭ в 2011–2021 гг. Данные о заболеваемости КВЭ в Иркутской области за последнее десятилетие рассмотрены нами более подробно, так как они наиболее актуальны для оптимизации мероприятий по профилактике инфекции. В соответствии с письмом Роспотребнадзора от 04.02.2022 № 02/2510-2022-32 из 36 АТО Иркутской области в настоящее время 30 являются эндемичными по КВЭ. Соответственно шесть неэндемичных АТО включены в группу, обозначенную Г0 (рис. 2, В, табл. 1).

Как и за предшествующее десятилетие, все эндемичные по КВЭ АТО Иркутской области (кроме административного центра – г. Иркутска) путем расчета 95 % ДИ разделены по СМП заболеваемости за 2011–2020 гг. на три группы: с низкой (Г1 – инцидентность менее 4,3 ‰), средней (Г2 – от 4,3 до 7,7 ‰) и высокой (Г3 – более 7,7 ‰) частотой проявления инфекции (табл. 1). Кроме того, два АТО (Эхирит-Булагатский и Осинский районы) по уровню

Таблица 1 / Table 1

Характеристика административно-территориальных образований Иркутской области по числу случаев и показателю инцидентности КВЭ
 Characteristics of administrative-territorial formations (ATF) of Irkutsk Region by the number of cases and the incidence rate of TBE

Наименование АТО / ATF	Число заболевших Number of cases		Показатель заболеваемости (на 100 тыс. населения) Incidence rate (per 100 thousand of the population)		Группа эпидемиологического риска Epidemiological risk group		№ АТО на рис 2 ATF number in Fig. 2
	2001–2010 гг.	2011–2020 гг.	2001–2010 гг.	2011–2020 гг.	2001–2010 гг.	2011–2020 гг.	
1	2	3	4	5	6	7	8
г. Братск / Bratsk city	34	27	1,3±0,2	1,1±0,4	1	1	34
г. Иркутск / Irkutsk city	492	192	8,4±1,6	3,2±0,5	4	4	35
г. Саянск / Sayansk city	41	22	8,8±3,7	5,6±2,1	2	2	36
Аларский район / Alar district	0	5	0,0	2,4±1,3	1	1	11
Ангарский район / Angarsk district	237	58	8,8±2,2	2,4±0,4	2	1	3
Балаганский район / Balagansky district	4	2	0,4±2,3	2,2±2,2	1	1	8
Баяндаевский район / Bayandaevsky district	10	13	26,2±7,0	11,4±3,1	3	3	15
Бодайбинский район / Bodaibo district	0	1	0,0	0,4±0,4	0	0	24
Боханский район / Bokhansky district	6	10	7,3±0,03	3,9±2,0	2	1	13
Братский район / Bratsk district	14	10	2,1±0,7	1,9±0,7	1	1	28
Жигаловский район / Zhigalovsky district	14	5	13,4±3,5	5,8±2,6	3	2	20
Заларинский район / Zalarinsky district	16	3	4,6±2,0	1,1±0,5	1	1	6
Зиминский район / Ziminsky district	29	7	5,9±2,2	1,6±0,6	1	1	7
Иркутский район / Irkutsk district	97	70	16,4±3,4	7,3±1,5	3	2	19
Казачинско-Ленский район / Kazachinsko-Lensky district	3	9	1,3±0,7	5,2±2,7	1	2	18
Катангский район / Katangsky district	0	0	0,0	0,0	0	0	25
Качугский район / Kachugsky district	60	11	27,2±8,3	6,5±2,0	3	2	17
Киренский район / Kirensky district	0	1	0,0	0,6±0,6	0	0	22
Куйтунский район / Kuitunsky district	20	7	5,1±1,8	2,4±1,0	1	1	33
Мамско-Чуйский район / Mamsko-Chuisky district	0	2	0,0	3,8±2,6	0	0	23
Нижнеилимский район / Nizhneilimsky district	1	9	0,3±0,3	1,7±1,2	0	0	27
Нижнеудинский район / Nizhneudinsky district	45	68	5,5±1,4	10,4±1,4	1	3	31
Нукутский район / Nukut district	0	2	0,0	1,2±0,8	1	1	10
Ольхонский район / Olkhonsky district	11	9	12,0±3,9	9,3±3,6	3	3	16
Осинский район / Osinsky district	2	39	3,1±1,6	18,7±3,6	1	5	12
Слюдянский район / Slyudyansky district	98	33	21,8±6,3	8,3±1,3	3	3	1

Окончание табл. 1 / Ending of table 1

1	2	3	4	5	6	7	8
Тайшетский район / Taishet district	26	21	2,8±0,9	2,1±0,6	1	1	30
Тулунский район / Tulunsky district	47	35	5,8±1,5	5,0±2,0	1	2	32
Усольский район / Usolsky district	47	40	3,3±0,6	3,1±0,4	1	1	4
Усть-Илимский район / Ust-Ilimsky district	44	119	3,7±0,7	12,0±2,1	1	3	26
Усть-Кутский район / Ust-Kutsky district	1	0	0,2±0,2	0,0	0	0	21
Усть-Удинский район / Ust-Udinsky district	25	9	14,6±4,1	6,4±1,7	3	2	9
Черемховский район / Cheremkhovsky district	94	55	10,5±1,2	6,8±1,5	2	2	5
Чунский район / Chunsky district	40	35	9,2±1,8	10,0±1,9	2	3	29
Шелеховский / Shelekhovsky district	40	30	6,2±1,9	4,6±1,1	2	2	2
Эхирит-Булагатский район / Ekhirit-Bulagatsky district	19	44	21,6±9,3	15,0±3,3	3	5	14
Иркутская область / Irkutsk Region	1615	1003	6,3±1,1	4,2±0,4	–	–	–

инцидентности КВЭ (15,0 и 18,7 ‰₀₀₀₀ соответственно) статистически значимо отличались от остальных в группе Г3, поэтому выделены в самостоятельный кластер (Г5), характеризующийся очень высокой заболеваемостью (табл. 1).

Таким образом, в результате проведенной дифференциации показано, что в 2011–2020 гг. группа Г0 включала 6 АТО, Г1 – 12, Г2 – 9, Г3 – 6, Г4 – 1 (административный центр субъекта), Г5 – 2 (рис. 2, В, табл. 1).

Подчеркнем, что при сравнении локализации зон высокого риска проявления КВЭ в Иркутской области (Г3, Г5) за два последовательных десятилетия (2001–2010 гг. и 2011–2020 гг.) произошло изменение хронологической структуры административных районов, образующих эти группы. Если ранее наиболее эпидемиологически опасные АТО находились на юго-востоке области (рис. 2, А), то в последнее десятилетие они наблюдаются не только на юго-востоке, но и на юго-западе. Причем на западе области появилось два АТО с очень высоким эпидемиологическим риском (рис. 2, В).

За последние несколько десятков лет высокую заболеваемость КВЭ регистрировали в разных АТО Иркутской области. Сопоставляя полученные данные с литературными источниками [14–19], можно констатировать усиление активности природных очагов в юго-западном направлении. Так, в ранних работах отмечено, что в 40–50-е гг. XX столетия самыми неблагополучными по КВЭ являлись три западных района области: Тайшетский, Нижнеудинский, Тулунский. В 60-е гг. – пять районов с развитой лесной промышленностью: Тайшетский, Нижнеудинский, Братский, Тулунский, Зиминский. С 70-х гг. большая часть зарегистрированных случаев КВЭ приходилась на Иркутск и городское население Ангарского, Зиминского, Черемховского и Усольского районов, т.е. активный эпидемический процесс сместился на юг субъекта [15]. Как отмечено выше, в настоящее время наиболее эпидемиологически опасны Эхирит-Булагатский и Осинский районы Иркутской области (рис. 2, В).

При анализе географических координат центров АТО, входящих в группы высокого и очень высокого эпидемиологического риска (Г3 и Г5), по данным за 2011–2020 гг., установлено, что дисперсия показателей значений их долготы и широты статистически значимо возросла по отношению к предшествующему десятилетию (2001–2010 гг.). Это свидетельствует о расширении площади зоны высокого и очень высокого эпидемиологического риска КВЭ на территории области.

Для принятия управленческих решений по оптимизации мероприятий по профилактике КВЭ на территории Иркутской области ниже дано краткое описание районов из групп различного эпидемиологического риска и приведена их характеристика по показателям направленного влияния на эпидемический процесс (табл. 2).

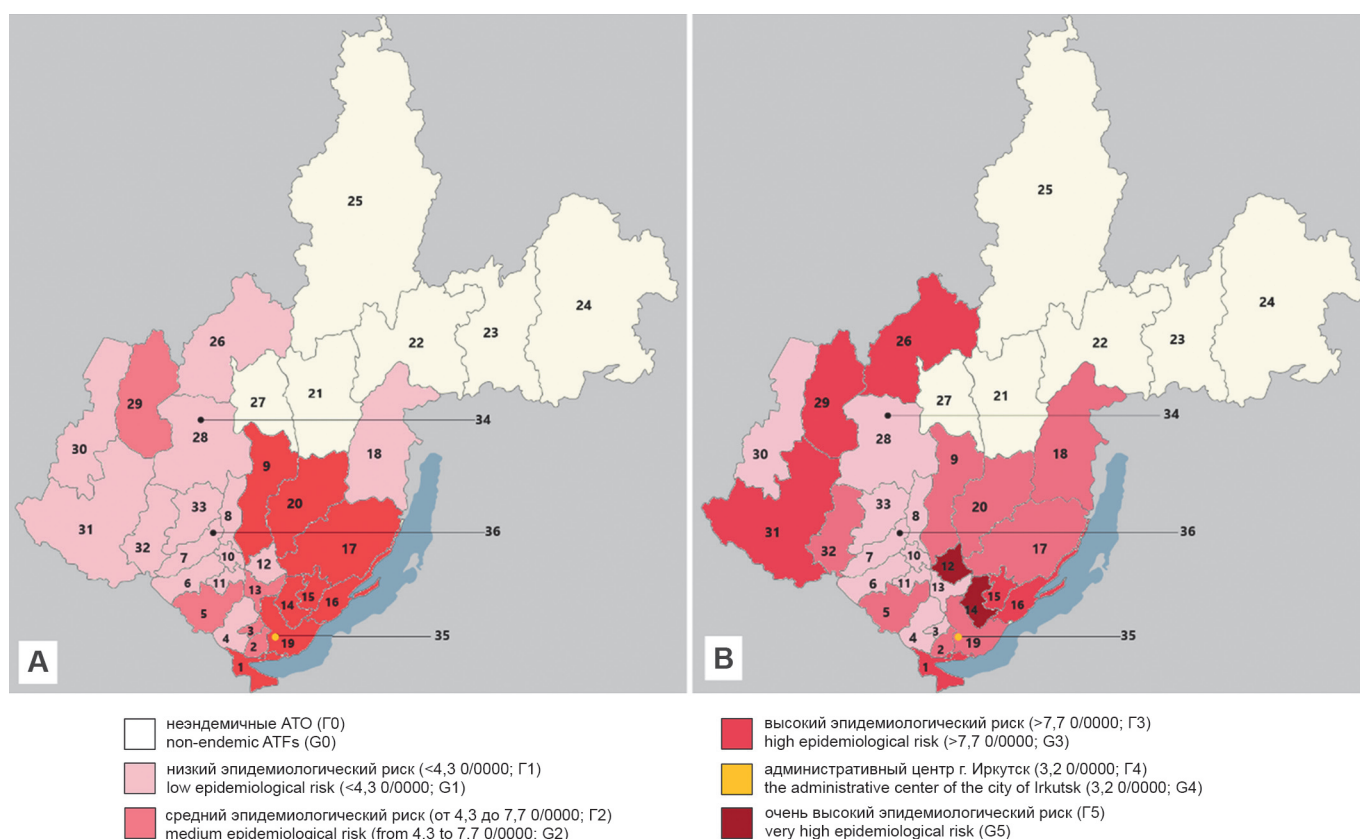


Рис. 2. Дифференциация административно-территориальных образований Иркутской области по среднемуголетнему показателю заболеваемости КВЭ за периоды: 2001–2010 (А) и 2011–2020 гг. (Б). Номера на рисунке соответствуют названиям районов, а вынесенные цифры – названиям городов в табл. 1

Fig. 2. Differentiation of the municipal districts of the Irkutsk Region according to the long-term average annual incidence rate of TBE over the periods of 2001–2010 (A) and 2011–2020 (B). Numbers in the figure correspond to the names of the districts, and the outside numbers correspond to the cities listed in table 1

АТО кластера Г0 (шесть незндемичных районов) располагаются на севере субъекта и характеризуются резко-континентальным климатом (в табл. 1 и на рис. 2 обозначены номерами 21, 22, 23, 24, 25, 27). Их общая площадь – 372 тыс. км², на которой проживает 165 тыс. человек. За 2011–2020 гг. в этих АТО выявлено 13 случаев КВЭ (Бодайбинский, Киренский, Нижнеилимский и Мамско-Чуйский районы). Причем 9 больных (69,2 %) зарегистрированы в Нижнеилимском районе, который находится на юго-западе кластера (рис. 2, В) в окружении территорий со средней и высокой заболеваемостью. Считаем необходимым провести дополнительные исследования на его территории и с учетом положений «Санитарно-эпидемиологических требований по профилактике инфекционных болезней» (СанПИН 3.3686-21) поставить вопрос об отнесении этого района к эндемичным АТО. Остальные случаи КВЭ в АТО из группы Г0, скорее всего, являются завозными. Вместе с тем присасывания клещей к людям на незндемичных территориях регистрируются достаточно регулярно. Так, за 2011–2020 гг. в медицинские организации обратились 3200 человек, пострадавших от членистоногих, – СМП (253,2±48,1) %₀₀₀₀. Как и в АТО, относящихся к эндемичным по КВЭ, на территории районов группы Г0 проводят профилактические мероприятия: вакцинацию населения, серопротекцию для пострадавших

давших от присасывания клещей, акарицидные обработки на участках социально значимых объектов (табл. 2).

АТО из группы Г1 – с низким уровнем эпидемиологического риска КВЭ (12 АТО) – располагаются на территории в 108 тыс. км², где проживает 852 тыс. жителей (в табл. 1 и на рис. 2 обозначены номерами 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 13, 28, 30, 33, 34). Медицинская помощь после присасывания клещей за 2011–2020 гг. в них оказана 24001 человеку – СМП (208,5±38,5) %₀₀₀₀. Выявлено 192 случая КВЭ – СМП инцидентности (2,1±0,2) %₀₀₀₀. Заболеваемость КВЭ регистрируется в АТО из Г1 не ежегодно (за исключением Усольского района и г. Ангарска, где больных выявляют каждый год). Усредненные объемы мер профилактики КВЭ в этом кластере АТО отражены в табл. 2.

Группа Г2 – со средним уровнем эпидемиологического риска КВЭ (9 АТО) – занимает площадь в 132 тыс. км², где проживает 352 тыс. человек (в табл. 1 и на рис. 2 обозначены номерами 2, 5, 9, 17, 18, 19, 20, 32, 36). За медицинской помощью после присасывания клещей на этой территории за 10 лет обратились 12237 человек – СМП (316,6±48,5) %₀₀₀₀. Выявлено 246 случаев КВЭ – СМП (5,9±0,3) %₀₀₀₀. Большая часть (77 %) всех больных зарегистрирована в Иркутском, Шелеховском, Тулунском и Черемховском районах. Усредненные объемы профилактических мер приведены в табл. 2.

Таблица 2 / Table 2

Характеристика факторов направленного влияния на заболеваемость КВЭ в группах различного эпидемиологического риска на территории Иркутской области; в среднем на один АТО данной группы

Characteristics of factors that influence the TBE incidence in groups of different epidemiological risk in Irkutsk Region; on average per one ATF of a group

Шифр группы эпидемиологического риска (число АТО) / Epidemiological risk group code (number of ATFs)	СМП присасываемости клещей к людям в 2011–2020 гг., ‰_{0000} / Long-term average annual value of tick bites in 2011–2020, ‰_{0000}	СМП вакцинации в 2011–2020 гг., ‰_{0000} / Long-term average annual vaccination rate in 2011–2020, ‰_{0000}	Средняя доля пострадавших от клещей людей, прошедших серопротекцию в 2019–2020 гг., % / Proportion of people exposed to tick bites, who received immunoglobulin in 2019–2020, %	Средняя площадь акарицидных работ в 2019–2020 гг., га / Average area of acaricide treatments in 2019–2020, ha
G0 (6) / G0 (6)	35,7±8,0	109,9±40,5	2,2±1,3	1,1±0,2
G1 (12) / G1 (12)	21,5±3,2	167,8±24,1	1,6±0,8	146,0±8,9
G2 (9) / G2 (9)	32,9±5,4	211,4±58,9	2,7±0,6	49,2±3,6
G3 (6) / G3 (6)	70,8±11,2	486,8±40,9	3,9±1,0	71,2±7,0
G4 (1) / G4 (1)	1366,2	2483,6	1,0	446,5
G5 (2) / G5 (2)	152,3±10,2	641,9±129,0	1,6±1,1	14,8±7,4

Группа Г3 – с высоким уровнем эпидемиологического риска КВЭ (6 АТО) – расположена на площади в 138,6 тыс. км², где проживает 172,5 тыс. человек (в табл. 1 и на рис. 2 обозначены номерами 1, 15, 16, 26, 29, 31). За медицинской помощью после присасывания клещей в 2011–2020 гг. обратились 11062 человека – СМП (374,5±67,4) ‰_{0000} . Выявлено 277 случаев КВЭ – СМП (10,2±0,5) ‰_{0000} . Больные КВЭ регистрируются ежегодно практически во всех АТО (за исключением Ольхонского и Баяндаевского районов). Максимальное количество случаев наблюдали в Усть-Илимском районе (119), минимальное – в Ольхонском (9). Усредненные объемы профилактических мер приведены в табл. 2.

Административный центр Иркутской области – г. Иркутск (Г4) – занимает площадь 305 км², на которой в настоящее время (2022 г.) проживает 617 тыс. человек (в табл. 1 и на рис. 2 обозначен номером 35). За медицинской помощью после присасывания клещей за 10 лет обратились 83952 пострадавших (СМП 1366,2 ‰_{0000}). Среди них выявлено 192 больных КВЭ (ежегодно регистрируют от 2 до 32 случаев). СМП заболеваемости составляет 3,2 ‰_{0000} , что, несмотря на самые высокие показатели присасываемости клещей к людям в областном центре, по величине инцидентности КВЭ соответствует уровню из группы АТО Г1 (табл. 2). В среднем за год в Иркутске вакцинируют против КВЭ 15261,8 человека (СМП 2483,6 ‰_{0000}). Из табл. 2 следует, что иммуноглобулин вводят в среднем 0,1 % людей, обратившихся за год в медицинские организации по поводу присасывания клещей. И эта цифра достаточно близка к среднему показателю вирусофорности переносчика, то есть отражает корректность применения мер серопротекции. Акарицидные работы осуществляют в среднем на 446,5 га (2019–2020 гг.). Сравнение заболеваемости КВЭ в административном центре за два десятилетия (2001–2010 гг. и 2011–2020 гг.) выявляет снижение как суммарного числа больных (с 492 до 192), так и инцидентности (с 8,4 до 4,3 ‰_{0000}). Причем если в 2001–2010 гг. число заболевших КВЭ в Иркутске составляло 30,5 % от всех случаев по субъекту, то в 2011–2020 гг. – 22,8 %. Вероятно, это

указывает на большие объемы, адресность и эффективность мероприятий по профилактике КВЭ, проводимых в областном центре (табл. 2).

АТО из группы Г5 (Осинский и Эхирит-Булагатский районы в табл. 1 и на рис. 2 обозначены номерами 12 и 14) вошли в состав Иркутской области в 2008 г. и характеризуются очень высоким уровнем эпидемиологического риска КВЭ. Районы занимают площадь 6,7 тыс. км², где проживает 51,5 тыс. человек. За медицинской помощью после присасывания клещей за 2011–2020 гг. в них суммарно обратились 1790 человек – СМП (304,9±20,4) ‰_{0000} . Всего выявлено 83 случая КВЭ – СМП (16,9±1,9) ‰_{0000} . Усредненные объемы профилактических мер приведены в табл. 2. Отметим, что за анализируемый период в АТО из Г5 отсутствует статистическая значимая тенденция к изменению уровня заболеваемости КВЭ.

Таким образом, как и на большинстве эндемичных по КВЭ территорий страны, на протяжении первых 20 лет XXI столетия в Иркутской области происходит снижение заболеваемости КВЭ [1, 19]. Тем не менее при сравнении двух десятилетних периодов (2001–2010 гг. и 2011–2020 гг.) в семи АТО субъекта (19,4 % от числа всех районов) ранг группы эпидемиологического риска КВЭ вырос, в 23 (63,9 %) – не изменился и только в шести (16,7 %) – снизился (табл. 1). Причем рост ранга группы эпидемиологического риска КВЭ в трех АТО составил единицу, в трех (Нижеудинский, Усть-Илимский и Эхирит-Булагатский районы) – два, а в Осинском районе – сразу четыре пункта. То есть в последнем АТО уровень заболеваемости изменился от низкого (Г1) в 2001–2010 гг. сразу до очень высокого (Г5) в 2011–2020 гг., что предполагает необходимость проведения расследования причин наблюдающейся активизации эпизоотического процесса в этом районе Иркутской области.

Если при выделении групп эпидемиологического риска КВЭ не принимать во внимание областной центр – г. Иркутск (причины этого рассмотрены выше), то прослеживается положительная связь между вероятностью заболеть КВЭ в АТО данной

группы и частотой присасывания клещей к людям (табл. 2). Так, в АТО из группы Г5 обращаемость в медицинские организации населения, пострадавшего от клещей, выше, чем в Г3, в 2,2 раза и превосходит более чем в 4 раза значения этого показателя в АТО из групп Г0–Г2. При этом все различия между районами Г0–Г2 по показателю обращаемости в медицинские организации лиц, пострадавших от присасывания клещей, статистически незначимы.

В ряде работ предлагается в качестве показателя эпидемиологического риска для территорий использовать отношение инцидентности [23] или числа случаев КВЭ [1] к показателю обращаемости в медицинские организации населения, пострадавшего от клещей. По вышеприведенным значениям СМП для АТО Иркутской области за 2011–2021 гг. показатель эпидемиологического риска, в соответствии с подходом, использованным в работе [23], будет равен 0,0101; 0,0186; 0,0272; 0,0023 и 0,0554 соответственно для районов, входящих в группы Г1–Г5. То есть этот подход к характеристике уровня эпидемиологического риска совпадает с результатами, полученными при группировке АТО в кластеры по заболеваемости КВЭ, использованной в нашей работе, что указывает на корректность обоих способов оценки исследуемого показателя.

Следует отметить, что при сравнении объемов мер профилактики, приходящихся в среднем на одно АТО в разных группах эпидемиологического риска, выявляется незначительность межгрупповых отличий (если не принимать во внимание АТО из Г4), причем их характер не всегда совпадает по направлению с возрастающей вероятностью заболеть КВЭ, особенно в отношении объемов акарицидных обработок (табл. 2). На наш взгляд, это указывает на недостаточность объемов профилактических мероприятий в группах АТО высокого и очень высокого эпидемиологического риска.

Несомненно, особого внимания со стороны учреждений Роспотребнадзора и здравоохранения требуют районы из группы Г5 и Г3, а также АТО, располагающиеся на побережье озера Байкал (Слюдянский, Иркутский, Ольхонский, Качугский), которые являются местами массового отдыха и туризма. Охват прививками от КВЭ в этих районах (жителей и контингентов эпидемиологического риска) должен строго соответствовать требованиям, изложенным в СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», так как только после наличия 60 % привитого населения показатель эпидемиологического риска снижается [23]. На территориях социально значимых объектов, расположенных в этих АТО, крайне важно особое внимание уделить проведению своевременных акарицидных обработок, а также организации санитарно-гигиенического просвещения населения, доведению до туристов и отдыхающих информации о важности применения в эпидемиологически опасный по КВЭ сезон средств индивидуальной защиты от присасывания клещей (противоклещевые костю-

мы, акарицидно-репеллентные препараты), соблюдения правил поведения в лесу в период активности переносчика [1, 3].

Вместе с тем на территориях районов низкого эпидемиологического риска и/или мест, редко посещаемых людьми, нет необходимости проводить масштабные акарицидные работы, а для защиты от присасывания клещей следует ориентироваться на перечисленные меры индивидуальной защиты.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. Погодина В.В., Ишмухаметов А.А., редакторы. Эволюция клещевого энцефалита (с момента открытия возбудителя по настоящее время). М.: ООО «ТФП»; 2021. 344 с.
2. Данчинова Г.А., Ляпунов А.В., Хаснатинов М.А., Мангазарова Э.Л., Егорова Д.В., Петрова И.В. Туризм и проблема «клещевых» инфекций в Республике Бурятия. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015; 14(5):36–43. DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-5-36-43.
3. Аюгин Н.И., Андаев Е.И., Никитин А.Я., Ханхареєв С.С., Истомина Т.Ф. Классификация муниципальных образований Республики Бурятия по уровню заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022. 3:45–52. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-45-52.
4. Ляпунов А.В., Данчинова Г.А., Хаснатинов М.А., Туник Т.В., Чапоргина Е.А., Арбатская Е.В., Каверзина А.С., Петрова И.В., Савелькаева М.В., Горбунова Е.Л. Риск заражения «клещевыми» инфекциями на территориях северных районов Предбайкалья. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения РАН*. 2011; 5:145–8.
5. Малькова М.Г., Якименко В.В., Танцев А.К. Изменение границ ареалов пастбищных иксодовых клещей рода *Ixodes* Latr., 1795 (Parasitiformes, Ixodidae) на территории Западной Сибири. *Паразитология*. 2012; 46(5):369–83.
6. Atehmengo N.L., Idika I.K., Shehu A.R. Climate change/global warming and its impacts on parasitology/entomology. *Open Parasitol. J.* 2014; 5(1):1–11. DOI: 10.2174/1874421401405010001.
7. Чернохаева Л.Л., Холодилов И.С., Пакскина Н.Д. Современный ареал клещевого энцефалита в Российской Федерации. *Труды Института полиомиелита и вирусных энцефалитов имени М.П. Чумакова РАМН. Медицинская вирусология*. 2016; 30(1):6–22.
8. 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.
9. Vladimirov L.N., Machakhtyrov G.N., Machakhtyrova V.A., Louw A.S., Sahu N., Yunus A.P., Avtar R. Quantifying the northward spread of ticks (Ixodidae) as climate warms in Northern Russia. *Atmosphere*. 2021; 12(2):233–47. DOI: 10.3390/atmos12020233.
10. Терентьев П.В., Ростова Н.С. Практикум по биометрии. Учебное пособие. Л.: Изд-во Ленинградского университета; 1977. 152 с.
11. Елисеева И.И., Юзбашев М.М. Общая теория статистики: учебник. М.: Финансы и статистика; 2006. 656 с.
12. Туранов А.О., Никитин А.Я., Андаев Е.И., Балахонов С.В., Шашина Н.И. Дифференциация территории Забайкальского края по заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:108–114. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-108-114.
13. Рудаков Н.В., Пенъевская Н.А., Савельев Д.А., Рудакова С.А., Штрек С.В., Андаев Е.И., Балахонов С.В. Дифференциация эндемичных территорий по уровню заболеваемости клещевыми трансмиссивными инфекциями как основа выбора стратегии и тактики профилактики. *Здоровье населения и среда обитания*. 2019; 12:56–61. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-321-12-56-61.
14. Данчинова Г.А., Наумов Р.Л., Лопин В.В. Многолетние изменения заболеваемости клещевым энцефалитом в Иркутской области. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 1989; 1:62–5.
15. Злобин В.И., Горин О.З. Клещевой энцефалит: Этиология. Эпидемиология и профилактика в Сибири. Новосибирск: Наука; 1996. 177 с.

16. Аитов К.А., Малов И.В., Злобин В.И., Борисов В.А. Сравнительная эпидемиология клещевого энцефалита в условиях природных очагов Восточной и Западной Сибири (обзор литературы). *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения РАН*. 2004; 3(1):59–66.
 17. Борисов В.А., Аитов К.А., Малов И.В., Козлова И.В., Верхожина М.М., Данчинова Г.А., Коган В.М. Клинические формы клещевого энцефалита в зависимости от инфицированности в различных регионах Иркутской области. *Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения РАН*. 2004; 3(1):92–5.
 18. Аитов К.А., Бурданова Т.М., Верхожина М.М., Демина Т.В., Джиоев Ю.П., Козлова И.В., Лемешевская М.В., Малов С.И., Орлова Л.С., Ткачев С.Е., Малов И.В., Злобин В.И. Клещевой энцефалит в Восточной Сибири: этиология, молекулярная эпидемиология, особенности клинического течения. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2018; 7(3):31–40. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13005.
 19. Никитин А.Я., Носков А.К., Баландина Т.П. Заболеваемость населения инфекциями, передающимися *Ixodes persulcatus*, на севере и юге Иркутской области. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2016; 6:34–40. DOI: 10.36233/0372-9311-2016-6-34-40.
 20. Корытный Л.М., редактор. Географическая энциклопедия Иркутской области. Общий очерк. Иркутск: Институт географии им. В.Б. Сочавы Сибирского отделения РАН; 2017. 336 с.
 21. Верхожина М.М., Козлова И.В., Дорошенко Е.К., Лисак О.В., Демина Т.В., Ткачев С.Е., Джиоев Ю.П., Сунцова О.В., Савинова Ю.С., Парамонов А.И., Злобин В.И. Распространение генотипов вируса клещевого энцефалита в различных типах ландшафтов Восточной Сибири. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(5-1):69–75. DOI: 10.12737/article_59e8bd10164039.21079786.
 22. Khasnatinov M.A., Liapunov A.V., Manzarova E.L., Kulakova N.V., Petrova I.V., Danchinova G.A. The diversity and prevalence of hard ticks attacking human hosts in Eastern Siberia (Russian Federation) with first description of invasion of non-endemic tick species. *Parasitol. Res.* 2016; 115(2):501–10. DOI: 10.1007/s00436-015-4766-7.
 23. Сергеев А.Г., Мищенко В.А., Быков И.П., Романенко В.В., Чистякова Л.Г., Алимов А.В. Риск-ориентированный подход в анализе эпидемиологической ситуации по заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом на эндемичных территориях. *Анализ риска здоровью*. 2020; 1:92–100. DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.10.
- ## References
1. Pogodina V.V., Ishmukhametov A.A., editors. [Evolution of Tick-Borne Encephalitis (Since the Discovery of the Pathogen to the Present)]. Moscow: "TFP" LLC, 2021. 344 p.
 2. Danchinova G.A., Lyapunov A.V., Khasnatinov M.A., Mangazarova E.L., Egorova D.V., Petrova I.V. Tourism and the issue of tick-borne infections in the Republic of Buryatia. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2015; 14(5):36–43. DOI: 10.31631/2073-3046-2015-14-5-36-43.
 3. Ayugin N.I., Andaev E.I., Nikitin A.Ya., Khankhareev S.S., Istomina T.F. [Classification of municipalities in the Republic of Buryatia by the level of tick-borne viral encephalitis incidence]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):45–52. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-45-52.
 4. Lyapunov A.V., Danchinova G.A., Khasnatinov M.A., Tunik T.V., Chaporgina E.A., Arbatskaya E.V., Kaverzina A.S., Petrova I.V., Savel'kaeva M.V., Gorbunova E.L. [The risk of infection with tick-borne diseases in the northern regions of Cis-Baikal]. *[The Bulletin of the East Siberian Scientific Center, Siberian Branch of the RAMS]*. 2011; (5):145–8.
 5. Mal'kova M.G., Yakimenko V.V., Tantsev A.K. [Changes in the areal borders of pasture Ixodid ticks of the genus *Ixodes* Latr., 1795 (Parasitiformes, Ixodidae) in Western Siberia]. *Parazitologiya [Parasitology]*. 2012; (5):369–83.
 6. Atehmengo N.L., Idika I.K., Shehu A.R. Climate change/global warming and its impacts on parasitology/entomology. *Open Parasitol. J.* 2014; 5(1):1–11. DOI: 10.2174/1874421401405010001.
 7. Chernokhaeva L.L., Kholodilov I.S., Pakskina N.D. [The current areal of tick-borne encephalitis in the Russian Federation]. *[Works of the Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis. Medical Virology]*. 2016; 30(1):6–22.
 8. Holding M., Schmitt H.-J., Ellsbury G. TBE in United Kingdom. Chapter 12b. In: Dobler G., Erber W., Bröcker M., Schmitt H.-J., eds. The TBE Book. 3rd ed. Singapore: Global Health Press; 2020. DOI: 10.33442/26613980_12b35-3.
 9. Vladimirov L.N., Machakhtyrov G.N., Machakhtyrova V.A., Louw A.S., Sahu N., Yunus A.P., Avtar R. Quantifying the northward spread of ticks (Ixodida) as climate warms in Northern Russia. *Atmosphere*. 2021; 12(2):233–47. DOI: 10.3390/atmos12020233.
 10. Terentiev P.V., Rostova N.S. [Practical Aids on Biometry. Handbook]. Leningrad: Publishing house of the Leningrad University; 1977. 152 p.
 11. Eliseeva I.I., Yuzbashev M.M. [General Theory of Statistics: Textbook]. Moscow: Financial Accounting; 2006. 656 p.
 12. Turanov A.O., Nikitin A.Ya., Andaev E.I., Balakhonov 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):108–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-108-114.
 13. Rudakov N.V., Penyevskaya N.A., Saveliyev D.A., Rudakova S.A., Shtrek C.V., Andaev E.I., Balakhonov S.V. [Differentiation of endemic areas by incidence rates of tick-borne infectious diseases as the basis for choosing prevention strategy and tactics]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2019; (12):56–61. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-321-12-56-61.
 14. Danchinova G.A., Naumov R.L., Lopin V.V. [Long-term changes in the incidence of tick-borne encephalitis in the Irkutsk Region]. *Meditsinskaya Parazitologiya i Parazitarnye Bolezni [Medical Parasitology and Parasitic Diseases]*. 1989; (1):62–5.
 15. Zlobin V.I., Gorin O.Z. [Tick-Borne Encephalitis: Etiology. Epidemiology and Prevention in Siberia]. Novosibirsk: Nauka; 1996. 177 p.
 16. Aitov K.A., Malov I.V., Zlobin V.I., Borisov V.A. [Comparative epidemiology of tick-borne encephalitis in natural foci of Eastern and Western Siberia (literature review)]. *[Bulletin of the East Siberian Scientific Center, Siberian Branch of the RAMS]*. 2004; 3(1):59–66.
 17. Borisov V.A., Aitov K.A., Malov I.V., Kozlova I.V., Verkhovina M.M., Danchinova G.A., Kogan V.M. [Clinical forms of tick-borne encephalitis depending on infection in different regions of Irkutsk Oblast]. *[Bulletin of the East Siberian Scientific Center, Siberian Branch of the RAMS]*. 2004; 3(1):92–5.
 18. Aitov K.A., Burdanova T.M., Verkhovina M.M., Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Kozlova I.V., Lemeshevskaya M.V., Malov S.I., Orlova L.S., Tkachev S.E., Malov I.V., Zlobin V.I. [Tick-borne encephalitis in Eastern Siberia: etiology, molecular epidemiology and peculiarities of the clinical course]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obucheniye [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2018; 7(3):31–40. DOI: 10.24411/2305-3496-2018-13005.
 19. Nikitin A.Ya., Noskov A.K., Balandina T.P. [Incidence of infections transmitted by *Ixodes persulcatus* among the population in the north and south of the Irkutsk Region]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2016; (6):34–40. DOI: 10.36233/0372-9311-2016-6-34-40.
 20. Korytny L.M., editor. [Geographic Encyclopedia of the Irkutsk Region. General Essay]. Irkutsk: Publishing House of the Institute of Geography named after V.B. Sochava, Siberian Branch of the RAS; 2017. 336 p.
 21. Verkhovina M.M., Kozlova I.V., Doroshchenko E.K., Lisak O.V., Demina T.B., Tkachev S.E., Dzhioev Yu.P., Suntsova O.V., Savinova Yu.S., Paramonov A.I., Zlobin V.I. [The distribution of tick-borne encephalitis virus genotypes in different types of landscapes of Eastern Siberia]. *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2(5-1):69–75. DOI: 10.12737/article_59e8bd10164039.21079786.
 22. Khasnatinov M.A., Liapunov A.V., Manzarova E.L., Kulakova N.V., Petrova I.V., Danchinova G.A. The diversity and prevalence of hard ticks attacking human hosts in Eastern Siberia (Russian Federation) with first description of invasion of non-endemic tick species. *Parasitol. Res.* 2016; 115(2):501–10. DOI: 10.1007/s00436-015-4766-7.
 23. Sergeev A.G., Mishchenko V.A., Bykov I.P., Romanenko V.V., Chistyakova L.G., Alimov A.V. [Risk-oriented approach to analyzing epidemiologic situation with incidence with tick-borne encephalitis on endemic territories]. *Analiz Riska Zdorov'yu [Health Risk Analysis]*. 2020; (1):92–100. DOI: 10.21668/health.risk/2020.1.10.
- ## Authors:
- Tolmacheva M.I., Nikitin A.Ya., Andaev E.I. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.
- Chumachenko I.G. Rosпотребнадзор Administration in the Irkutsk Region. 8, Marksa St., Irkutsk, 664003, Russian Federation. E-mail: mail@38.rospotrebnadzor.ru.
- ## Об авторах:
- Толмачёва М.И., Никитин А.Я., Андаев Е.И. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.
- Чумаченко И.Г. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Иркутской области. Российская Федерация, 664003, Иркутск, ул. К. Маркса, 8. E-mail: mail@38.rospotrebnadzor.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-132-140

УДК 616.98:578.833.2(470.1/2)

А.А. Тронин¹, Н.К. Токаревич^{2,3}, Р.В. Бузинов^{4,5}, О.В. Соколова^{5,6}, Б.Р. Гнатив⁷, Л.А. Бубнова⁸,
О.С. Сафонова⁸**Анализ динамики заболеваемости клещевым энцефалитом и количества обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей на Европейском Севере России**

¹ФГБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности» Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация; ²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ³ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ⁴ФБУН «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ⁵ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет», Архангельск, Российская Федерация; ⁶Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Архангельской области, Архангельск, Российская Федерация; ⁷Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Коми, Сыктывкар, Российская Федерация; ⁸ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Карелия», Петрозаводск, Российская Федерация

В последние десятилетия на Европейском Севере России зафиксирован значительный рост заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ) и числа людей, подвергнувшихся нападению клещей. **Цель** исследования – анализ динамики заболеваемости КВЭ и количества обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей на Европейском Севере России. **Материалы и методы.** Использована форма № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», результаты оперативного сезонного мониторинга КВЭ, представленные управлениями Роспотребнадзора соответствующих территорий. Статистическая обработка данных выполнялась с помощью программы Microsoft Excel. Отображение результатов на карте выполнено в географической информационной системе ESRI ArcMap. **Результаты и обсуждение.** Выполнен совместный анализ данных числа заболевших и заболеваемости КВЭ, числа обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей и обращаемости населения по поводу присасывания клещей на 100 тыс. населения для Архангельской области, республик Карелия и Коми и их муниципальных районов. Вычислены значения средних величин и градиентов числа заболевших, заболеваемости (2010–2020 гг.), числа обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей, обращаемости населения по поводу присасывания клещей на 100 тыс. населения (2002–2020 гг.). Построены карты средних значений и градиентов величин. Заболеваемость и число заболевших остаются на высоком уровне, превышающем среднероссийский, но снижаются в последнее десятилетие. Количество обратившихся в медицинские организации и обращаемость населения по поводу присасывания клещей на 100 тыс. населения остается на стабильно высоком уровне и не имеет тенденции к снижению. Заболеваемость и обращаемость населения по поводу присасывания клещей на 100 тыс. населения распространяется в северном направлении, захватывая новые территории в Приарктической зоне. Основной движущей силой наблюдаемой эпидемической ситуации на Европейском Севере России являются природные процессы изменения климата.

Ключевые слова: клещевой вирусный энцефалит, заболеваемость, число пострадавших, Европейский Север России.

Корреспондирующий автор: Тронин Андрей Аркадьевич, e-mail: a.a.tronin@gmail.com.

Для цитирования: Тронин А.А., Токаревич Н.К., Бузинов Р.В., Соколова О.В., Гнатив Б.Р., Бубнова Л.А., Сафонова О.С. Анализ динамики заболеваемости клещевым энцефалитом и количества обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей на Европейском Севере России. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:132–140. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-132-140

Поступила 01.11.2022. Отправлена на доработку 09.12.2022. Принята к публ. 25.01.2023.

А.А. Tronin¹, N.K. Tokarevich^{2,3}, R.V. Buzinov^{4,5}, O.V. Sokolova^{5,6}, B.R. Gnativ⁷, L.A. Bubnova⁸,
O.S. Safonova⁸**Analysis of the Dynamics of Tick-Borne Encephalitis Incidence and the Number of People who Appealed to Medical Organizations about Tick Bites in the European North of Russia**

¹St. Petersburg Research Center for Environmental Safety of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation;

²St. Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation;

³North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russian Federation;

⁴North-Western Scientific Center of Hygiene and Public Health, St. Petersburg, Russian Federation;

⁵Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russian Federation;

⁶Rospotrebnadzor Administration in the Arkhangelsk Region, Arkhangelsk, Russian Federation;

⁷Rospotrebnadzor Administration in the Komi Republic, Syktывkar, Russian Federation;

⁸Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Karelia, Petrozavodsk, Russian Federation

Abstract. In recent decades, a significant increase in the incidence of tick-borne viral encephalitis (TBVE) and the number of people attacked by ticks has been recorded in the European North of Russia. **The aim** of the study was to analyze the dynamics of the TBVE incidence and the number of people who appealed to medical organizations regarding tick bites in the European North of Russia. **Materials and methods.** We used the Form No. 2 “Information on infectious and parasitic diseases”, the results of operational seasonal monitoring of TBVE, presented by the Rospotrebnadzor

Administrations of the respective territories for our study. Statistical data processing was performed using the Microsoft Excel program. Display of the results on the map was carried out in the geographic information system ESRI ArcMap. **Results and discussion.** Combined analysis of the data on the number of cases and TBVE incidence, the number of people who appealed to medical organizations about tick bites and the number of people seeking advice about tick bites per 100 thousand population for the Arkhangelsk Region, the Republics of Karelia and Komi and their municipal districts has been performed. The mean values and gradients of the number of cases, incidence (2010–2020), the number of people who appealed to medical organizations regarding tick bites, and the number of people seeking treatment for tick bites per 100 000 population (2002–2020) have been calculated; maps of average values and gradients constructed. The incidence and the number of cases remain at the high level, exceeding the national average, but have been declining in the last decade. The number of people who appealed to medical organizations and the appealability of the population about tick bites per 100 000 of the population remain at a consistently high level and show no downward trend. The incidence and appealability of the population due to tick bites per 100 thousand of the population is spreading in a northerly direction, covering new territories in the Arctic zone. The main driving force behind the observed epidemic situation in the European North of Russia is the natural processes of climate change.

Key words: tick-borne viral encephalitis, incidence, number of affected persons, European North of Russia.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Andrey A. Tronin, e-mail: a.a.tronin@gmail.com.

Citation: Tronin A.A., Tokarevich N.K., Buzinov R.V., Sokolova O.V., Gnativ B.R., Bubnova L.A., Safonova O.S. Analysis of the Dynamics of Tick-Borne Encephalitis Incidence and the Number of People who Appealed to Medical Organizations about Tick Bites in the European North of Russia. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2023; 3:132–140. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-132-140

Received 01.11.2022. Revised 09.12.2022. Accepted 25.01.2023.

Tronin A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7852-8396>

Tokarevich N.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6433-3486>

Проблема заболеваемости инфекциями, передаваемыми иксодовыми клещами, остается актуальной для Европейского Севера России, и в особенности для Приарктической зоны. Заболеваемость клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ) в этом регионе остается высокой и превышает среднюю по России. Архангельская область и Республика Карелия отнесены к регионам со средним уровнем заболеваемости КВЭ, а Республика Коми характеризуется низким уровнем заболеваемости [1].

Иксодовые клещи являются переносчиками многих патогенов, вызывающих у людей опасные инфекционные болезни, в том числе КВЭ. В России в 2021 г. зарегистрировано 1015 случаев этой инфекции, из которых 14 закончились летальным исходом [1]. Количественная оценка популяции клещей, основного переносчика вируса КВЭ, необходима при разработке профилактических мероприятий для данной административной территории. Как правило, для этого используют классический метод сбора клещей на флаг. Однако результаты, полученные на отдельных участках, где производился сбор клещей, не могут релевантно отражать обилие иксодовых клещей на очень больших территориях, таких как Европейский Север России [2]. К этому региону относятся Республика Карелия, Архангельская область и Республика Коми. В Мурманской области и Ненецком автономном округе регистрируются лишь завозные случаи болезней, передающихся иксодовыми клещами [1].

Мониторинг численности клещей в России проводится весьма фрагментарно [3] и не позволяет оценить динамику эпидемических процессов крупного региона. В данном случае используется косвенный метод оценки количества клещей: сравнивается ко-

личество жителей, пострадавших от их нападения на протяжении ряда лет. Хотя этот метод имеет также существенные ограничения, при налаженной на государственном уровне системе регистрации обращений в медицинские организации лиц, пострадавших от нападения клещей, он позволяет выявлять «новые» территории обитания клещей, где сбором на флаг не всегда удастся выявить небольшое количество клещей. Кроме того, сравнивая количество жителей, пострадавших от нападения клещей, за длительный период времени, можно косвенно судить о динамике численности клещей на больших территориях. Существенное информационное значение количество обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей подтверждается включением этого показателя в документы федерального статистического наблюдения [1].

Целью исследования является анализ динамики заболеваемости КВЭ и количества обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей на Европейском Севере России.

Материалы и методы

Рассматриваемая территория располагается на севере европейской части России в Арктической и Приарктической зонах. Климат изучаемой территории – субарктический. Среднегодовые температуры воздуха в регионе колеблются от отрицательных на севере Республики Коми до +6 °С на юге Республики Карелия. На территории развиты бореальные лесные и тундровые экосистемы, представленные главным образом хвойными и лиственными лесами, кустарничковой тундрой на севере с преобладанием ели, сосны, пихты, березы и осины.

Территория относится к зоне избыточного увлажнения, среднегодовое количество атмосферных осадков возрастает с севера на юг и составляет 400–750 мм в год. Весь север европейской части России подвержен сильным климатическим изменениям, особенно в отношении температуры воздуха во второй половине XX в. [4].

Для анализа эпидемических процессов выбраны данные о числе заболевших КВЭ, заболеваемости КВЭ на 100 тыс. населения, количестве обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей и показатель обращаемости населения по поводу присасывания клещей на 100 тыс. населения (далее – ППК) по всем муниципальным районам республик Карелия, Коми и Архангельской области. Таким образом была создана база данных, содержащая 4190 единиц данных по 63 муниципальным образованиям севера европейской части России. В работе использована форма № 2 «Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях», результаты оперативного сезонного мониторинга КВЭ, представленные управлениями Роспотребнадзора соответствующих территорий.

Для адекватного отражения данных по городам региона на карте они объединены с данными о прилежащем муниципальном районе. Для корректной оценки динамики эпидемических процессов из всей базы данных выбрана информация о числе заболевших и заболеваемости КВЭ за последнее десятилетие – 2010–2020 гг., так как это самый короткий интервал наличия данных в Республике Карелия. Для количества обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей и обращаемости выбран интервал 2002–2020 гг., опять же из-за недостатка данных по Карелии.

Статистическая обработка данных заключалась в вычислении среднего значения переменных и линейного тренда (градиента). Для деления муниципальных образований на группы низкого, среднего и высокого уровня заболеваемости КВЭ использован расчет 95 % доверительного интервала (ДИ) по среднемуголетним значениям. Территории разделены на три группы: 1) с низким уровнем заболеваемости (ниже величины средней заболеваемости минус радиус 95 % ДИ); 2) со средним уровнем заболеваемости (средняя заболеваемость $\pm$ радиус 95 % ДИ); 3) с высоким уровнем заболеваемости (средняя заболеваемость плюс радиус 95 % ДИ).

Линейный тренд временного ряда рассчитывается как статистика с применением метода наименьших квадратов, для того чтобы вычислить уравнение прямой линии, которая наилучшим образом аппроксимирует имеющиеся данные. Коэффициент линейного тренда, получаемый в результате вычислений, отражает направленность и интенсивность процессов во времени, т.е. увеличивается или уменьшается исследуемая величина во времени и с какой интенсивностью. Вычисления выполнялись с помощью программы Microsoft Excel. Отображение результа-

тов на карте выполнено в географической информационной системе ESRI ArcMap.

В результате обработки первичной информации получены следующие материалы: число заболевших и заболеваемость КВЭ, количество обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей и ППК по муниципальным районам республик Карелия, Коми и Архангельской области с 2010 по 2020 г., а также временные тренды этих величин. Заболеваемость по субъектам Федерации проанализирована с 1986 по 2020 г. Далее в тексте величины заболеваемости КВЭ и ППК приведены к 100 тыс. населения.

Результаты и обсуждение

Динамика заболеваемости КВЭ на Европейском Севере России демонстрирует высокую изменчивость за последние 35 лет. На фоне общего снижения заболеваемости КВЭ в России с конца 1990-х гг. до настоящего времени на Европейском Севере России наблюдаются процессы роста и спада заболеваемости. Они схожи по форме на разных территориях, но различаются по амплитуде и времени максимума. В Республике Карелия максимум пришелся на 2003 г. (15,3 на 100 тыс. населения), в Архангельской области – на 2009–2013 гг. Эпидемическая ситуация в Республике Коми несколько отличается от таковой других территорий: достигнуты локальные максимумы, но на низком уровне – заболеваемость не превышала 3,3 на 100 тыс. населения, а в 2020 г. составила 0,85, что примерно соответствует заболеваемости по всей территории России – 0,66. Заболеваемость в России и на Европейском Севере России за последние 35 лет показана на рис. 1.

Для более детального анализа динамики эпидемической ситуации с КВЭ рассмотрены средние значения случаев заболевания и линейного тренда по муниципальным образованиям (районам) на Европейском Севере России. Большое число случаев заболевания наблюдается в южной части зоны, а также в городской агломерации Архангельска, что объясняется высокой численностью населения в городе. В северных районах наблюдается малое число заболеваний. Так, в Лешуконском и Мезенском районах Архангельской области с 2010 по 2020 г. не зарегистрировано ни одного случая заболевания КВЭ. Градиент числа случаев заболевания КВЭ показывает сложную картину динамики во времени: в северных районах градиент колеблется около нулевых значений – нет роста числа заболевших, на юге отмечаются главным образом отрицательные значения градиента – уменьшение числа заболевших.

Более наглядную картину представляет заболеваемость КВЭ по региону. Ранжирование территории муниципальных образований по уровням заболеваемости КВЭ в 2010–2020 гг. приведено на рис. 2. Средний уровень заболеваемости по всему региону в 2010–2020 гг. составил 5,65 на 100 тыс. население.

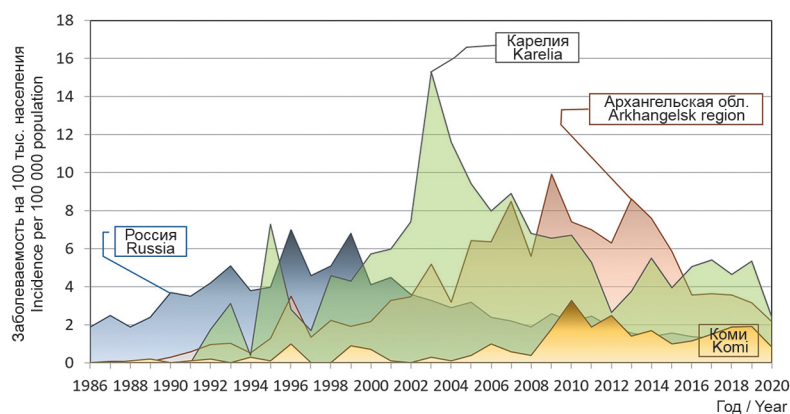


Рис. 1. Динамика заболеваемости клещевым вирусным энцефалитом в России, республиках Карелия и Коми, Архангельской области в 1986–2020 гг. (на 100 тыс. населения)

Fig. 1. Tick-borne viral encephalitis morbidity in Russia, Arkhangelsk Region, and the Republics of Karelia and Komi in 1986–2020 (per 100 000 population)

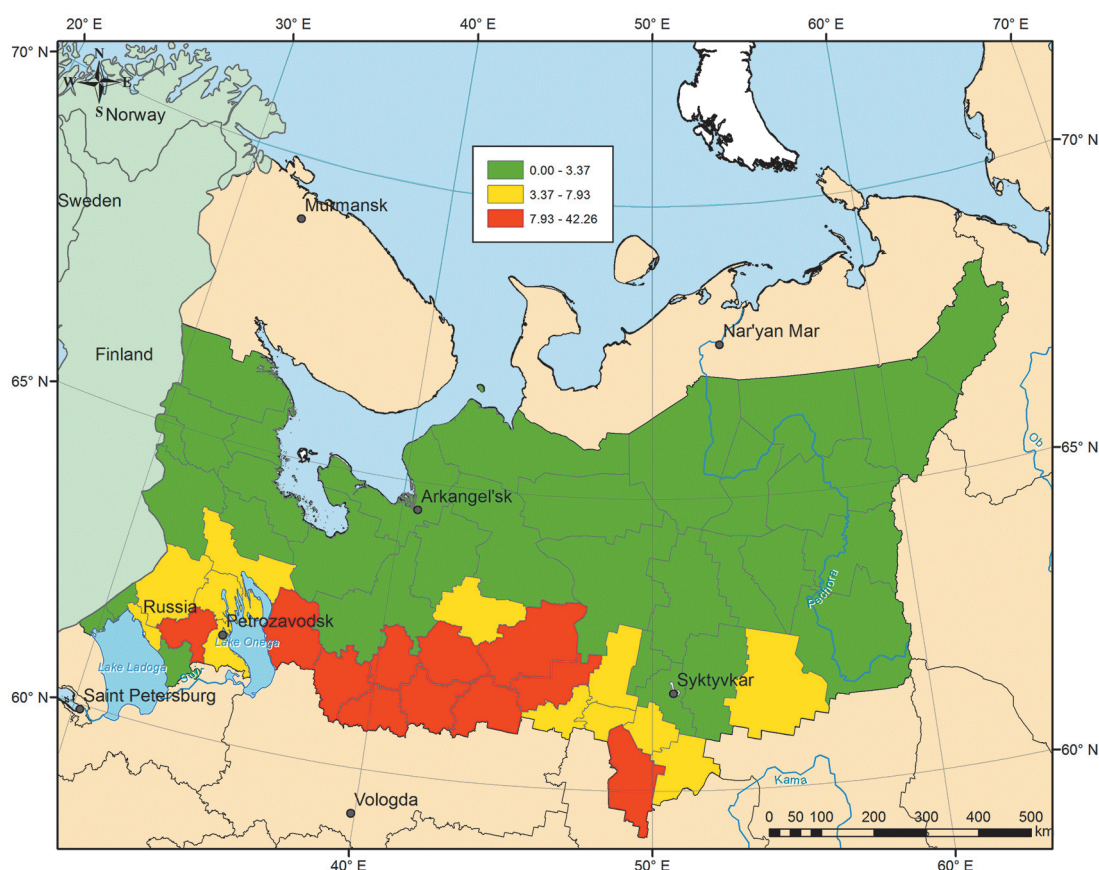


Рис. 2. Ранжирование муниципальных образований Архангельской области, республик Карелия и Коми по уровням заболеваемости КВЭ в 2010–2020 гг.

Fig. 2. The ranking of administrative units of the Arkhangelsk Region and the Republics of Karelia and Komi by tick-borne viral encephalitis incidence in 2010–2020

ния. Зеленым цветом на карте показаны территории низкого уровня заболеваемости, желтым – среднего, а красным – высокого, согласно 95 % ДИ по среднелетним значениям.

Карта заболеваемости КВЭ демонстрирует закономерное увеличение заболеваемости с юга на север. Высокая средняя заболеваемость (более 20 на 100 тыс. населения) наблюдается в южных районах Архангельской области (Вельский, Коношский и Шенкурский) и Республики Коми (Прилузский район). В Республике Карелия средний уровень заболеваемости несколько ниже, максимальные значе-

ния зафиксированы для Пудожского района – 16,4 на 100 тыс. населения. В большинстве северных районов заболеваемость находится на нулевом уровне.

Динамика заболеваемости КВЭ, т.е. линейный тренд в интервале 2010–2020 гг., показана на рис. 3.

Градиент заболеваемости КВЭ (рис. 3) в некоторой степени повторяет картину градиента числа случаев заболевания КВЭ: в северных районах наблюдается стабильная ситуация с заболеваемостью, в более южных отмечается как умеренный рост, так и резкое снижение заболеваемости. Высокие значе-

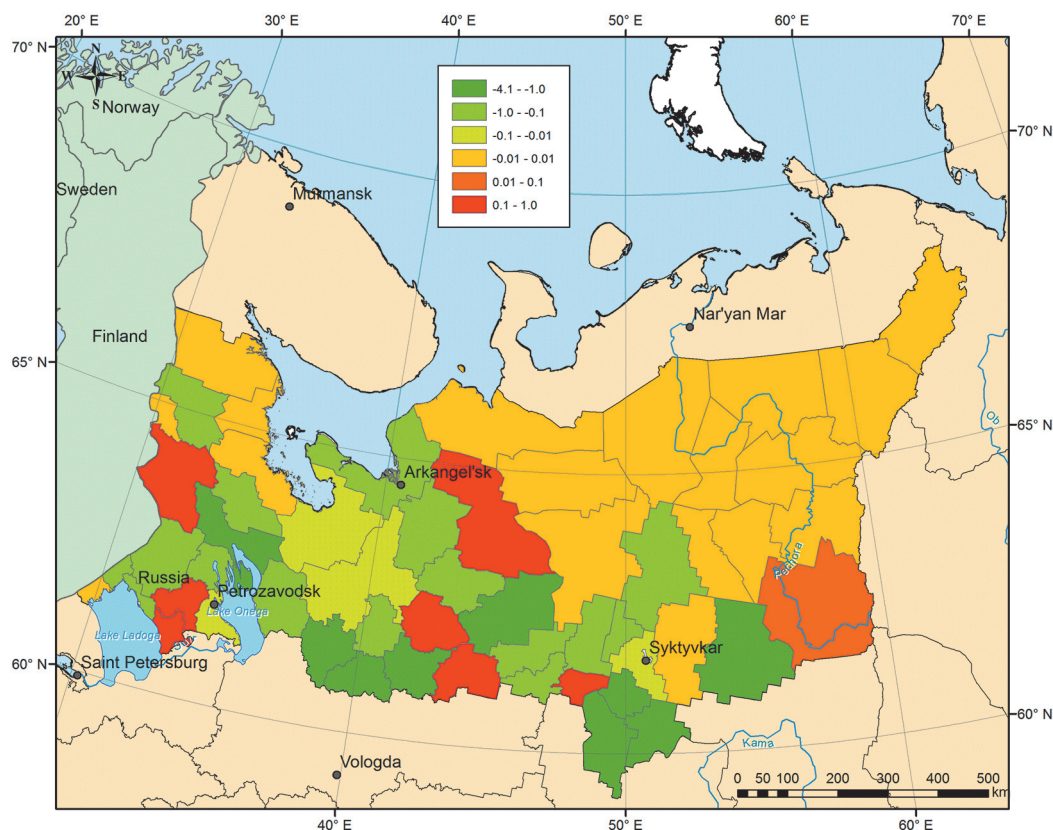


Рис. 3. Градиент заболеваемости КВЭ по муниципальным образованиям на Европейском Севере России с 2010 по 2020 г.

Fig. 3. The trends of tick-borne viral encephalitis morbidity in administrative units of European North of Russia between 2010 and 2020

ния градиента характерны для южных районов, где наблюдаются высокие средние значения заболеваемости. Высокое значение градиента в Пинежском районе Архангельской области объясняется единственным случаем заболевания в 2019 г. на фоне отсутствия заболевших в другие годы. Та же причина высокого градиента в Муезерском районе Республики Карелия: один заболевший в 2020 г. и отсутствие заболевших с 2010 по 2019 г.

Максимальные отрицательные значения градиента зафиксированы в следующих районах Архангельской области: Вельский, Верхне-Тоёмский, Каргопольский, Коношский, – а также в Медвежьегорском районе Республики Карелия и Койгородском районе Республики Коми. Очевидно,

что это районы, где наблюдалась высокая заболеваемость, которая к концу рассматриваемого периода существенно уменьшилась. Следует отметить, что в период с 2010 по 2020 г. наблюдается спад заболеваемости по региону в целом (см. рис. 1).

Анализируя число заболевших и заболеваемость КВЭ, можно отметить, что мы имеем дело с относительно низкими значениями, которые не в полной мере дают возможность адекватно отразить эпидемическую ситуацию со статистической точки зрения. Значительно более репрезентативны данные о числе обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей и ППК.

Динамика ППК на Европейском Севере России за последние 40 лет показана на рис. 4. Наиболее

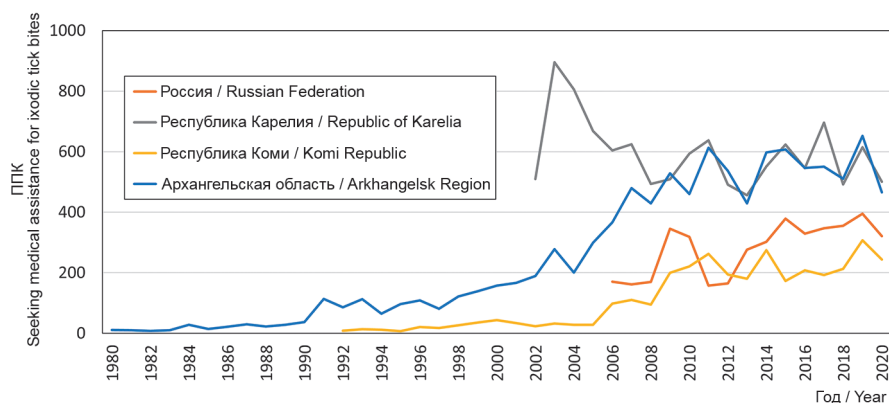


Рис. 4. Динамика обращаемости населения по поводу присасывания иксодовых клещей в России, республиках Карелия и Коми, Архангельской области в 1980–2020 гг. (на 100 тыс. населения)

Fig. 4. Dynamics of seeking medical assistance for ixodic tick bites among the population in Russia on the whole, Republics of Karelia and Komi, and the Arkhangelsk Region in 1980–2020 (per 100 000 population)

длинный ряд наблюдений имеется для Архангельской области, для других регионов и России в целом ряд значительно короче.

Показатель обращаемости населения по поводу присасывания иксодовых клещей на 100 тыс. населения в регионах Европейского Севера России растет. Особенно наглядно это видно на примере Архангельской области и Республики Коми, где регистрируется достаточно продолжительный период очень низкого уровня ППК, а затем экспоненциальный рост этого показателя [2, 5]. Так, в период с 1980 по 1989 г. в Архангельской области наблюдались средние значения ППК ($18,5 \pm 8,5$), а в последнее десятилетие, с 2011 по 2020 г., – ($550,9 \pm 69,4$). Данные по Республике Карелия о количестве обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей охватывают менее продолжительный период времени, но, судя по тому, что в последнее десятилетие ППК в Архангельской области и Республике Карелия находятся на одном уровне, а также принимая во внимание заболеваемость КВЭ в Республике Карелия (рис. 1), можно предположить, что и ППК в 1980-х гг. находился на очень низком уровне. В Республике Карелия отмечен рекордный уровень ППК для всего изучаемого региона: в 2003 г. он составил 895 на 100 тыс. населения. В Республике Коми в последнее десятилетие ППК находится на уровне вдвое ниже, чем в Республике Карелия и Архангельской области, – ($224,9 \pm 44,9$).

Большое число обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей регистрируется в южной части региона и на западе Архангельской области. В северных районах наблюдается малое число пострадавших. Нападения клещей на людей зафиксированы почти во всех районах, только в одном муниципальном образовании всего региона – Усть-Цилемском районе на северо-западе Республики Коми – за весь период наблюдения не зарегистрировано ни одного случая нападения клещей на человека. Динамика обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей в регионе характеризуется ростом числа пострадавших, который отмечается практически на всей территории зоны, за исключением южной Карелии, в окрестностях Петрозаводска. Средний ППК за период 2002–2020 гг. по муниципальным образованиям приведен на рис. 5.

Графическое отображение среднего ППК представляет собой довольно наглядное изменение числа обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей с юга на север и похоже на аналогичное изображение заболеваемости (рис. 2). Можно лишь отметить, что ППК на севере и юге зоны отличается на четыре порядка: максимальный средний ППК зафиксирован в Красноборском районе Архангельской области и составляет 2230,95 на 100 тыс. населения, тогда как в Мезенском районе той же области – 0,39 на 100 тыс. населения.

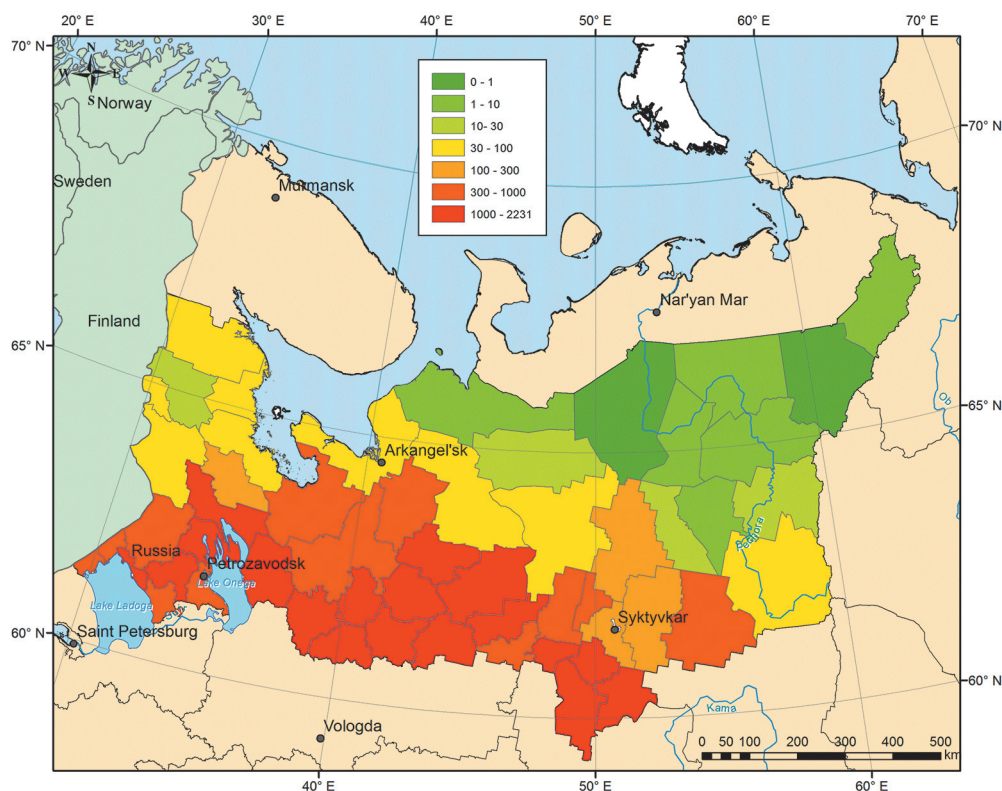


Рис. 5. Средняя обращаемость населения по поводу присасывания клещей на 100 тыс. населения по муниципальным образованиям на Европейском Севере России с 2002 по 2020 г.

Fig. 5. Mean value for the number of people who sought medical assistance for tick bites, per 100 000 population, by administrative units of European North of Russia between 2002 and 2020

Высокие положительные значения градиента, т.е. рост числа пострадавших, отмечаются практически на всей территории региона, за исключением южной Карелии, в окрестностях Петрозаводска. Максимальные положительные значения градиента зарегистрированы на юге Архангельской области и Республики Коми.

Таким образом, анализ динамики заболеваемости КВЭ и количества обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей, а также ППК на Европейском Севере России показал существенные изменения эпидемической ситуации. Как и при любом анализе временных рядов, решающее значение играет интервал времени исследования. Наиболее широко известный пример – современные изменения климата: если рассматривать период в 200 лет в Северной Европе, то температура воздуха имеет явный тренд к росту, если же взять период в 8000 лет, т.е. после последнего, плейстоценового оледенения, то тренд температур будет негативный. Схожая ситуация и в нашем случае. Рассматривая период с начала 80-х гг. прошлого века до настоящего времени, можно констатировать, что в начале периода на Европейском Севере России практически не регистрировались случаи нападения клещей на человека и заболевания КВЭ. Затем произошел резкий рост этих показателей, в Республике Карелия раньше, в Архангельской области и Республике Коми – позже (см. рис. 1 и 4). Далее наступила фаза стабилизации, характеризующаяся тем, что уровень ППК остается на одном уровне, а заболеваемость падает. Именно этот период стабилизации и является временным интервалом наших исследований из-за ограниченного временного интервала эпидемиологических данных.

В результате исследований выявлено, что в последнее десятилетие наблюдается выраженное снижение заболеваемости КВЭ при сохраняющемся уровне ППК. Объяснение подобной ситуации возможно с двух сторон: проведение противоэпидемических мероприятий, и в первую очередь вакцинации, сдерживает заболеваемость КВЭ. С другой стороны – возможное снижение инфицированности клещей вирусом КВЭ, а также рост иммунизации населения из-за частых контактов с вирусом.

Вероятно, эти разнонаправленные тенденции обусловлены рядом факторов. Так, в последние годы значительно увеличился объем специфической профилактики в отношении этой инфекции. Например, в Архангельской области количество вакцинированных жителей с 2005 по 2015 г. увеличилось в 3,6 раза – с 6699 до 23939 человек. Хотя количество вакцинированных относительно невелико по сравнению с количеством жителей области, необходимо подчеркнуть, что основная группа вакцинированных состояла из лиц, относящихся к профессиональным группам риска заболевания КВЭ. Более того, почти 30 % пострадавших от присасывания клещей в 2015 г. была проведена экстренная серопротекция иммуноглобулином [6].

Другой причиной снижения заболеваемости КВЭ может быть рост естественной иммунизации населения. Так, в 1980–2020 гг. число обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей в Архангельской области составило более 127 тыс. человек, что составляет 12 % современного населения области. Серопревалентность в отношении вируса клещевого энцефалита среди жителей южных районов Архангельской области составляет более 20 % [6].

В чем причины наблюдаемой динамики заболеваемости КВЭ и числа пострадавших от нападения клещей? Значительный объем исследований по влиянию изменения климата на распространение иксодовых клещей был выполнен в России, Европе и Северной Америке [7–11]. Нами было показано, что популяция клещей на европейской территории России распространяется в северном направлении, и температура воздуха является главным контролирующим фактором этого движения [5]. Выполнено моделирование развития популяции клещей при прогнозируемых климатических изменениях для всей территории России [12] и других стран [13, 14].

Анализ характера распределения ППК в зависимости от температуры показывает, что температура атмосферного воздуха является основным, но не единственным фактором, регулирующим численность иксодовых клещей на Европейском Севере России [3, 15]. В приблизительно одинаковых экосистемах северной тайги и условиях избыточного увлажнения именно температура играет главную роль в формировании популяции клещей.

За последние десятилетия произошли существенные изменения биотических компонентов ландшафтов на Европейском Севере России. Наблюдается расширение лесных зон в северном направлении, что обуславливает экспансию на северные территории многих видов диких млекопитающих, которые являются основными прокормителями иксодовых клещей.

Ранее северная граница обитания иксодовых клещей проходила значительно южнее. За сорокалетний период наблюдения миграция клещей из южных районов Республики Коми на север составила не менее 150–200 км. Аналогичные процессы наблюдаются в Архангельской области и Республике Карелия.

Исследования экологии клещей *Ixodes persulcatus* показывали, что для развития популяции необходимо накопление суммы температур воздуха 1400–1500 °C за период с устойчивой среднесуточной температурой выше 10 °C либо суммы температур 1600 °C за период с устойчивой среднесуточной температурой выше 5 °C [15, 16]. Эти же исследования подчеркивают важность температурных условий зимовки популяции, которая определяется температурой воздуха и характеристиками снежного покрова. На наш взгляд, для условий Европейского Севера России целесообразно использовать среднегодовые температуры, отражающие полный температурный режим региона.

Последние исследования изменений температурного режима поверхности на Европейском Севере России показывают тенденцию на стабилизацию и даже некоторое снижение летних температур. Вегетационный период, т.е. период с устойчивой среднесуточной температурой выше 10 °С, так же стабилен последние два десятилетия [4]. Исследования зависимости ППК от температуры на Европейском Севере России показали, что во многих районах достигнута оптимальная температура для развития *I. persulcatus*, и ППК в этих районах не растет, оставаясь на уровне 1000 на 100 тыс. населения, что позволяет сделать предположение, что и популяция клещей так же достигла максимума и более не увеличивается.

Анализ динамики заболеваемости КВЭ и числа обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей на Европейском Севере России позволил сделать следующие выводы: 1) уровень заболеваемости и число заболевших КВЭ остаются на высоком уровне, превышающем среднероссийский, но снижаются в последнее десятилетие; 2) число обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей и ППК остаются на стабильно высоком уровне и не имеют тенденции к снижению; 3) в Архангельской области и Республике Карелия ППК, по-видимому, достиг насыщения и не будет расти в дальнейшем; 4) и заболеваемость, и число обратившихся в медицинские организации по поводу присасывания клещей распространяются в северном направлении, захватывая новые территории в Приарктической зоне; 5) основной движущей силой наблюдаемой эпидемической ситуации на Европейском Севере России являются природные процессы изменения климата.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. 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.
2. Тронин А.А., Токарев Н.К., Гнатив Б.Р. Численность клещей *Ixodes persulcatus* в Республике Коми как функция температуры воздуха. *Инфекция и иммунитет*. 2019; 9(5-6):811–6. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-811-816.
3. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М.: Комментари; 2013. 463 с.
4. Второй оценочный доклад Росгидромета об изменении климата и их последствиях на территории Российской Федерации. Общее резюме. М.: Росгидромет; 2014. 61 с.
5. Тронин А., Токарев Н., Блинова О., Гнатив Б., Бузин Р., Соколова О., Евенгард В., Пахомова Т., Бубнова Л., Сафонова О. Study of the relationship between the average annual temperature of atmospheric air and the number of tick-bitten humans in the North of European Russia. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17(21):8006. DOI: 10.3390/ijerph17218006.
6. Соколова О.В., Чашин В.П., Попова О.Н., Бузин Р.В., Пасынкова М.М., Гудков А.Б. Эпидемиологические осо-

бенности распространения клещевого вирусного энцефалита в Архангельской области. *Экология человека*. 2017; 4:12–9. DOI: 10.33396/1728-0869-2017-4-12-19.

7. Lindgren E., Gustafson R. Tick-borne encephalitis in Sweden and climate change. *Lancet*. 2001; 358(9275):16–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)05250-8.

8. Gray J.S., Dautel H., Estrada-Peña A., Kahl O., Lindgren E. Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis*. 2009; 2009:593232. DOI: 10.1155/2009/593232.

9. Ostfeld R.S., Brunner J.L. Climate change and *Ixodes* tick-borne diseases of humans. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*. 2015; 370(1665):20140051. DOI: 10.1098/rstb.2014.0051.

10. Sirotkin M.B., Korenberg E.I. Influence of abiotic factors on different developmental stages of the taiga tick *Ixodes persulcatus* and the sheep tick *Ixodes ricinus*. *Entomol. Rev*. 2018; 98(4):496–513. DOI: 10.1134/S0013873818040115.

11. Bouchard C., Dibbernardo A., Koffi J., Wood H., Leighton P.A., Lindsay L.R. Increased risk of tick-borne diseases with climate and environmental changes. *Can. Commun. Dis. Rep. = Relevé des Maladies Transmissibles au Canada*. 2019; 45(4):83–9. DOI: 10.14745/ccdr.v45i04a02.

12. Ясюкевич В.В., Попов И.О., Титкина С.Н., Ясюкевич Н.В. Уязвимость субъектов Российской Федерации в отношении распространения основных переносчиков иксодовых клещевых боррелиозов и клещевого энцефалита в условиях предполагаемого изменения климата. *Проблемы экологического мониторинга и моделирования экосистем*. 2018; 29(4):8–28. DOI: 10.21513/0207-2564-2018-4-08-28.

13. Gaff H.D., Gross L.J. Modeling tick-borne disease: a metapopulation model. *Bull. Math. Biol*. 2007; 69(1):265–88. DOI: 10.1007/s11538-006-9125-5.

14. Porretta D., Mastrantonio V., Amendolia S., Gaiarsa S., Epis S., Genchi C., Bandi C., Otranto D., Urbanelli S. Effects of global changes on the climatic niche of the tick *Ixodes ricinus* inferred by species distribution modelling. *Parasites Vectors*. 2013; 6:271. DOI: 10.1186/1756-3305-6-271.

15. Балашов Ю.С. Иксодовые клещи – паразиты и переносчики инфекций. СПб.: Наука; 1998. 287 с.

16. Таежный клещ *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae): Морфология, систематика, экология, медицинское значение. Л.: Наука; 1985. 410 с.

References

1. Nikitin A.Y., 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.
2. Tronin A.A., Tokarevich N.K., Gnativ B.R. [Abundance of *Ixodes persulcatus* ticks in Komi Republic as a function of an air temperature]. *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2019; 9(5-6):811–6. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-811-816.
3. Korenberg E.I., Pomelova V.G., Osin N.S. [Natural-Focal Ixodidae Tick-Borne Infections]. Moscow: "Komentarij"; 2013. 463 p.
4. [The second assessment report of Federal Service of Russia on Hydrometeorology and Monitoring of the Environment on climate change and its consequences on the territory of the Russian Federation. General summary]. Moscow: Roshydromet; 2014. 61 p.
5. Tronin A., Tokarevich N., Blinova O., Gnativ B., Buzinov R., Sokolova O., Evengard B., Pahomova T., Bubnova L., Safonova O. Study of the relationship between the average annual temperature of atmospheric air and the number of tick-bitten humans in the North of European Russia. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17(21):8006. DOI: 10.3390/ijerph17218006.
6. Sokolova O.V., Chashchin V.P., Popova O.N., Buzinov R.V., Pasyunkova M.M., Gudkov A.B. [Epidemiological features of the spread of tick-borne viral encephalitis in the Arkhangelsk region]. *Ekologiya Cheloveka [Human Ecology]*. 2017; (4):12–9. DOI: 10.33396/1728-0869-2017-4-12-19.
7. Lindgren E., Gustafson R. Tick-borne encephalitis in Sweden and climate change. *Lancet*. 2001; 358(9275):16–8. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)05250-8.
8. Gray J.S., Dautel H., Estrada-Peña A., Kahl O., Lindgren E. Effects of climate change on ticks and tick-borne diseases in Europe. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis*. 2009; 2009:593232. DOI: 10.1155/2009/593232.
9. Ostfeld R.S., Brunner J.L. Climate change and *Ixodes* tick-borne diseases of humans. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci*. 2015; 370(1665):20140051. DOI: 10.1098/rstb.2014.0051.
10. Sirotkin M.B., Korenberg E.I. Influence of abiotic factors on different developmental stages of the taiga tick *Ixodes persulcatus*

and the sheep tick *Ixodes ricinus*. *Entomol. Rev.* 2018; 98(4):496–513. DOI: 10.1134/S0013873818040115.

11. Bouchard C., Dibbernardo A., Koffi J., Wood H., Leighton P.A., Lindsay L.R. Increased risk of tick-borne diseases with climate and environmental changes. *Can. Commun. Dis. Rep. = Relevé des Maladies Transmissibles au Canada*. 2019; 45(4):83–9. DOI: 10.14745/ccdr.v45i04a02.

12. Yajukevich V.V., Popov I.O., Titkina S.N., Yajukevich N.V. [The vulnerability of subjects of the Russian Federation in relation to the distribution of the main vectors of *Ixodes* tick-borne borelliosis and tick-borne encephalitis in the expected climate change]. *Problems of Problemy Ekologicheskogo Monitoringa i Modelirovaniya Ekosistem [Ecological Monitoring and Ecosystem Modeling]*. 2018; 29(4):8–28. DOI: 10.21513/0207-2564-2018-4-08-28.

13. Gaff H.D., Gross L.J. Modeling tick-borne disease: a metapopulation model. *Bull. Math. Biol.* 2007; 69(1):265–88. DOI: 10.1007/s11538-006-9125-5.

14. Porretta D., Mastrantonio V., Amendolia S., Gaiarsa S., Epis S., Genchi C., Bandi C., Otranto D., Urbanelli S. Effects of global changes on the climatic niche of the tick *Ixodes ricinus* inferred by species distribution modelling. *Parasites Vectors*. 2013; 6:271. DOI: 10.1186/1756-3305-6-271.

15. Balashov Yu.S. [Ixodidae Ticks – Parasites and Vectors of Infections]. St. Petersburg: “Nauka”; 1998. 287 p.

16. [Taiga Tick, *Ixodes persulcatus* Schulze (Acarina, Ixodidae): Morphology, Taxonomy, Ecology, Medical Significance]. Leningrad: “Nauka”; 1985. 410 p.

Authors:

Tronin A.A. St. Petersburg Research Center for Environmental Safety. 18, Korpusnaya St., Saint Petersburg, 197110, Russian Federation. E-mail: a.a.tronin@gmail.com.

Tokarevich N.K. St. Petersburg Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 14, Mira St., Saint Petersburg, 197101, Russian Federation. North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov; 41, Kirochnaya St., Saint Petersburg, 191015, Russian Federation.

Buzinov R.V. North-Western Scientific Center of Hygiene and Public Health; 4, Vtoraya Sovetskaya St., Saint Petersburg, 191036, Russian Federation. Northern State Medical University; 51, Troitsky Avenue, Arkhangelsk, 163069, Russian Federation.

Sokolova O.V. Northern State Medical University; 51, Troitsky Avenue, Arkhangelsk, 163069, Russian Federation. Rospotrebnadzor Administration in the Arkhangelsk Region; 24, Gaidara St., Arkhangelsk, 163069, Russian Federation.

Gnativ B.R. Rospotrebnadzor Administration in the Komi Republic. 71, Ordzhonikidze St., Syktyvkar, 167016, Russian Federation.

Bubnova L.A., Safonova O.S. Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Karelia. 12, Pirogova St., Petrozavodsk, 185002, Russian Federation.

Об авторах:

Тронин А.А. Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности. Российская Федерация, 197110, Санкт-Петербург, ул. Корпусная, 18. E-mail: a.a.tronin@gmail.com.

Токарев Н.К. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера; Российская Федерация, 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14. Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова; Российская Федерация, 191015, Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41.

Бузинов Р.В. Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья; Российская Федерация, 191036, Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 4. Северный государственный медицинский университет; Российская Федерация, 163069, Архангельск, пр. Троицкий, 51.

Соколова О.В. Северный государственный медицинский университет; Российская Федерация, 163069, Архангельск, пр. Троицкий, 51. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Архангельской области; Российская Федерация, 163069, Архангельск, ул. Гайдара, 24.

Гнатив Б.Р. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Коми. Российская Федерация, 167016, Сыктывкар, ул. Орджоникидзе, 71.

Бубнова Л.А., Сафонова О.С. Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Карелия. Российская Федерация, 185002, Петрозаводск, ул. Пирогова, 12.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-141-146

УДК 578.833:579.25

Н.Л. Тупота¹, В.А. Терновой¹, Е.П. Пономарева¹, Р.Б. Баяндин¹, А.Н. Швалов¹, Б.С. Малышев¹,
Т.В. Трегубчак¹, Т.В. Бауэр¹, Е.В. Протопопова¹, Н.К. Петрова², Е.В. Жебровская², Е.Г. Бурухина²,
Т.Ф. Хомичук², А.П. Агафонов¹, Р.А. Максюттов¹, В.Б. Локтев¹

Выявление генетического материала вирусов Tacheng uukuvirus и Sara tick phlebovirus в таежных клещах Свердловской, Томской областей и Приморского края России и их филогения

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Центр геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий, р.п. Кольцово, Российская Федерация; ²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае», Владивосток, Российская Федерация

Широкое распространение заболеваний, передающихся клещами, представляет значительную проблему для общественного здравоохранения и здоровья населения, проживающего в эндемичных районах. Цель работы – с использованием метода высокопроизводительного секвенирования провести поиск, анализ генетического материала и идентификацию новых вирусных агентов семейства *Phenuiviridae* в иксодовых клещах, собранных в различных регионах азиатской части России. **Материалы и методы.** В исследовании использованы 1460 таежных клещей, собранных в пригородных районах Томска, Екатеринбурга и в Приморском крае. Генетический материал, выделенный из клещей, анализировали методом высокопроизводительного секвенирования с использованием технологии Illumina с последующим филогенетическим анализом. **Результаты и обсуждение.** Анализ результатов секвенирования позволил обнаружить протяженные нуклеотидные последовательности L-гена, характерного для вирусов семейства *Phenuiviridae*. Удалось идентифицировать 20 нуклеотидных последовательностей длиной в среднем 250 п.н. в гомогенатах клещей *Ixodes persulcatus*. Восемнадцать изолятов идентифицированы как представители рода *Uukuvirus* и два изолята отнесены к роду *Phlebovirus* семейства *Phenuiviridae*. Филогенетический анализ показал, что все изоляты рода *Uukuvirus* кластеризуются с Tacheng tick virus 2, который относится к виду Tacheng uukuvirus. Они формируют отдельную филогенетическую группу этого вида вируса, близкую к двум румынским вариантам 2019 г. Генетический материал Tacheng tick virus 2 обнаружен во всех трех исследованных регионах азиатской части России. Два томских изолята флебовируса классифицированы как Sara tick phlebovirus. При этом они кластеризовались с двумя изолятами флебовирусов из Карелии. Таким образом, в клещах *I. persulcatus*, собранных в трех географически различных регионах азиатской части России, обнаружен генетический материал Tacheng tick virus 2 и Sara tick phlebovirus, относящийся к двум родам семейства *Phenuiviridae*.

Ключевые слова: клещевые инфекции, таежные клещи, *Ixodes persulcatus*, *Phenuiviridae*, Tacheng tick virus 2, Sara tick phlebovirus, Россия.

Корреспондирующий автор: Тупота Наталья Леонидовна, e-mail: tupota_nl@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Тупота Н.Л., Терновой В.А., Пономарева Е.П., Баяндин Р.Б., Швалов А.Н., Малышев Б.С., Трегубчак Т.В., Бауэр Т.В., Протопопова Е.В., Петрова Н.К., Жебровская Е.В., Бурухина Е.Г., Хомичук Т.Ф., Агафонов А.П., Максюттов Р.А., Локтев В.Б. Выявление генетического материала вирусов Tacheng uukuvirus и Sara tick phlebovirus в таежных клещах Свердловской, Томской областей и Приморского края России и их филогения. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:141–146. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-141-146

Поступила 07.12.2022. Отправлена на доработку 30.01.2023. Принята к публ. 10.05.2023.

N.L. Tupota¹, V.A. Ternovoi¹, E.P. Ponomareva¹, R.B. Bayandin¹, A.N. Shvalov¹, B.S. Malyshev¹,
T.V. Tregubchak¹, T.V. Bauer¹, E.V. Protopopova¹, N.K. Petrova², E.V. Zhebrovskaya²,
E.G. Burukhina², T.F. Khomichuk², A.P. Agafonov¹, R.A. Maksyutov¹, V.B. Loktev¹

Detection of the Genetic Material of the Viruses Tacheng uukuvirus and Sara tick phlebovirus in Taiga Ticks Collected in the Sverdlovsk, Tomsk Regions and Primorsky Territory of Russia and Their Phylogeny

¹State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector”, World Genomic Research Center for Provision of Biological Safety and Technological Independence within the Frames of Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies, Kol'tsovo, Russian Federation;

²Center of Hygiene and Epidemiology in the Primorsky Territory, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. Extensive spread of tick-borne diseases poses a significant problem for public health and the health of the population living in endemic areas. The aim of the study was to search, analyze genetic material and identify new viral agents of the *Phenuiviridae* family in taiga ticks collected in Asian regions of Russia using the method of high throughput sequencing. **Materials and methods.** The study involved 1460 taiga ticks collected in suburban areas of the Tomsk, Yekaterinburg and Primorsky Territory. The genetic material isolated from ticks was sequenced using Illumina technology followed by phylogenetic analysis. **Results and discussion.** Analysis of the sequencing results made it possible to detect extended nucleotide sequences of the L-gene fragment characteristic of the *Phenuiviridae* family viruses. We were able to identify 20 nucleotide sequences the length of 250 bp on average in homogenates of *Ixodes persulcatus* ticks. Eighteen isolates have been identified as members of the genus *Uukuvirus* and two isolates have been assigned to the genus *Phlebovirus*, *Phenuiviridae* family. Phylogenetic analysis has shown that all isolates of the genus *Uukuvirus* fall under the cluster of Tacheng tick virus 2 belonging to the species Tacheng uukuvirus. They form a separate phylogenetic

group which is closely related to two Romanian variants of 2019. Tacheng tick virus 2 was detected in all three surveyed regions of the Asian part of Russia. Two Tomsk isolates of phlebovirus were classified as Sara tick phlebovirus and they clustered with two isolates of phleboviruses from Karelia. Thus, the genetic material of Tacheng tick virus 2 and Sara tick phlebovirus belonging to two genera of the family *Phenuiviridae* was found in *I. persulcatus* ticks collected in three geographically different regions of the Asian part of Russia.

Key words: tick-borne infections, taiga tick, *Ixodes persulcatus*, *Phenuiviridae*, Tacheng tick virus 2, Sara tick phlebovirus, Russia.

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

Funding: The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Contract No 075-15-2019-1665) and the State Assignment SA-9/21.

Acknowledgements: The authors express their deep gratitude to N.S. Moskvitina, Doctor of Biological Sciences, Professor (Tomsk State University, Tomsk) and the clinical diagnostic laboratory "Citylab" (Yekaterinburg) for collecting and providing taiga ticks for this study.

Corresponding author: Natalia L. Tupota, e-mail: tupota_nl@vector.nsc.ru.

Citation: Tupota N.L., Ternovoi V.A., Ponomareva E.P., Bayandin R.B., Shvalov A.N., Malyshev B.S., Tregubchak T.V., Bauer T.V., Protopopova E.V., Petrova N.K., Zhebrovskaya E.V., Burukhina E.G., Khomichuk T.F., Agafonov A.P., Maksyutov R.A., Loktev V.B. Detection of the Genetic Material of the Viruses Tacheng uukuvirus and Sara tick phlebovirus in Taiga Ticks Collected in the Sverdlovsk, Tomsk Regions and Primorsky Territory of Russia and Their Phylogeny. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:141–146. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-141-146

Received 07.12.2022. Revised 30.01.2023. Accepted 10.05.2023.

Tupota N.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6150-370X>
Ternovoi V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1275-171X>
Ponomareva E.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8237-457X>
Bayandin R.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6460-0828>
Shvalov A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6890-1575>

Malyshev B.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3004-3020>
Tregubchak T.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9608-2044>
Agafonov A.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2577-0434>
Maksyutov R.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1314-281X>
Loktev V.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0229-321X>

Иксодовые клещи являются важными переносчиками различных возбудителей болезней человека и животных [1, 2]. Вирусы семейства *Phenuiviridae* известны как одна из самых разнообразных групп клещевых РНК-содержащих вирусов с сегментированным геномом [3, 4]. Большинство вирусов из семейства *Phenuiviridae* в настоящее время относятся к родам *Uukuvirus* и *Phlebovirus*. Многие представители *Phenuiviridae* не обладают М-сегментом, и они были обнаружены у клещей *Haemaphysalis* spp. и *Ixodes* spp. в разных регионах мира [5].

Ранее в иксодовых клещах были найдены различные представители семейства *Phenuiviridae*. Это вирусы Bhanja, Uukuniemi, Kaisodi, Pacific Coast tick phlebovirus, Tick phlebovirus [5–8]. Уукувирусы Dabieshan tick virus и Lihan tick virus, а также бандавирус, способный вызвать лихорадку с синдромом тромбоцитопении, были обнаружены в клещах в Китайской провинции Хубей [9]. Всего обнаружено 12 РНК-содержащих вирусов, относящихся к семействам *Flaviviridae*, *Matonaviridae*, *Peribunyaviridae*, *Nairoviridae*, *Phenuiviridae* и *Rhabdoviridae* в клещах *Haemaphysalis longicornis* и *Rhipicephalus microplus*. Известно, что некоторые уукувирусы способны вызывать у человека заболевания, приводящие к поражению периферических нервов [10, 11].

Переносимые членистоногими флебовирусы подразделяют на группу вирусов, распространяемых комарами родов *Phlebotomus* и *Lutzomyia*, и группу вирусов *Uukuniemi*, переносчиками которых являются клещи. В циркуляции этих вирусов могут играть важную роль такие домашние животные, как кошки и собаки [8]. Это – хорошо известные вирусы лихорадки долины Рифт, Тоскана, сицилийской и неаполитанской москитных лихорадок. В 2009 г. в Китае у людей были зарегистрированы первые случаи тя-

желой лихорадки с синдромом тромбоцитопении, связанные с новым флебовирусом Даби [12]. В США из крови пациентов с аналогичной клинической картиной был выделен флебовирус Heartland, имеющий высокий уровень гомологии с вирусом Даби [13].

Ранее, в 2005–2018 гг., в иксодовых клещах, собранных в европейской части России, был обнаружен генетический материал представителей семейства *Phenuiviridae*, включая флебовирусы [3]. Эти результаты позволяли сделать предположение о том, что вирусы семейства *Phenuiviridae* распространены существенно шире и их ареал может захватывать азиатскую часть России.

Целью данной работы являлось обнаружение генетического материала представителей семейства *Phenuiviridae* в таежных клещах, собранных в различных регионах азиатской части России, определение фрагментов геномных последовательностей методами высокопроизводительного секвенирования и проведение филогенетического анализа.

Материалы и методы

Для проведения исследований взяты 1460 имаго клещей *Ixodes persulcatus*, собранных в Екатеринбурге (Свердловская область) в 2014 г., в пригороде Томска в 2018 и 2021 гг. и в пограничном с Китаем районе Приморского края в 2021 г. Клещи в пригородах Томска предоставлены проф. Н.С. Москвитиной (ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»), а клещи из Екатеринбурга собраны и переданы для проведения исследований клинко-диагностической лабораторией «Ситилаб» (г. Екатеринбург). Видовая принадлежность клещей была определена по их морфологическим признакам и секвенированием нуклеотидной

последовательности фрагмента (660 п.н.) гена, кодирующего субъединицу I цитохромоксидазы в митохондриальном геноме клеща [14]. По 5 особей одного пола объединяли в пул. Если количество клещей не было кратно 5, пулы формировали по остаточному принципу. Перед гомогенизацией всех клещей промывали (один раз) в 70 % этаноле, а затем (дважды) – стерильной водой. Клещей гомогенизировали с использованием прибора TissueLyser LT (QIAGEN, Германия) с добавлением 300 мкл стерильного физраствора. Гомогенаты центрифугировали при 8000 g (12000 об/мин) в течение 5 мин при температуре 4 °C и супернатант отбирали для анализа. Тотальную РНК экстрагировали с помощью «Reagent Extract RNA» («Евроген», Россия) согласно протоколу производителя. Водную фазу, полученную после добавления хлороформа и последующего центрифугирования, собирали и разбавляли в пропорции 1:1 свежеприготовленным 70 % этанолом, и очищали на спин-колонках Cleanup Mini («Евроген», Россия). Синтез первой цепи кДНК проводили с использованием модуля NEBNext® Ultra Directional. Синтез второй цепи ДНК проводили с использованием UMI Second Strand Synthesis Module for QuantSeq FWD Lexogen (Illumina, США). Полученную для NGS библиотеку РНК дополнительно обогащали в ПЦР с праймерами на L-ген: ATGCCAGATGAGGGCGAGGTGA (2062F) и TGGGTCAGGTGAAGGAAGGGAGGC (2735R) с использованием ПЦР-смеси «БиоМастер HS-Taq» («Биолабмикс», Россия).

Подготовленные библиотеки анализировали методом высокопроизводительного секвенирования на секвенаторе MiSeq по технологии Illumina. Алгоритмы Cutadapt (версия 1.18) [15] и SAMtools (версия 0.1.18) [16] применяли для удаления адаптеров Illumina и повторного чтения. Контиги были собраны *de novo* с использованием ассемблера MIRA (версия 4.9.6). Филогенетический анализ выполняли с фрагментами последовательности РНК-зависимой РНК-полимеразы и фрагментами генов, представленных в базе данных GenBank с аминокислотной идентичностью >20 %. Выравнивание последовательностей и построение филогенетических деревьев проводили в MEGA 7 (PSU, США) итеративным методом выравнивания Muscle. Анализ полученных данных осуществляли с помощью программ Unipro UGENE v. 1.30 [17] и MEGA 7 [18]. Филогенетические деревья рассчитаны по методу максимального правдоподобия с учетом 1000 реплик бутстрапов.

Результаты и обсуждение

В таежных клещах, собранных на территории Томска, Екатеринбурга и в их пригородах, а также в Приморском крае, были обнаружены нуклеотидные последовательности L-гена вирусов, предположительно относящихся к семейству *Phenuiviridae*. Они депонированы в GenBank под номерами доступа:

OP256042 – OP256046, OP204858 – OP204866.

Филогенетический анализ фрагментов L-сегмента генома Tacheng tick virus 2 представлен на рис. 1. Все обнаруженные изоляты формировали отдельную филогенетическую кладу и отличались от изолятов Tacheng tick virus 2 из Турции (2015 г.) и Китая (2019 г.), объединенных в кладу 2. Новая филогенетическая кладу Tacheng tick virus 2 (клада 1) представлена изолятами из всех трех исследованных географических районов азиатской части России с доминированием изолятов вируса от таежных клещей, собранных на Урале. Новая кладу Tacheng tick virus 2 может быть условно разделена на две субклады. Причем кладу 1а объединяет ряд новых изолятов с ранее описанными изолятами Tacheng tick virus 2 (MW561154, MW561159), полученными в 2019 г. от клещей *Dermacentor reticulatus* на территории Румынии, на границе с Молдавией [19]. Данные результаты позволяют говорить о том, что Tacheng tick virus 2 достаточно широко распространен в Северной Евразии и ассоциирован с клещами *I. persulcatus* и *D. reticulatus*, которые активно атакуют человека в этом регионе и являются принципиальными переносчиками многих клещевых инфекций вирусной, бактериальной и паразитарной природы.

Важно отметить, что китайские изоляты Tacheng tick virus 2, относящиеся к кладу 2 (MN567189 и MK801756), были получены из крови человека в 2019 г. Изолят из Турции MG764520 был выделен в 2015 г. из клещей *Rhipicephalus* spp. Таким образом, формирование двух отдельных клад может свидетельствовать о генетических различиях изолятов Tacheng tick virus 2. Вирус был обнаружен в нескольких видах клещей, в частности *D. marginatus*, *H. marginatum*, *D. nuttalli*, *D. silvarum*, *H. asiaticum*, способен инфицировать и вызывать заболевание человека, а также, по всей вероятности, широко распространен в Евразии [20]. Последовательности Tacheng tick virus 1 из Китая, полученные из клещей *D. marginatus* (NC031284) и мелких млекопитающих (MZ447773), образовали отдельную филогенетическую кладу.

На территории Томска нами обнаружен генетический материал двух флебовирусов. Филогенетический анализ показал, что эти изоляты кластеризуются в две различные генетические группы флебовирусов (рис. 2). Изолят OP256046 образовал кладу с Sara tick phlebovirus, изолированным из клещей *I. persulcatus* в Карелии в районе села Гакугса в 2018 г. Уровень гомологии этих двух флебовирусов составил 99 %, что позволяет говорить о практически полной идентичности этих вирусов. Вторая последовательность (OP204863) образовала отдельную ветвь с Kizhi virus (MT380761) и Beiji phlebovirus (MG880116). Kizhi virus был ранее выделен из таежных клещей, собранных в Карелии в 2012 г. [3]. Фрагмент томского изолята был фактически идентичен Kizhi virus, что позволяет говорить об их генетической схожести. Также Beiji phlebovirus был

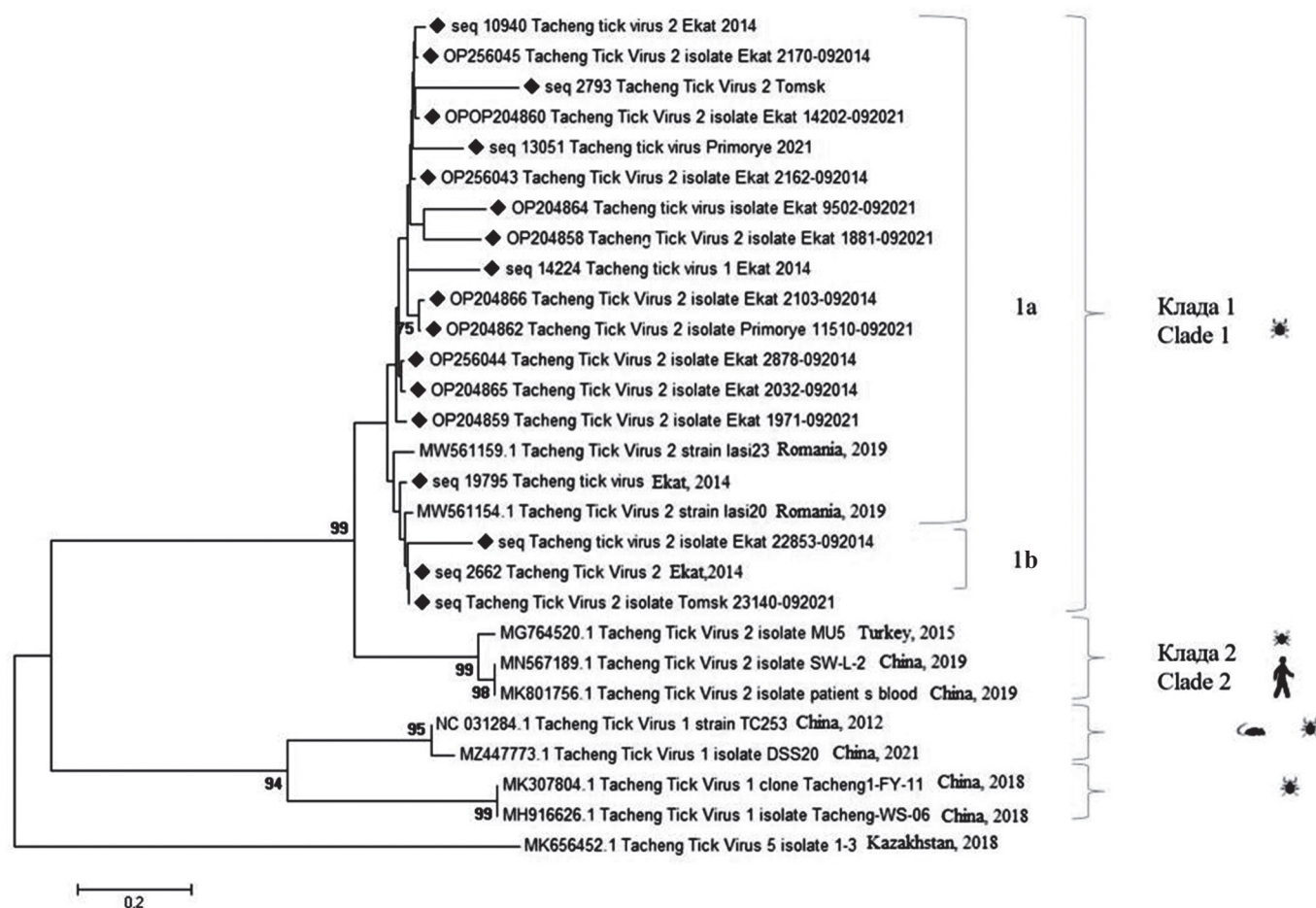


Рис. 1. Филогендрогамма, отображающая анализ максимального правдоподобия фрагментов L-гена (251 нуклеотид) Tacheng tick virus 2. Последовательности, охарактеризованные в этом исследовании, выделены символом (◆)

Fig. 1. Philodendrogram showing maximum likelihood analysis of L-gene fragments (251 nucleotides) of Tacheng tick virus 2. The sequences characterized in this study are marked with the symbol (◆)

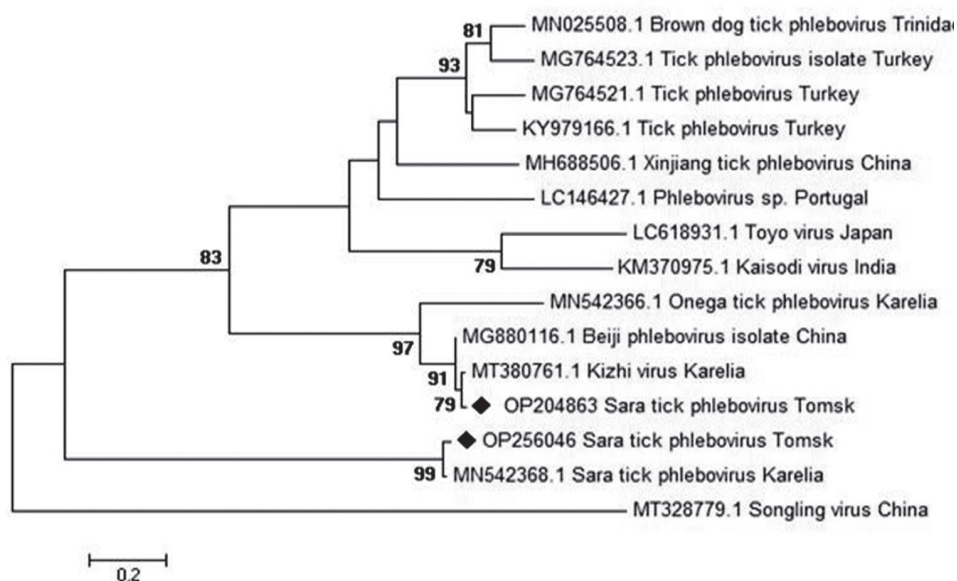


Рис. 2. Филогендрогамма, отображающая анализ максимального правдоподобия фрагмента L-сегмента (251 нуклеотид) флебовирусов семейства Phenuiviridae. Последовательности, охарактеризованные в этом исследовании, выделены символом (◆)

Fig. 2. Philodendrogram showing the maximum likelihood analysis of the L-segment fragment (251 nucleotides) of Sara tick phlebovirus of the Phenuiviridae family. The sequences characterized in this study are marked with the symbol (◆)

обнаружен в Китае в 2015 г. в клещах *I. persulcatus* и существенно не отличался от Kizhi virus на основании анализа частичной последовательности гена полимеразы с использованием пакета программ MEGA. Филогенез этих клещевых флебовирусов показывает генетическую гетерогенность данной группы неклассифицированных флебовирусов и их широкое географическое распространение в континентальной Евразии, включая Японские острова и даже острова Карибского моря.

К сожалению, попытки выделить эти вирусы на культурах клеток Vero, HEK293 и C6/36 успеха не принесли.

Таким образом, в таежных клещах, собранных в Свердловской и Томской областях, а также в Приморском крае, обнаружен генетический материал представителей родов *Phlebovirus* и *Uukuvirus* семейства *Phenuiviridae*. Нам удалось идентифицировать 18 изолятов Tacheng tick virus 2 в клещах *I. persulcatus*, собранных в трех регионах азиатской части России. Генетический материал Sara tick phlebovirus был обнаружен в Томской области. Это, без сомнения, расширяет наши представления о новых вирусах семейства *Phenuiviridae*, циркулирующих в азиатской части России. При этом существование природных очагов этих вирусов, возможный диапазон хозяев, потенциал заражения людей и культуральные особенности флебовирусов требуют дальнейшего изучения.

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

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2019-1665) и ГЗ-9/21.

Авторы выражают глубокую благодарность д-ру биол. наук, проф. Н.С. Москвитиной (ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет», г. Томск) и клинико-диагностической лаборатории «Ситилаб» (г. Екатеринбург) за сбор и предоставление таежных клещей для настоящего исследования.

Список литературы

- Ni X.B., Cui X.M., Liu J.Y., Ye R.Z., Wu Y.Q., Jiang J.F., Sun Y., Wang Q., Shum M.H., Chang Q.C., Zhao L., Han X.H., Ma K., Shen S.J., Zhang M.Z., Guo W.B., Zhu J.G., Zhan L., Li L.J., Ding S.J., Zhu D.Y., Zhang J., Xia L.Y., Oong X.Y., Ruan X.D., Shao H.Z., Que T.C., Liu G.Y., Du C.H., Huang E.J., Wang X., Du L.F., Wang C.C., Shi W.Q., Pan Y.S., Zhou Y.H., Qu J.L., Ma J., Gong C.W., Chen Q.Q., Qin Q.; Tick Genome and Microbiome Consortium (TIGMIC); Lam T.T., Jia N., Cao W.C. Metavirome of 31 tick species provides a compendium of 1,801 RNA virus genomes. *Nat. Microbiol.* 2023; 8(1):162–73. DOI: 10.1038/s41564-022-01275-w.
- Wang S.S., Liu J.Y., Wang B.Y., Wang W.J., Cui X.M., Jiang J.F., Sun Y., Guo W.B., Pan Y.S., Zhou Y.H., Lin Z.T., Jiang B.G., Zhao L., Cao W.C. Geographical distribution of *Ixodes persulcatus* and associated pathogens: Analysis of integrated data from a China field survey and global published data. *One Health.* 2023; 16:100508. DOI: 10.1016/j.onehlt.2023.100508.
- Klimentov A.S., Belova O.A., Kholodilov I.S., Butenko A.M., Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V., Chernetsov N., Ivannikova A.Y., Kovalchuk I.V., Nafeev A.A., Oorzhak N.D., Pilikova O.M., Polienko A.E., Purmak K.A., Romanenko E.N., Romanova L.I.,

Saryglar A.A., Solomashchenko N.I., Shamsutdinov A.F., Vakalova E.V., Lukashev A.N., Karganova G.G., Gmyl A.P. Phlebovirus sequences detected in ticks collected in Russia: Novel phleboviruses, distinguishing criteria and high tick specificity. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 85:104524. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104524.

4. Slonchak A., Parry R., Pullinger B., Sng J.D.J., Wang X., Buck T.F., Torres F.J., Harrison J.J., Colmant A.M.G., Hobson-Peters J., Hall R.A., Tuplin A., Khromykh A.A. Structural analysis of 3'UTRs in insect flaviviruses reveals novel determinants of sfRNA biogenesis and provides new insights into flavivirus evolution. *Nat. Commun.* 2022; 13(1):1279. DOI: 10.1038/s41467-022-28977-3.

5. Kobayashi D., Murota K., Itokawa K., Ejiri H., Amoa-Bosompem M., Faizah A.N., Watanabe M., Maekawa Y., Hayashi T., Noda S., Yamauchi T., Komagata O., Sawabe K., Isawa H. RNA virome analysis of questing ticks from Hokuriku District, Japan, and the evolutionary dynamics of tick-borne phleboviruses. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(2):101364. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2019.101364.

6. Ballinger M.J., Bruenn J.A., Kotov A.A., Taylor D.J. Selectively maintained paleoviruses in Holarctic water fleas reveal an ancient origin for phleboviruses. *Virology.* 2013; 446(1-2):276–82. DOI: 10.1016/j.virol.2013.07.032.

7. Harvey E., Rose K., Edena J.-S., Lo N., Abeyasuriya T., Shi M., Doggett S.L., Holmes E.S. Extensive diversity of RNA viruses in Australian ticks. *J. Virol.* 2019; 93(3):e01358-18. DOI: 10.1128/JVI.01358-18.

8. Zhao T., Gong H., Shen X., Zhang W., Shan T., Yu X., Wang S.J., Cui L. Comparison of viromes in ticks from different domestic animals in China. *Virol. Sin.* 2020; 35(4):398–406. DOI: 10.1007/s12250-020-00197-3.

9. Xu L., Guo M., Hu B., Zhou H., Yang W., Hui L., Huang R., Zhan J., Shi W., Wu Y. Tick virome diversity in Hubei Province, China, and the influence of host ecology. *Virus Evol.* 2021; 7(2):veab089. DOI: 10.1093/ve/veab089.

10. Málková D., Holubová J., Kolman J.M., Marhoul Z., Hanzal F., Kulková H., Markvart K., Šimková L. Antibodies against some arboviruses in persons with various neuropathies. *Acta Virol.* 1980; 24(4):298.

11. Mazelier M., Rouxel R.N., Zumstein M., Mancini R., Bell-Sakyi L., Lozach P.-Y. Uukuniemi virus as a tick-borne virus model. *J. Virol.* 2016; 90(15):6784–98. DOI: 10.1128/JVI.00095-16.

12. Li C.X., Shi M., Tian J.H., Lin X.D., Kang Y.J., Chen L.J., Qin X.C., Xu J., Holmes E.C., Zhang Y.Z. Unprecedented genomic diversity of RNA viruses in arthropods reveals the ancestry of negative-sense RNA viruses. *eLife.* 2015; 4:e05378. DOI: 10.7554/eLife.05378.

13. Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Молекулярная эволюция вируса Даби (*Phenuiviridae: Bandavirus: Dabie bandavirus*) – возбудителя острой лихорадки с тромбоцитопеническим синдромом. *Вопросы вирусологии.* 2021; 66(6):409–16. DOI: 10.36233/0507-4088-68.

14. Карташов М.Ю., Микрюкова Т.П., Кривошеина Е.И., Кузнецов А.И., Глушкова Л.И., Корабельников И.В., Егорова Ю.И., Терновой В.А., Локтев В.Б. Генотипирование возбудителей клещевого энцефалита и лихорадки Кемерово в таежных клещах, собранных в Республике Коми. *Инфекция и иммунитет.* 2020; 10(1):159–66. DOI: 10.15789/2220-7619-GOT-1147.

15. Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet journal.* 2011; 17(1):10–12. DOI: 10.14806/ej.17.1.200.

16. Li H., Handsaker B., Wysoker A., Fennell T., Ruan J., Homer N., Marth G., Abecasis G., Durbin R. 1000 genome project data processing subgroup. The sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. *Bioinformatics.* 2009; 25(16):2078–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp352.

17. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012; 28(8):1166–67. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091.

18. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7):1870–4. DOI: 10.1093/molbev/msw054.

19. Bratuleanu B.E., Temmam S., Chrétien D., Regnault B., Pérot P., Bouchier C., Bigot T., Savuța G., Eloit M. The virome of *Rhipicephalus*, *Dermacentor* and *Haemaphysalis* ticks from Eastern Romania includes novel viruses with potential relevance for public health. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69(3):1387–403. DOI: 10.1111/tbed.14105.

20. Dong Z., Yang M., Wang Z., Zhao S., Xie S., Yang Y., Liu G., Zhao S., Xie J., Liu Q., Wang Y. Human Tacheng tick virus 2 infection, China, 2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(2):594–8. DOI: 10.3201/eid3201/191486.

References

- Ni X.B., Cui X.M., Liu J.Y., Ye R.Z., Wu Y.Q., Jiang J.F., Sun Y., Wang Q., Shum M.H., Chang Q.C., Zhao L., Han X.H., Ma K., Shen S.J., Zhang M.Z., Guo W.B., Zhu J.G., Zhan L., Li L.J., Ding S.J., Zhu D.Y., Zhang J., Xia L.Y., Oong X.Y., Ruan X.D.,

- Shao H.Z., Que T.C., Liu G.Y., Du C.H., Huang E.J., Wang X., Du L.F., Wang C.C., Shi W.Q., Pan Y.S., Zhou Y.H., Qu J.L., Ma J., Gong C.W., Chen Q.Q., Qin Q.; Tick Genome and Microbiome Consortium (TIGMIC); Lam T.T., Jia N., Cao W.C. Metavirome of 31 tick species provides a compendium of 1,801 RNA virus genomes. *Nat. Microbiol.* 2023; 8(1):162–73. DOI: 10.1038/s41564-022-01275-w.
2. Wang S.S., Liu J.Y., Wang B.Y., Wang W.J., Cui X.M., Jiang J.F., Sun Y., Guo W.B., Pan Y.S., Zhou Y.H., Lin Z.T., Jiang B.G., Zhao L., Cao W.C. Geographical distribution of *Ixodes persulcatus* and associated pathogens: Analysis of integrated data from a China field survey and global published data. *One Health.* 2023; 16:100508. DOI: 10.1016/j.onehlt.2023.100508.
3. Klimentov A.S., Belova O.A., Kholodilov I.S., Butenko A.M., Bespyatova L.A., Bugmyrin S.V., Chernetsov N., Ivannikova A.Y., Kovalchuk I.V., Nafeev A.A., Oorzhak N.D., Pilikova O.M., Polienko A.E., Purnak K.A., Romanenko E.N., Romanova L.I., Saryglar A.A., Solomashchenko N.I., Shamsutdinov A.F., Vakalova E.V., Lukashov A.N., Karganova G.G., Gmyl A.P. Phlebovirus sequences detected in ticks collected in Russia: Novel phleboviruses, distinguishing criteria and high tick specificity. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 85:104524. DOI: 10.1016/j.meegid.2020.104524.
4. Slonchak A., Parry R., Pullinger B., Sng J.D.J., Wang X., Buck T.F., Torres F.J., Harrison J.J., Colmant A.M.G., Hobson-Peters J., Hall R.A., Tuplin A., Khromykh A.A. Structural analysis of 3'UTRs in insect flaviviruses reveals novel determinants of sRNA biogenesis and provides new insights into flavivirus evolution. *Nat. Commun.* 2022; 13(1):1279. DOI: 10.1038/s41467-022-28977-3.
5. Kobayashi D., Murota K., Itokawa K., Ejiri H., Amoa-Bosompem M., Faizah A.N., Watanabe M., Maekawa Y., Hayashi T., Noda S., Yamauchi T., Komagata O., Sawabe K., Isawa H. RNA virome analysis of questing ticks from Hokuriku District, Japan, and the evolutionary dynamics of tick-borne phleboviruses. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(2):101364. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2019.101364.
6. Ballinger M.J., Bruenn J.A., Kotov A.A., Taylor D.J. Selectively maintained paleoviruses in Holarctic water fleas reveal an ancient origin for phleboviruses. *Virology.* 2013; 446(1-2):276–82. DOI: 10.1016/j.virol.2013.07.032.
7. Harvey E., Rose K., Edena J.-S., Lo N., Abeyasuriya T., Shi M., Doggett S.L., Holmes E.S. Extensive diversity of RNA viruses in Australian ticks. *J. Virol.* 2019; 93(3):e01358–18. DOI: 10.1128/JVI.01358-18.
8. Zhao T., Gong H., Shen X., Zhang W., Shan T., Yu X., Wang S.J., Cui L. Comparison of viromes in ticks from different domestic animals in China. *Virol. Sin.* 2020; 35(4):398–406. DOI: 10.1007/s12250-020-00197-3.
9. Xu L., Guo M., Hu B., Zhou H., Yang W., Hui L., Huang R., Zhan J., Shi W., Wu Y. Tick virome diversity in Hubei Province, China, and the influence of host ecology. *Virus Evol.* 2021; 7(2):veab089. DOI: 10.1093/ve/veab089.
10. Málková D., Holubová J., Kolman J.M., Marhoul Z., Hanzal F., Kulková H., Markvart K., Simková L. Antibodies against some arboviruses in persons with various neuropathies. *Acta Virol.* 1980; 24(4):298.
11. Mazelier M., Rouxel R.N., Zumstein M., Mancini R., Bell-Sakyi L., Lozach P.-Y. Uukuniemi virus as a tick-borne virus model. *J. Virol.* 2016; 90(15):6784–98. DOI: 10.1128/JVI.00095-16.
12. Li C.X., Shi M., Tian J.H., Lin X.D., Kang Y.J., Chen L.J., Qin X.C., Xu J., Holmes E.C., Zhang Y.Z. Unprecedented genomic diversity of RNA viruses in arthropods reveals the ancestry of negative-sense RNA viruses. *eLife.* 2015; 4:e05378. DOI: 10.7554/eLife.05378.
13. Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V. [The molecular evolution of Dabie bandavirus (*Phenuiviridae: Bandavirus: Dabie bandavirus*), the agent of severe fever with thrombocytopenia syndrome]. *Voprosy Virusologii [Problems of Virology]*. 2022; 66(6):409–16. DOI: 10.36233/0507-4088-68.
14. Kartashov M.Y., Mikryukova T.P., Krivosheina E.I., Kuznetsov A.I., Glushkova L.I., Korabel'nikov I.V., Egorova Yu.I., Ternovoy V.A., Loktev V.B. [Genotyping of tick-borne encephalitis and Kemerovo viruses in taiga ticks collected in the Komi Republic]. *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection and Immunity]*. 2020; 10(1):159–66. DOI: 10.15789/2220-7619-GOT-1147.
15. Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet journal.* 2011; 17(1):10–12. DOI: 10.14806/ej.17.1.200.
16. Li H., Handsaker B., Wysoker A., Fennell T., Ruan J., Homer N., Marth G., Abecasis G., Durbin R. 1000 genome project data processing subgroup. The sequence alignment/map (SAM) format and SAMtools. *Bioinformatics.* 2009; 25(16):2078–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp352.
17. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012; 28(8):1166–67. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091.
18. Kumar S., Stecher G., Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 2016; 33(7):1870–4. DOI: 10.1093/molbev/msw054.
19. Bratuleanu B.E., Temmam S., Chrétien D., Regnault B., Pérot P., Bouchier C., Bigot T., Savuța G., Eloit M. The virome of *Rhipicephalus*, *Dermacentor* and *Haemaphysalis* ticks from Eastern Romania includes novel viruses with potential relevance for public health. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69(3):1387–403. DOI: 10.1111/tbed.14105.
20. Dong Z., Yang M., Wang Z., Zhao S., Xie S., Yang Y., Liu G., Zhao S., Xie J., Liu Q., Wang Y. Human Tacheng tick virus 2 infection, China, 2019. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(2):594–8. DOI: 10.3201/eid3201/191486.

Authors:

Tupota N.L., Ternovoi V.A., Ponomareva E.P., Bayandin R.B., Shvalov A.N., Malyshev B.S., Tregubchak T.V., Bauer T.V., Protopopova E.V., Agafonov A.P., Maksyutov R.A., Loktev V.B. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Petrova N.K., Zhebrovskaya E.V., Burukhina E.G., Khomichuk T.F. Center of Hygiene and Epidemiology in the Primorsky Territory. 36 Utkinskaya St., Vladivostok, Primorsky Territory, 690091, Russian Federation. E-mail: fguz@pkrpn.ru.

Об авторах:

Тупота Н.Л., Терновой В.А., Пономарева Е.П., Байядин Р.Б., Швалов А.Н., Малышев Б.С., Трезубчак Т.В., Бауэр Т.В., Протопопова Е.В., Агафонов А.П., Максютков Р.А., Локтев В.Б. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Колыцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Петрова Н.К., Жебровская Е.В., Бурухина Е.Г., Хомичук Т.Ф. Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае. Российская Федерация, 690091, Приморский край, Владивосток, ул. Уткинская, 36. E-mail: fguz@pkrpn.ru

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-147-155

УДК 616.98:579.852.11

Д.В. Ульшина, Д.А. Ковалев, Е.И. Еременко, О.В. Семенова, А.Г. Рязанова, О.В. Бобрышева,
А.М. Жиров, А.Н. Куличенко

Оценка аналитических возможностей MALDI-TOF масс-спектрометрии при молекулярном типировании *Bacillus anthracis*

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

Цель исследования – сравнить дискриминирующую способность методов canSNP13-генотипирования и MALDI-TOF масс-спектрометрии на основании результатов исследования штаммов возбудителя сибирской язвы, принадлежащих к двум основным генетическим линиям А и В. **Материалы и методы.** Исследовано 73 штамма *Bacillus anthracis* из коллекции микроорганизмов ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора. Белковое профилирование проводили на масс-спектрометре Microflex, анализ данных – в среде языка статистического программирования R. **Результаты и обсуждение.** Экспериментально подтверждено, что предлагаемый подход для дифференциации протеотипов штаммов *B. anthracis* с индексом дискриминации 0,952 превышает таковой для метода canSNP-типирования и сопоставим с индексом дискриминации для метода MLVA31. Корреляция результатов кластеризации штаммов при типировании методами MALDI-TOF масс-спектрометрии и canSNP-генотипирования достигает 95 % в отношении разделения на главные генетические линии А и В. Изученные штаммы сибирезавяющего микроба, относящиеся в большинстве случаев к филогенетическим группам линии А, представляют собой более десятка белковых профилей, что может быть связано с различиями в уровне экспрессии белков у штаммов каждого canSNP-генотипа. MALDI-TOF масс-спектрометрия позволяет получить сопоставимые с генетическими тестами результаты, имеет лучшую дискриминирующую способность по сравнению с canSNP-типированием, более проста в выполнении.

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, MALDI-TOF MS, белковое профилирование.

Корреспондирующий автор: Ульшина Диана Васильевна, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Для цитирования: Ульшина Д.В., Ковалев Д.А., Еременко Е.И., Семенова О.В., Рязанова А.Г., Бобрышева О.В., Жиров А.М., Куличенко А.Н. Оценка аналитических возможностей MALDI-TOF масс-спектрометрии при молекулярном типировании *Bacillus anthracis*. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:147–155. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-147-155

Поступила 07.12.2022. Отправлена на доработку 10.02.2023. Принята к публ. 14.03.2023.

D.V. Ul'shina, D.A. Kovalev, E.I. Eremenko, O.V. Semenova, A.G. Ryazanova, O.V. Bobrysheva,
A.M. Zhiron, A.N. Kulichenko

Evaluation of the Analytical Capabilities of MALDI-TOF Mass Spectrometry in the Molecular Typing of *Bacillus anthracis*

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to compare the discriminating capacity of the canSNP13 genotyping and MALDI-TOF mass spectrometry methods based on the results of the study of anthrax pathogen strains belonging to the two main genetic lines A and B. **Materials and methods.** 73 *Bacillus anthracis* strains from the collection of microorganisms of the Stavropol Research Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor were investigated. Protein profiling was carried out using a Microflex mass spectrometer, data processing – in the environment of the statistical programming language “R”. **Results and discussion.** It has been experimentally confirmed that the proposed approach for differentiating proteotypes of *B. anthracis* strains with a discrimination index of 0.952 exceeds the one for the canSNP typing method and is comparable to the discrimination index for the MLVA31 method. The correlation of the results of strain clustering during typing by MALDI-TOF mass spectrometry and canSNP genotyping reaches 95 % as regards the division into the main genetic lines A and B. The studied strains of anthrax microbe, which mostly fall under phylogenetic groups of lineage A, represent more than a dozen protein profiles, which may be due to differences in the level of protein expression in strains of each canSNP genotype. MALDI-TOF mass spectrometry makes it possible to obtain the results comparable with genetic tests, has a better discriminating capacity compared to canSNP typing, and is easier to perform.

Key words: *Bacillus anthracis*, MALDI-TOF MS, protein profiling.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Diana V. Ul'shina, e-mail: stavnipchi@mail.ru.

Citation: Ul'shina D.V., Kovalev D.A., Eremenko E.I., Semenova O.V., Ryazanova A.G., Bobrysheva O.V., Zhiron A.M., Kulichenko A.N. Evaluation of the Analytical Capabilities of MALDI-TOF Mass Spectrometry in the Molecular Typing of *Bacillus anthracis*. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:147–155. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-147-155

Received 07.12.2022. Revised 10.02.2023. Accepted 14.03.2023.

Ul'shina D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7754-2201>
Kovalev D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>
Eremenko E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1117-1185>
Semenova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0274-898X>

Ryazanova A.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5196-784X>
Bobrysheva O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6338-4476>
Zhiron A.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7698-7361>
Kulichenko A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Сибирская язва – особо опасная инфекционная болезнь многих видов животных и человека, вызываемая бактериями *Bacillus anthracis*, регистрируется с разной степенью интенсивности по всему миру [1]. Наиболее крупная вспышка сибирской язвы за минувшее десятилетие в России, зарегистрированная на территории Ямало-Ненецкого автономного округа (ЯНАО) в 2016 г., привела к заболеванию 36 человек (один летальный исход) и 2650 северных оленей [2].

Внутривидовое типирование *B. anthracis* используется при анализе вспышек сибирской язвы, в частности когда нужно провести сравнение генетических линий изолятов, полученных из материала от животных или объектов внешней среды, с культурами, изолированными от заболевших людей, с целью установления источника инфекции и происхождения штамма, вызвавшего заболевание. Методы молекулярного типирования возбудителя сибирской язвы характеризуются различными дискриминирующими возможностями. MLST-типирование изолятов *B. anthracis*, обладая относительно низкой разрешающей способностью (индекс дискриминации составляет 0,58), позволяет получить общую генетическую характеристику штаммов патогена без корректной их дифференциации [3]. Широко используемое *can*SNP-генотипирование применяется при дифференциации штаммов *B. anthracis* с возможностью установления их расположения в глобальной структуре популяции, представленной тремя главными генетическими линиями (клады) – А, В и С – и насчитывающей 12 «канонических» SNP-групп.

Высокая дифференцирующая способность методов MLVA, в частности MLVA31 (индекс дискриминации достигает 0,99), обуславливает возможность проведения как точной дифференциации, так и определения генетического родства исследуемых штаммов [4]. Несмотря на все преимущества MLVA-технологии, необходимо отметить, что анализ 31 VNTR-локусов является относительно дорогостоящим и длительным по времени. Наиболее полную информацию о структуре генома патогена в настоящее время получают методом полногеномного секвенирования, с помощью которого определяют MLST-, SNP-, MLVA-генотипы штаммов *B. anthracis* *in silico*. Высокая дискриминирующая способность этого метода позволяет осуществлять наиболее точную дифференциацию исследуемых штаммов возбудителя сибирской язвы. Основное ограничение, препятствующее широкому использованию полногеномного секвенирования, заключается в высокой стоимости реагентов и приборной базы.

В последнее время наблюдается активное развитие другой эффективной технологии для детекции и типирования микроорганизмов – времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS), позволяющей анализировать качественный и количественный белковый состав микроорганизмов. Известно, что спектры рибосомных белков, относя-

щиеся к группе наиболее стабильных, широко используются для осуществления идентификации бактерий на уровне не только рода, но и вида. Метод MALDI-TOF MS позволяет проводить выявление и анализ белковых биомаркеров, представляющих собой комплекс типичных белков «домашнего хозяйства» [5, 6]. Типирование микроорганизмов на основе белковых биомаркеров позволяет устанавливать филогенетические связи и представлять их в формате филогенетического дерева, отражающего степень эволюционной близости представителей исследуемого бактериального патогена. Показано, что результаты кластерного анализа на основе масс-спектрометрических данных соотносились с данными VNTR-кластеризации *B. anthracis*, и высказано мнение, что продемонстрированный потенциал MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа позволяет рассматривать этот метод не только в качестве идентификационного, но и в качестве дополнительного метода углубленного изучения возбудителя [7].

В нормативно-методических документах федерального уровня четкие указания, регламентирующие роль (место) масс-спектрометрических методов исследования в системе мониторинга опасных инфекционных и паразитарных болезней, отсутствуют. Учитывая, что MALDI-TOF MS позволяет успешно проводить дифференциацию видов и подвидов патогенных микроорганизмов, представляется актуальным оценить дискриминирующий потенциал этого метода применительно к *B. anthracis* [8, 9].

Цель исследования – сравнить дискриминирующую способность методов *can*SNP13-генотипирования и MALDI-TOF MS на основании результатов исследования штаммов возбудителя сибирской язвы, принадлежащих к двум основным генетическим линиям А и В.

Материалы и методы

Исследовали 73 штамма *B. anthracis* из коллекции патогенных микроорганизмов ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора.

Использовали ацетонитрил (Sigma-Aldrich, США), трифторуксусную кислоту (Sigma-Aldrich, США), α -циано-4-гидроксикоричную кислоту (Bruker Daltonics, Германия), Brain Heart Infusion Agar (BHIA) (Becton Dickinson, США), агар, порошок микробиологический, бактериальный тест-стандарт MBT для внутренней калибровки масс-спектрометра (Bruker Daltonics, Германия).

Подготовка проб и обеззараживание. Вся работа с исследуемым материалом проводилась в соответствии с СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Выращивали 18–24 ч культуры *B. anthracis* из отдельных колоний на пластинках BHIA при 37 °С. При обеззараживании 20 мкл взвеси культуры суспендировали в 80 мкл трифторуксусной кислоты, выдерживая при ком-

натной температуре в течение 5 мин, затем центрифугировали в течение 30 мин при 13000 об/мин. Супернатант переносили в ультрамикроцентрифужную пробирку с диаметром пор 0,22 мкм, центрифугировали при 13000 об/мин в течение 20 мин. С полученным фильтратом работали как с обеззараженным материалом. На пластину-мишень MS 96 Micro SCOUT Plate (Bruker Daltonics, Германия) помещали 1 мкл фильтрата, покрывали 1 мкл матрицы, состоящей из α -циано-4-гидроксикоричной кислоты в растворе ацетонитрила, ультрачистой воды и трифторуксусной кислоты.

Получение и статистическая обработка масс-спектрометрических данных. Масс-спектры получали в линейном режиме на масс-спектрометре Microflex (Bruker Daltonics, Германия), диапазон масс – 2–20 кДа. Обработку, визуализацию и анализ полученных масс-спектров осуществляли с применением прикладных пакетов [10] в статистическом программном обеспечении R (<https://cran.r-project.org>) и Mass-Up (<http://sing.ei.uvigo.es>). Эффективность про-

граммного обеспечения была подтверждена нами ранее в ходе исследований по индикации и идентификации *Brucella* spp., *B. anthracis* [11].

Построение дендрограммы на основании данных MALDI-TOF MS. Объединение схожих спектров в группы проводили методом кластерного анализа, в качестве метрики задавали евклидово расстояние. Степень сходства масс-спектров представили как величину, тождественно равную расстоянию между объектами. Построили матрицу расстояний, учитывающую значение m/z и интенсивность каждого сигнала. Иерархическую кластеризацию штаммов сибиреязвенного микроба представили в виде дендрограммы (рисунок). Расстояние между кластерами определяли методом Варда, отражающим объединение субгрупп, характеризующихся наибольшим сходством.

canSNP типирование. Для анализа канонических SNP с группировкой в 12 групп использовали сконструированную in-house тест-систему с праймерами [12] и флуоресцентно-мечеными LNA-зондами, последовательности которых приведены в табл. 1.

Таблица 1 / Table 1

Последовательности праймеров и зондов для canSNP-анализа
Sequences of primers and probes for canSNP-analysis

№ No.	Can SNP	Последовательность нуклеотида 5'→3' The sequence of nucleotide 5'→3'	
		Праймеры Primers	Зонды Probes
1	A.Br.001	F:CAAGCGGAACCAAATTTAATCTTT R:TTCACCGTACGTCATTGTATAATACG	FAM-ACCGAAAC <u>TTGA</u> AGTC-BHQ1
			VIC-AACCGAAAT <u>TTGA</u> AGTC-BHQ2
2	A.Br.002	F:AACGATACCTAAATCGATAAAG R:GGCAGAAGGAGCAAGTAATGTT	FAM-CGCCCCA <u>GCCTAA</u> -BHQ1
			VIC-CGCCCCA <u>GCCTAA</u> AC-BHQ2
3	A.Br.003	F:GCTACTGTCATTGTATAAAAACCTCCTTT R:CGCTTGCCAAGCTTTTTTTC	FAM-ACCTCAAGCTTAATTCG-BHQ1
			VIC-CTACCTCAAA <u>CTTAATTCGA</u> -BHQ2
4	A.Br.004	F:CCGATACCAGTAAACGACGACAT R:CTGGAATTGGTGGAGCTATGGA	FAM-TGGAATG <u>CCCTAATC</u> -BHQ1
			VIC-TGGAATG <u>ICCTAATCC</u> -BHQ2
5	A.Br.006	F:CCGAAATTGCTATTAGAACGAA R:TCCCAATCTAGCGTTTAAAGTTCA	FAM-TCGCCTCGTGAT-BHQ1
			VIC-ATCGCCTA <u>GTGCATG</u> -BHQ2
6	A.Br.007	F:TTGGTAACGAGACGATAAACTGAATAA R:GCCTTGGATTGGCGATTG	FAM-CCATCCTTAATTCAGCT-BHQ1
			VIC-CATCCTTA <u>CTTCAGCT</u> -BHQ2
7	A.Br.008	F:TTTCGCACTACGCTATACGTTTATAGAT R:CAAACGGTGAAAAAGTTACAAATATACG	FAM-TTCTTC <u>CCGCTTG</u> -BHQ1
			VIC-AATTCCTTC <u>CCGCTTG</u> -BHQ2
8	A.Br.009	F:GGCAATCGGCCACTGTTT R:GGGTTTCTACTGTGTATGTTGTTAATAAAAAAG	FAM -GGCTTTGCTTGATC-BHQ1
			VIC-CGGCTTTA <u>CTTGATC</u> -BHQ2
9	B.Br.001	F:TGCATGCTTCTTCTACAGAGTAGTTAAT R:CGGTCATAAAAGAAATCGGTACAA	FAM-GATACCTTCTATCCTCTTC-BHQ1
			VIC-GATACCTTCTATCCTCTCTTC-BHQ1
10	B.Br.002	F:TGTTGCACCTTCTGTGTTTCGTT R:GTAGTGGCTTACCCGAATGGA	FAM-ACGTTACTGCTGTTCTTC-BHQ1
			VIC-AACGTTACTTCTGTTCTTC-BHQ1
11	B.Br.003	F:CATTATTTCGATAGAAGCAGATGA R:TGTGCCATCAAATAACTCTTCTCAA	FAM-ACATATCC <u>ACTTCACGT</u> -BHQ1
			VIC-CATATCCGCTTACAGT-BHQ1
12	B.Br.004	F:GAAGTTAAGTATCAACCAGCAGAAGAAA R:CCGCCGCTTGAGCTT	FAM-TTACTTCTA <u>TCATCCCGT</u> -BHQ1
			VIC-TACTTCTA <u>TCATCCCGT</u> -BHQ1
13	A/B.Br.001	F:GAAGGTCTCCAATTTGGATTAAAAAT R:CGTGTGAACCTTTCGGTAAATAGTC	FAM-TTTTATTAGAAGATAGCGC-BHQ1
			VIC-TTTATTTAGAGATAGCGGC-BHQ1

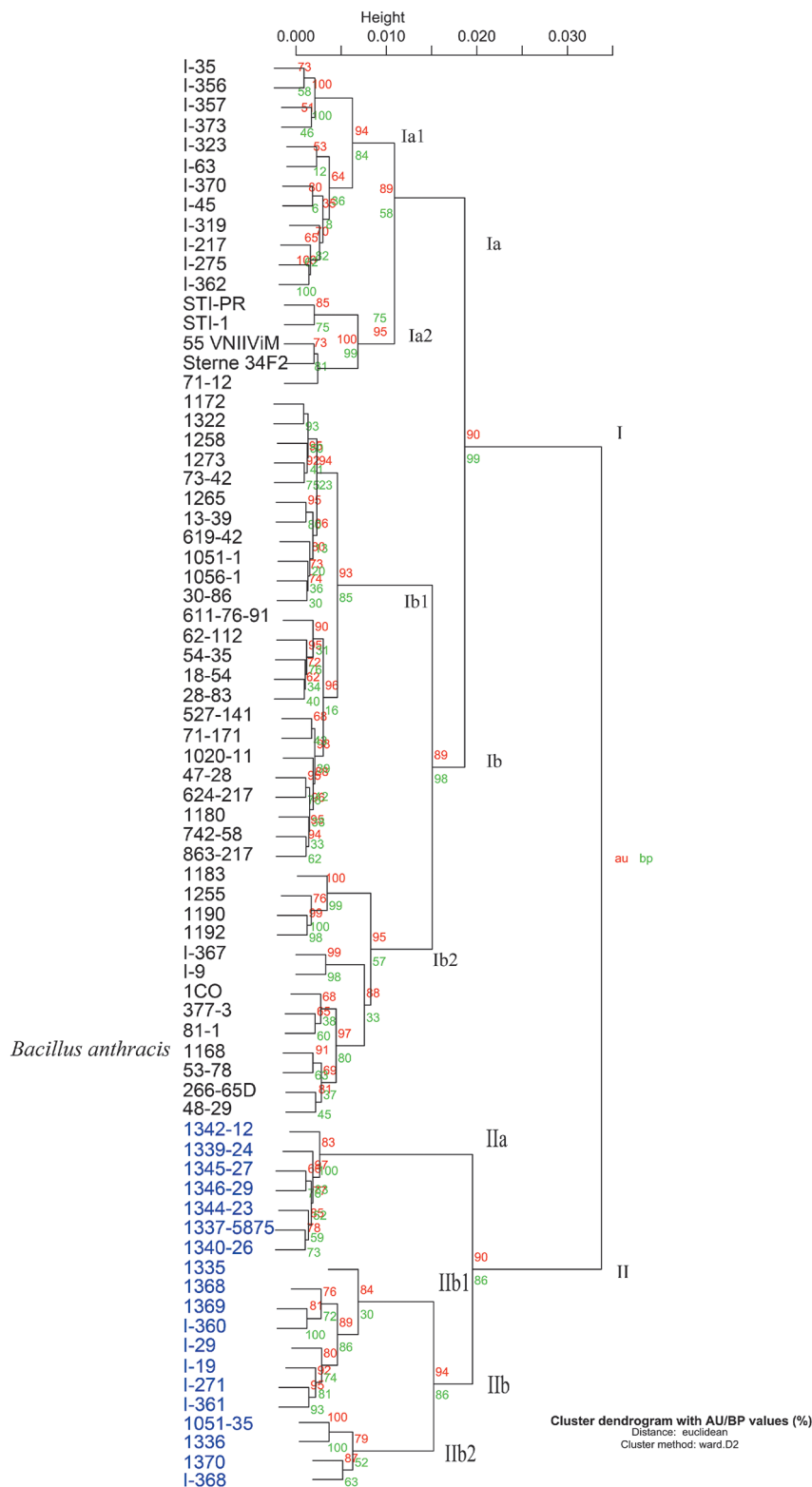
Примечание: подчеркнуты LNA-основания.

Note: LNA bases are underlined.

Определение индекса дискриминации Хантера – Гастона проводили в соответствии с методикой P.R. Hunter *et al.* [13]. Построение дендрограммы на основании результатов *can*SNP-анализа проводили в программе MEGA X (не представлена) с использованием алгоритма Maximum Likelihood (рисунок).

Результаты и обсуждение

Результаты анализа штаммов *B. anthracis* с помощью *can*SNP-генотипирования. Установлена принадлежность штаммов *B. anthracis* к двум филогенетическим линиям (A, B) и пяти подгрупп



Дендрограмма MALDI-TOF масс-спектров штаммов *B. anthracis*. Штаммы из *can*SNP-группы B.Br.002 (ветвь II) выделены синим цветом

Dendrogram illustrating the phylogenetic relations of *B. anthracis* strains based on MALDI-TOF MS data. Strains from *can*SNP group B.Br.002 (branch II) are highlighted in blue

Таблица 2 / Table 2

canSNP-генотипы исследуемых штаммов
canSNP genotypes of the studied strains

Кол-во штаммов Number of strains	SNP													canSNP-группа canSNP group
	A001	A002	A003	A004	A006	A007	A008	A009	B001	B002	B003	B004	A/B001	
41	T	G	A	T	A	T	G	A	T	G	G	T	A	A.Br.008/009
7	T	G	G	C	A	T	T	A	T	G	G	T	A	A.Br.Aust94
2	T	A	G	C	A	T	T	A	T	G	G	T	A	A.Br.001/002
5	C	A	G	C	A	T	T	A	T	G	G	T	A	A.Br.Ames
18	T	G	A	T	C	T	T	A	T	T	A	T	A	B.Br.001/002

пам: А) A.Br.Ames, A.Br.Australia 94 (A.Br.Aust94), A.Br.001/002 и A.Br.008/009; В) B.Br.001/002 (табл. 2).

По данным canSNP-генотипирования (табл. 3), в наиболее представительную группу A.Br.008/009 основной генетической линии А вошли 41 штамм, изолированные на территориях Харьковской, Тюменской и Омской областей, Азербайджанской, Чеченской и Карачаево-Черкесской республик, республик Дагестан, Северная Осетия – Алания,

Ингушетия, Калмыкия, Тыва, Бурятия, а также Ставропольского, Забайкальского, Красноярского и Приморского краев в период с 1962 по 2013 г.

В этой же группе расположились вакцинные штаммы: 55-ВНИИВиМ, СТИ-1, СТИ-ПР, 71/12. Группу A.Br.Ames составляли изоляты, выделенные с 1965 по 2012 г. в Республике Бурятия, Омской области и Алтайском крае. К канонической группе A.Br.014(A.Br.Aust94) отнесены штаммы, изолированные на территории республик Дагестан, Северная Осетия – Алания

Таблица 3 / Table 3

Филогенетические взаимоотношения штаммов *B. anthracis* на основе данных canSNP-анализа и MALDI-TOF MSPhylogenetic relations of *B. anthracis* strains based on canSNP analysis and MALDI-TOF MS data

Наименование штаммов Designation of strains	Тип масс-спектр MALDI-TOF / n – число штаммов Type of mass spectrum MALDI-TOF / n is the number of strains
Филогенетическая группа A.Br.008/009, n=41 Phylogenetic group A.Br.008/009, n=41	
I-356, I-323, I-275, I-217, I-63	Ia1 / n=5
STI-PR, STI-1, 55-VNIIViM, 71-12	Ia2 / n=4
13-39, 611-76-91, 1322, 1273, 1265, 1258, 1180, 1172, 1056-1, 1051-1, 1020-11, 863-217, 742-58, 624-217, 619-42, 527-141, 62-112, 54-35, 4728, 30-86, 18-54	Ib1 / n=21
I-367, I-9, 1255, 1192, 1190, 81-1, 53-78, 48-29, I CO	Ib2 / n=9
I-361, I-19	Ib1 / n=2
Филогенетическая группа A.Br.Aust94, n=7 Phylogenetic group A.Br.Aust94, n=7	
73-42, 71-171, 28-83	Ib1 / n=3
1168, 1183, 377-3, 266-65D	Ib2 / n=4
Филогенетическая группа A.Br.001/002, n=2 Phylogenetic group A.Br.001/002, n=2	
I-45	Ia1 / n=1
Sterne_34F2	Ia2 / n=1
Филогенетическая группа A.Br.Ames, n=5 Phylogenetic group A.Br.Ames, n=5	
I-35, I-319, I-370, I-357	Ia1 / n=4
I-360	Ib1 / n=1
Филогенетическая группа B.Br.001/002, n=18 Phylogenetic group B.Br.001/002, n=18	
1339-24, 1340-26, 1342-12, 1344-23, 1345-27, 1346-29, 1337-5875	IIa / n=7
1335, I-29, I-271, 1368, 1369	IIb1 / n=5
1051-35, 1336, I-368, 1370	IIb2 / n=4
I-373, I-362	Ia1 / n=2

и Кабардино-Балкарской Республики (1967–1998, 1994 гг.). Наименее представительной в нашей выборке была группа A.Br.001/002, которая насчитывала два штамма возбудителя: I-45, выделенный на территории Республики Тыва в 1966 г., и вакцинный штамм Sterne 34F2. Главную генетическую линию В (B.Br.001/002) на представленной дендрограмме образовали 18 штаммов, выделенные на территории Республики Саха (Якутия), Алтайского края, ЯНАО, республик Тыва, Башкортостан и Бурятия с 1953 по 2018 г.

Оптимизация этапа предварительной обработки масс-спектрометрических данных. Биоинформационная обработка белковых профилей с помощью пакетов MALDIquant, MALDIrpa заключалась в преобразовании шкалы интенсивности a.i., сглаживании (метод Savitzky – Golay) и коррекции базовой линии, нормализации интенсивности каждого пика. Реализованный в работе подход позволил совместить этап выявления истинных максимумов на спектрах с удалением шума, что более эффективно по сравнению с применением аналогичных алгоритмов. Использование пакетов MALDIquant, MALDIrpa позволило обнаружить до 180 пиков на масс-спектрах, тогда как с помощью алгоритма MassSpecWavelet было выявлено не более 100 пиков для единичного спектра. Выравнивание реплик каждого образца относительно оси абсцисс проводили суперсглаживающим методом, что позволило исключить пики с частотой встречаемости менее 25 %. Уточнение m/Z значений гомологичных сигналов осуществляли на основании пяти реплик каждого образца. При построении дендрограммы использовали преобразованные «суммарные» белковые профили (рисунок). Воспроизводимость данных оценивали с помощью критериев: разрешение пиков, соотношение сигнал/шум, количество пиков, их интенсивность.

Результаты анализа штаммов *B. anthracis* с помощью MALDI-TOF MS. Внутривидовую дифференциацию штаммов *B. anthracis* проводили на основании масс-спектрометрии клеточных белков микроорганизма – продуктов трансляции генов. Для поиска штаммовых особенностей внутри группы *B. anthracis* были собраны MALDI-TOF MS спектры представителей двух основных канонических групп А и В возбудителя сибирской язвы. Как и ожидалось, все принадлежащие к 5 генотипам штаммы *B. anthracis* (табл. 2) на дендрограмме, построенной по результатам кластерного анализа белковых профилей, образовали две группы – I и II (рисунок). Ветвь I делилась на кластеры Ia (подкластеры Ia1, Ia2) и Ib (подкластеры Ib1, Ib2), ветвь II содержала кластеры IIa и IIb (подкластеры IIb1 и IIb2). Субкластеры в последующем разделялись на отдельные ветви более низкого уровня. Всего в ветви I выделялись 21 группа с двумя штаммами в каждом из них, а также 14 ветвей для индивидуальных штаммов. Для филогенетической ветки II таких групп было 6 и 8 соответственно.

Более половины всех пиков (до 60 %) являлись общими для всей совокупности масс-спектров. Выявлено 7 общих сигналов на масс-спектрах представителей ветви I (100 %) в диапазоне масс 2,8–6,4 кДа, основной массив (99 %) белковых профилей содержал 34 пика в интервале 2,3–9,7 кДа [5, 14]. Спектры представителей ветви II насчитывали 7 сигналов в диапазоне m/Z 2,8–6,3 кДа. Среди штаммов, выделенных при вспышке сибирской язвы на Ямале в 2016 г. (1339-24, 1340-26, 1342-12, 1344-23, 1345-27, 1346-29), и изолятов 1051/35 и 1335 пики, общие для остальных штаммов (34 пика в интервале 2,3–9,7 кДа), отсутствовали.

Группа общих сигналов также определена и для масс-спектров штаммов, расположенных в кластерах IIb и Ia. Вероятно, выявленные сигналы могут быть использованы как биомаркеры для каждой из групп, а времяпролетная масс-спектрометрия – как дополнительный типизирующий метод для дискриминации изолятов, имеющих близкие MALDI-TOF MS профили, в частности, при дифференциации отдельных бактериальных изолятов возбудителя сибирской язвы на внутривидовые группы.

Отдельные кластеры Ia и Ib ветви I вошли штаммы, изолированные на территории Сибири и Дальнего Востока, которые по результатам филогенетического анализа на основании canSNP-генотипирования принадлежат к группам A.Br.008/009, A.Br.Ames, A.Br.0001/002 и A.Br.Aust94. В частности, на филопротеомной дендрограмме, представленной на рисунке, кластер Ia включает два субкластера: Ia1 и Ia2. В субкластер Ia1 вошли штаммы основной генетической клады А, в том числе 4 штамма группы A.Br.Ames (I-35, I-357, I-370, I-319), 5 штаммов группы A.Br.008/009 (I-356, I-323, I-63, I-217, I-275) и 1 штамм группы A.Br.0001/002 (I-45). Исключение составили два штамма I-373 и I-362, изолированные в Алтайском крае и Республике Бурятия, для которых установлена принадлежность к генетической линии В (группа B.Br.001/002). В состав субкластера Ia2 кластера Ia вошли все 5 вакцинных штаммов основной генетической линии А: 4 штамма группы A.Br.008/009 (СТИ-ПР, СТИ-1, 55-ВНИИВиМ, 71/12) и 1 штамм группы A.Br.001/002 (Sterne 34F2). Эти штаммы не продуцируют ряд белков, кодируемых плазмидой pX02.

Наибольшее количество штаммов основной генетической линии А по данным MS представлено в составе субкластеров Ib1 и Ib2 кластера Ib. В частности, в субкластер Ib1 вошли 21 штамм, принадлежащие к canSNP-группе A.Br.008/009, и 3 штамма группы A.Br.Aust94 (28/83, 71-171, 28-83). Субкластер Ib2 насчитывал 13 изолятов, из которых 9 штаммов отнесены к группе A.Br.008/009 и 4 штамма – к группе A.Br.Aust94 (1183, 377/3, 1168, 266/65D). Кроме того, для штаммов *B. anthracis* 1183, 1255, 1190, 1192 был установлен общий сигнал (Да): 2766,9. Всего из 37 изолятов *B. anthracis* кластера Ib 30 принадлежали к canSNP-группе

A.Br.008/009, остальные 7 входили в группу A.Br.Aust94.

Штаммы группы V.Br.002 вошли в ветвь II, которая представлена двумя кластерами – Па и Пб. Штаммы, выделенные от людей, оленей и объектов окружающей среды в 2016 г. на Ямале, на дендрограмме вошли в состав самостоятельного кластера Па, что в полной мере согласуется с данными об общности их происхождения. Кластер Пб представлен двумя отдельными субкластерами: Пб1, в который вошли штаммы филогенетической линии V.Br.001/002: 1335, 1368, 1369, I-29, I-271, A.Br.008/009: I-19, I-361, A.Br.Ames: I-360, – и Пб2 – штаммы филогенетической группы V.Br.001/002: 1051-35, 1336, I-368, 1370.

Несоответствие между кластеризацией методами canSNP-типирования и MALDI-TOF MS наблюдалось для 5 штаммов: I-360, с одной стороны, принадлежал к филогенетической группе A.Br.Ames, а с другой – по масс-спектрометрическому анализу – к группе Пб1; I-19, I-361 – A.Br.008/009 и Пб1; I-373, I-362 – V.Br.001/002 и Ia1 соответственно.

Вероятно, указанные штаммы отличаются характером экспрессии белков, что не отражается на результатах canSNP-типирования, но влияет на результаты белкового профилирования.

Сравнение результатов canSNP-генотипирования и MALDI-TOF MS. Исходя из рассчитанных значений индексов дискриминации для схемы canSNP-генотипирования (0,643) и белкового профилирования (0,952) исследуемой выборки штаммов, можно говорить о более высокой дифференцирующей способности используемого метода времяпролетной масс-спектрометрии. По этому показателю метод MALDI-TOF-типирования приближается к MLVA31 с индексом дискриминации 0,988 [3].

В ходе сравнительного анализа результатов филогенетической реконструкции штаммов возбудителя сибирской язвы с использованием белкового профилирования и canSNP-генотипирования выделено в популяции штаммов, принадлежащих к группе V.Br.001/002, более трех подтипов MALDI масс-профилей (протеотипов) штаммов возбудителя сибирской язвы (рисунок). Среди штаммов генетической линии А, представленной в данной работе 4 генотипами, определено более 10 протеотипов возбудителя (табл. 3).

Принимая во внимание полученную информацию, можно говорить о том, что результаты исследования возбудителя сибирской язвы методом времяпролетной масс-спектрометрии согласуются с данными canSNP-генотипирования в отношении разделения на две главные генетические линии А и В.

В частности, положительная корреляционная связь установлена для 70 штаммов (95,9 %), исключение составили 3 изолята (4,1 %). Кроме того, построенная по результатам времяпролетной масс-спектрометрии кластеризация позволила выделить штаммы *B. anthracis*, принадлежа-

щие к одной вспышке, в самостоятельную ветвь (на дендрограмме Па), что обусловлено общностью их происхождения. Выявлено, что штаммы I-373 и I-362 (V.Br.001/002) на основании данных времяпролетной масс-спектрометрии находились в субкластере Ia1 со штаммами групп A.Br.008/009 и A.Br.001/002, и, напротив, штаммы I-360, I-19 и I-361 (A.Br.Ames и A.Br.008/009) располагались в субкластере Пб1 со штаммами V.Br.001/002. Выявленное несоответствие результатов кластеризации отдельных штаммов на основании результатов canSNP-генотипирования и времяпролетной масс-спектрометрии может быть следствием штаммовых отличий характера экспрессии белков, что не выявляется методами canSNP-типирования, но подтверждается результатами белкового профилирования.

Исходя из полученных данных и принципиальных возможностей метода, следует отметить, что canSNP13-генотипирование позволяет установить принадлежность штамма к определенным основным генетическим линиям глобальной структуры популяции *B. anthracis* и каноническим группам, но не позволяет провести дифференциацию штаммов, входящих в одну каноническую группу. Такая дифференциация осуществима при использовании MLVA31 или анализа SNP корового генома на основе полногеномного секвенирования. Сравнивая кластеры, полученные на основании данных canSNP-генотипирования и белкового профилирования, необходимо иметь в виду, что указанные подходы используют разные объекты для исследования. В частности, canSNP-генотипирование позволяет провести классификацию бактерий на основе анализа консервативного базового набора из 13 одонуклеотидных полиморфизмов, из которых 3 приходятся на межгенные области, остальные присутствуют в генах белков так называемого «домашнего хозяйства». Очевидно, что молекулярные массы белков, SNP в генах которых анализируются при canSNP-генотипировании, за исключением одного, составляют от 32 до 70 кДа и поэтому не могут определяться в используемом варианте масс-спектрометрии с диапазоном измеряемых масс 2–20 кДа. Следовательно, полная корреляция результатов canSNP-генотипирования и белкового профилирования методом MALDI-TOF масс-спектрометрии невозможна.

Результаты исследования подтверждают возможность эффективного использования для рутинного молекулярного протеотипирования изолятов сибирской язвы метода MALDI-TOF MS, обладающего такими преимуществами, как высокая производительность в сочетании с относительно низкой трудоемкостью. Реализация метода MALDI-TOF MS протеотипирования достигается при использовании биоинформационного подхода в среде языка статистического программирования R. Подтверждено, что предлагаемый подход для дифференциации протеотипов штаммов *B. anthracis* с индексом дискриминации 0,952 превышает таковой для мето-

да canSNP-типирования и сопоставим с индексом дискриминации для метода MLVA31. Корреляция результатов кластеризации штаммов при типировании методами MALDI-TOF масс-спектрометрии и canSNP-генотипирования достигает 95 % в отношении разделения на главные генетические линии А и В. Для штаммов основной генетической линии А, представленной в данной работе 4 canSNP-генотипами, определено более 10 протеотипов возбудителя, что, вероятно, может быть связано с разными анализируемыми показателями и характером экспрессии белков у разных штаммов.

MALDI-TOF масс-спектрометрия позволяет получить сопоставимые с генетическими тестами результаты, имеет лучшую дискриминирующую способность по сравнению с canSNP-типированием. Может применяться наряду с методом MLVA31 при оперативном эпидемиологическом анализе.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

- Shadomy S., El Idrissi A., Raizman E., Bruni M., Palamara E., Pittiglio C., Lubroth J. Anthrax outbreaks: a warning for improved prevention, control and heightened awareness. *Empres Watch*. 2016; Vol. 37. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.fao.org/3/a-i6124e.pdf> (дата обращения 09.11.2020).
- Попова А.Ю., Демина Ю.В., Ежлова Е.Б., Куличенко А.Н., Рязанова А.Г., Малеев В.В., Плоскирева А.А., Дятлов И.А., Тимофеев В.С., Нечепуренко Л.А., Харьков В.В. Вспышка сибирской язвы в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 году, эпидемиологические особенности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 4:42–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-42-46.
- Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Писаренко С.В., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Котенева Е.А., Цыганкова О.И., Ковалев Д.А., Головинская Т.М., Чмеренко Д.К., Куличенко А.Н. Сравнительный анализ методов генетического типирования *Bacillus anthracis*. *Генетика*. 2019; 55(1):40–51. DOI: 10.1134/S0016675819010065.
- Thierry S., Tourterel C., Le Flèche P., Derzelle S., Dekhil N., Mendy C., Colaneri C., Vergnaud G., Madani N. Genotyping of French *Bacillus anthracis* strains based on 31-loci multi locus VNTR analysis: epidemiology, marker evaluation, and update of the internet genotype database. *PLoS One*. 2014; 9(6):e95131. DOI: 10.1371/journal.pone.0095131.
- Lasch P., Jacob D., Grunow R., Schwecke T., Doellinger J. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry (MS) for the identification of highly pathogenic bacteria. *TrAC – Trends Anal. Chem.* 2016; 85(Pt. 1):103–11. DOI: 10.1016/j.trac.2016.04.013.
- Teramoto K., Okubo T., Yamada Y., Sekiya S., Iwamoto S., Tanaka K. Classification of Cutibacterium acnes at phylotype level by MALDI-MS proteotyping. *Proc. Jpn Acad., Ser. B. Phys. Biol. Sci.* 2019; 95(10):612–23. DOI: 10.2183/pjab.95.042.
- Афанасьев М.В., Кравец Е.В., Такайшвили В.Е., Дугаржапова З.Ф., Балахонов С.В. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Bacillus anthracis*, циркулирующих на территории Сибири и Дальнего Востока. В кн.: Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактической медицины: Материалы VI Всерос. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора (22–24 октября 2014 г., Ставрополь). Ставрополь: Экспо-Медиа; 2014. С. 53–4.
- Wei J., Zhang H., Zhang H., Zhang E., Zhang B., Zhao F., Xiao D. Novel strategy for rapidly and safely distinguishing *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* by use of peptide mass fingerprints based on matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 59(1):e02358-20. DOI: 10.1128/JCM.02358-20.
- Takahashi N., Nagai S., Fujita A., Ido Y., Kato K., Saito A., Moriya Y., Tomimatsu Y., Kaneta N., Tsujimoto Y., Tamura H. Discrimination of psychrotolerant *Bacillus cereus* group based on

MALDI-TOF MS analysis of ribosomal subunit proteins. *Food Microbiol.* 2020; 91:103542. DOI: 10.1016/j.fm.2020.103542.

10. Gibb S., Strimmer K. Mass spectrometry analysis using MALDIquant. In: Datta S., Mertens B., editors. *Statistical Analysis of Proteomics, Metabolomics, and Lipidomics Data Using Mass Spectrometry*. Springer International Publishing; 2017. P. 101–24. DOI: 10.1007/978-3-319-45809-0_6.

11. Ульшина Д.В., Еременко Е.И., Ковалев Д.А., Рязанова А.Г., Кузнецова И.В., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Бобрышева О.В., Сирица Ю.В., Куличенко А.Н. Выявление особенностей масс-спектров белковых экстрактов споровой и вегетативной форм возбудителя сибирской язвы методом времяпролетной масс-спектрометрии. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 6:66–72. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-66-72.

12. Van Ert M.N., Easterday W.R., Huynh L.Y., Okinaka R.T., Hugh-Jones M.E., Ravel J., Zanecki S.R., Pearson T., Simonson T.S., U'Ren J.M., Kachur S.M., Leadem-Dougherty R.R., Rhoton S.D., Zinser G., Farlow J., Coker P.R., Smith K.L., Wang B., Kenefic L.J., Fraser-Liggett C.M., Wagner D.M., Keim P. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS One*. 2007; 2(5):e461. DOI: 10.1371/journal.pone.0000461.

13. Hunter P.R., Gaston M.A. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J. Clin. Microbiol.* 1988; 26(11):2465–6. DOI: 10.1128/jcm.26.11.2465-2466.1988.

14. Dybwad M., van der Laeken A.L., Blatny J.M., Paaauw A. Rapid identification of *Bacillus anthracis* spores in suspicious powder samples by using matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79(17):5372–83. DOI: 10.1128/AEM.01724-13.

References

- Shadomy S., El Idrissi A., Raizman E., Bruni M., Palamara E., Pittiglio C., Lubroth J. Anthrax outbreaks: a warning for improved prevention, control and heightened awareness. *Empres Watch*. 2016; Vol. 37. (Cited 09 Nov 2020). [Internet]. Available from: <http://www.fao.org/3/a-i6124e.pdf>.
- Popova A.Yu., Demina Yu.V., Ezhlova E.B., Kulichenko A.N., Ryzanova A.G., Maleev V.V., Ploskireva A.A., Dyatlov I.A., Timofeev V.S., Nepochurenko L.A., Khar'kov V.V. [Outbreak of anthrax in the Yamalo-Nenets Autonomous District in 2016, epidemiological peculiarities]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2016; (4):42–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-42-46.
- Eremenko E.I., Ryzanova A.G., Pisarenko S.V., Aksеноva L.Yu., Semenova O.V., Koteneva E.A., Tsygankova O.I., Kovalev D.A., Golovinskaya T.M., Chmerenko D.K., Kulichenko A.N. [Comparative analysis of genotyping methods for *Bacillus anthracis*]. *Genetika [Russian Journal of Genetics]*. 2019; 55(1):40–51. DOI: 10.1134/S0016675819010065.
- Thierry S., Tourterel C., Le Flèche P., Derzelle S., Dekhil N., Mendy C., Colaneri C., Vergnaud G., Madani N. Genotyping of French *Bacillus anthracis* strains based on 31-loci multi locus VNTR analysis: epidemiology, marker evaluation, and update of the internet genotype database. *PLoS One*. 2014; 9(6):e95131. DOI: 10.1371/journal.pone.0095131.
- Lasch P., Jacob D., Grunow R., Schwecke T., Doellinger J. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry (MS) for the identification of highly pathogenic bacteria. *TrAC – Trends Anal. Chem.* 2016; 85(Pt. 1):103–11. DOI: 10.1016/j.trac.2016.04.013.
- Teramoto K., Okubo T., Yamada Y., Sekiya S., Iwamoto S., Tanaka K. Classification of Cutibacterium acnes at phylotype level by MALDI-MS proteotyping. *Proc. Jpn Acad., Ser. B. Phys. Biol. Sci.* 2019; 95(10):612–23. DOI: 10.2183/pjab.95.042.
- Afanasyev M.V., Kravets E.V., Takaishvili V.E., Dugarzhapova Z.F., Balakhonov S.V. [Molecular-genetic characteristics of *Bacillus anthracis* strains circulating in Siberia and the Far East]. In: [Topical Issues of Epidemiology and Preventive Medicine: Proceedings of the VI All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists of the Rospotrebnadzor (22–24 Oct. 2014, Stavropol)]. Stavropol: Expo-Media; 2014. P. 53–4.
- Wei J., Zhang H., Zhang H., Zhang E., Zhang B., Zhao F., Xiao D. Novel strategy for rapidly and safely distinguishing *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus* by use of peptide mass fingerprints based on matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 59(1):e02358-20. DOI: 10.1128/JCM.02358-20.
- Takahashi N., Nagai S., Fujita A., Ido Y., Kato K., Saito A., Moriya Y., Tomimatsu Y., Kaneta N., Tsujimoto Y., Tamura H. Discrimination of psychrotolerant *Bacillus cereus* group based on MALDI-TOF MS analysis of ribosomal subunit proteins. *Food Microbiol.* 2020; 91:103542. DOI: 10.1016/j.fm.2020.103542.
- Gibb S., Strimmer K. Mass spectrometry analysis using MALDIquant. In: Datta S., Mertens B., editors. *Statistical Analysis*

of Proteomics, Metabolomics, and Lipidomics Data Using Mass Spectrometry. Springer International Publishing; 2017. P. 101–24. DOI: 10.1007/978-3-319-45809-0_6.

11. Ulshina D.V., Eremenko E.I., Kovalev D.A., Ryazanova A.G., Kuznetsova I.V., Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Bobrysheva O.V., Siritsa Yu.V., Kulichenko A.N. [Study of the mass-spectra' features of spores and vegetative forms of *Bacillus anthracis* using time of flight mass-spectrometry]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2018; (6):66–72. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-66-72.

12. Van Ert M.N., Easterday W.R., Huynh L.Y., Okinaka R.T., Hugh-Jones M.E., Ravel J., Zanecki S.R., Pearson T., Simonson T.S., U'Ren J.M., Kachur S.M., Leadem-Dougherty R.R., Rhoton S.D., Zinser G., Farlow J., Coker P.R., Smith K.L., Wang B., Kenefic L.J., Fraser-Liggett C.M., Wagner D.M., Keim P. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PLoS One*. 2007; 2(5):e461. DOI: 10.1371/journal.pone.0000461.

13. Hunter P.R., Gaston M.A. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J. Clin. Microbiol.* 1988; 26(11):2465–6. DOI: 10.1128/jcm.26.11.2465-2466.1988.

14. Dybwad M., van der Laaken A.L., Blatny J.M., Paauw A. Rapid identification of *Bacillus anthracis* spores in suspicious powder samples by using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79(17):5372–83. DOI: 10.1128/AEM.01724-13.

Authors:

Ul'shina D.V., Kovalev D.A., Eremenko E.I., Semenova O.V., Ryazanova A.G., Bobrysheva O.V., Zhirov A.M., Kulichenko A.N. Stavropol' Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Ульшина Д.В., Ковалев Д.А., Еременко Е.И., Семенова О.В., Рязанова А.Г., Бобрышева О.В., Жиров А.М., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-156-163

УДК 616.98:578.8(470.44)

Е.А. Чумачкова¹, А.В. Иванова¹, А.М. Поршаков¹, И.Н. Вяткин², М.В. Форостяная²,
К.Я. Чумачков³, В.П. Топорков¹

Районирование территории Саратовской области по интенсивности эпидемических проявлений ГЛПС с использованием ГИС-анализа

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; ³ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский университет
«Высшая школа экономики», Москва, Российская Федерация

Цель исследования – районирование территории Саратовской области с использованием показателей, влияющих на интенсивность эпидемических проявлений геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), и оценка риска заражения людей для дифференцированного подхода к организации противоэпидемических мероприятий в природных очагах. **Материалы и методы.** При вычислении интенсивности эпидемических проявлений ГЛПС по административно-территориальным образованиям (АТО) области выбраны показатели, в наибольшей степени влияющие на риск заражения: интенсивный показатель заболеваемости населения, показатель инфицированности носителей вирусом ГЛПС, количество рекреационных объектов, показатель лесистости. В работе проанализированы персонализированные данные заболевших ГЛПС, результаты эпизоотологического мониторинга, использованы сведения о рекреационных объектах и лесном фонде Саратовской области. Вся информация рассмотрена за период 2010–2022 гг. по каждому из административных районов области и г. Саратову. Для вычисления интенсивности эпидемических проявлений применен метод размерности и десятичный логарифм. **Результаты и обсуждение.** В результате расчетов к территориям с наивысшей интенсивностью эпидемических проявлений и риском заражения ГЛПС отнесены 8 АТО области, с высокой интенсивностью – 9, средней – 10 и низкой – 12. Эпидемиологический геоинформационный анализ позволил установить, что территории с наивысшей интенсивностью эпидемических проявлений ГЛПС занимают 15,8 % площади области, высокой – 23,8 %, средней – 28,5 %, низкой – 31,9 %. По итогам исследования выделены 16 районов области и г. Саратов как наиболее опасные в плане заражения ГЛПС. Именно эти территории в первую очередь нуждаются в целенаправленном эпизоотологическом мониторинге для заблаговременной и эффективной организации профилактической работы.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, районирование, интенсивность эпидемических проявлений, территория эпидемиологического риска, Саратовская область.

Корреспондирующий автор: Чумачкова Елена Арнольдовна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Чумачкова Е.А., Иванова А.В., Поршаков А.М., Вяткин И.Н., Форостяная М.В., Чумачков К.Я., Топорков В.П. Районирование территории Саратовской области по интенсивности эпидемических проявлений ГЛПС с использованием ГИС-анализа. Проблемы особо опасных инфекций. 2023; 3:156–163. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-156-163

Поступила 15.08.2023. Отправлена на доработку 06.09.2023. Принята к публ. 13.09.2023.

E.A. Chumachkova¹, A.V. Ivanova¹, A.M. Porshakov¹, I.N. Vyatkin², M.V. Forostyanaya²,
K.Ya. Chumachkov³, V.P. Toporkov¹

Zoning of the Territory of the Saratov Region by the Intensity of Epidemic Manifestations of HFRS using GIS Analysis

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

²Rospotrebnadzor Administration in the Saratov Region, Saratov, Russian Federation;

³National Research University “Higher School of Economics” (HSE University), Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to zone the territory of the Saratov Region using indicators that influence the intensity of epidemic manifestations of hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), and to assess the risk of infection of people for a differentiated approach to the organization of anti-epidemic measures in natural foci. **Materials and methods.** When calculating the intensity of epidemic manifestations of HFRS in the administrative-territorial units (ATUs) of the Region, the indicators that have the greatest impact on the risk of infection were selected: the intensive rate of morbidity among population, the rate of infection of carriers with the HFRS virus, the number of recreational facilities, and the forest cover rate. The paper presents personalized data of HFRS patients, the results of epizootiological monitoring, information about recreational facilities and the forest fund of the Saratov Region. All the data considered cover the period of 2010–2022 for each of the administrative districts of the Region and the city of Saratov. To calculate the intensity of epidemic manifestations, the dimension method and the decimal logarithm were used. **Results and discussion.** As a result of calculations, 8 ATU of the Regions have been classed as the territories with the highest intensity of epidemic manifestations and the risk of HFRS infection, with high intensity – 9, with medium – 10 and low – 12. Epidemiological geo-information analysis made it possible to establish that the territories with the highest intensity of epidemic manifestations of HFRS occupy 15.8 % of the area of the region, high – 23.8 %, medium – 28.5 %, low – 31.9 %. Based on the findings of the study, 16 districts of the Region and the city of Saratov were identified as the most dangerous in terms of HFRS infection. Namely these territories that primarily require targeted epizootiological monitoring for early and effective management of preventive activities.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome, zoning, intensity of epidemic manifestations, territory of epidemiological risk, Saratov Region.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Elena A. Chumachkova, e-mail: rusapi@microbe.ru.

Citation: Chumachkova E.A., Ivanova A.V., Porshakov A.M., Vyatkin I.N., Forostyanaya M.V., Chumachkov K.Ya., Toporkov V.P. Zoning of the Territory of the Saratov Region by the Intensity of Epidemic Manifestations of HFRS using GIS Analysis. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:156–163. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-156-163

Received 15.08.2023. Revised 06.09.2023. Accepted 13.09.2023.

Chumachkova E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9877-5258>

Ivanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4849-3866>

Porshakov A.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3363-765X>

Vyatkin I.N., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-9860-527X>

Chumachkov K.Ya., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0722-0615>

Toporkov V.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9512-7415>

В Российской Федерации геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) является наиболее распространенным природно-очаговым заболеванием вирусной этиологии и представляет собой острую внутреннюю угрозу санитарно-эпидемиологическому благополучию населения [1]. Для Саратовской области ГЛПС является актуальной проблемой, так же как и для всего Приволжского федерального округа (ПФО), территория которого в масштабах страны по уровню заболеваемости является наиболее опасной в плане заражения ГЛПС [2, 3].

Саратовская область признана территорией высокого уровня потенциальной эпидемической опасности заражения ГЛПС, несмотря на то, что средние многолетние (2010–2022 гг.) показатели заболеваемости ГЛПС в субъекте (15,43 на 100 тыс. населения) ниже показателей ПФО (19,22 на 100 тыс. населения) [4]. Наиболее сложная эпидемическая ситуация по ГЛПС в Саратовской области отмечена за последние тринадцать лет (2010–2022 гг.). Удельный вес заболевших в этот период составил 44,4 % от всех случаев с начала регистрации заболевания на территории области (с 1964 г.). За анализируемый период зафиксированы две крупные вспышки ГЛПС: в 2014 г. (44,89 на 100 тыс. населения) и 2019 г. (110,02) – с общим числом заболевших, превышающим 3 тыс. человек (рис. 1) [5].

За анализируемый период случаи болезни регистрировали в 35 из 38 административных районов

области, при этом отмечалось неравномерное территориальное распределение заболеваемости ГЛПС. Наибольшее количество заболевших выявлено в густо озелененных правобережных районах, в ландшафтных зонах лесостепи и степи, наименьшее – в районах Левобережья в ландшафтной зоне сухой степи. Различия в интенсивности эпидемических проявлений ГЛПС объясняются разнородностью районов по характеристикам, определяющим оптимальные условия для обитания основного носителя ГЛПС – рыжей полевки (наличие лесов, сезонные колебания максимальных и минимальных температур окружающей среды, состояние кормовой базы и др.) [6–8].

Ежегодная регистрация случаев заболевания ГЛПС в области определяет необходимость применения подхода к эпидемиологическому надзору с позиций оценки эпидемиологического риска отдельных районов. Полноценный эпидемиологический надзор за природно-очаговыми болезнями основывается на анализе текущей эпидемиологической обстановки и особенностях эпидемических и эпизоотических проявлений в прошлом. Это может быть достигнуто только при использовании полной и детальной информации о дислокации, размерах и структуре очагов, их эколого-эпизоотологических характеристиках [9]. При исследовании пространственной распространенности природно-очаговых болезней в настоящее время широко используется метод районирования территории, который позво-

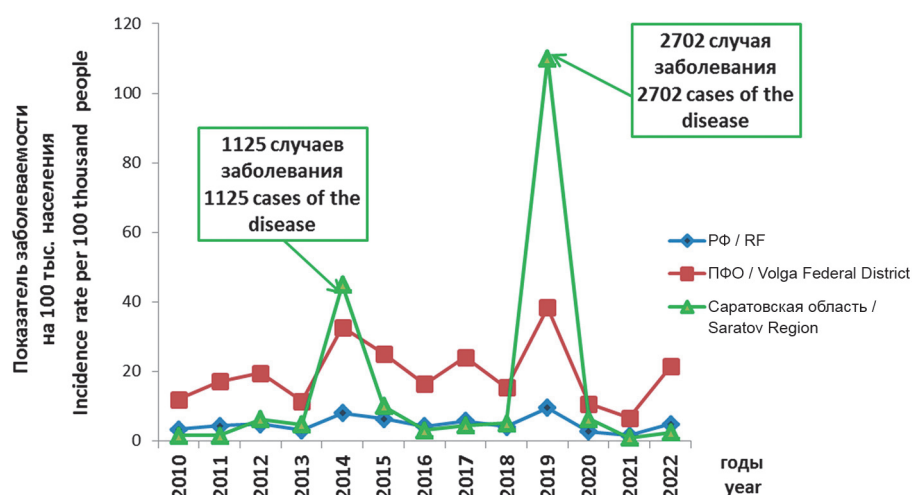


Рис. 1. Сравнительная динамика заболеваемости ГЛПС (на 100 тыс. населения) в Российской Федерации, Приволжском федеральном округе и Саратовской области в 2010–2022 гг.

Fig. 1. Comparative dynamics of the HFRS incidence (per 100 thousand population) in the Russian Federation, the Volga Federal District and the Saratov Region in 2010–2022

ляет получить представление о территории риска [10, 11]. Районирование территории по интенсивности эпидемических проявлений с применением возможностей современных геоинформационных технологий позволит наглядно представить информацию и воспроизвести топографические различия картографируемых явлений, установить вероятные причины этих различий [12].

Целью работы является районирование территории Саратовской области с использованием показателей, влияющих на интенсивность эпидемических проявлений, и оценка риска заражения людей ГЛПС в современных условиях для дифференцированного подхода к организации противоэпидемических (профилактических) мероприятий в природных очагах.

Материалы и методы

В работе использованы материалы, предоставленные Управлением Роспотребнадзора по Саратовской области: данные статистической отчетности (архивные материалы) по административно-территориальным образованиям (АТО) области, результаты эпидемиологического расследования каждого случая заболевания ГЛПС (персонифицированные данные заболевших), сведения о рекреационных объектах. Проанализированы результаты эпизоотологического мониторинга, проведенного специалистами ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области» за период 2010–2022 гг., сгруппированные в базу данных «Эпидемические проявления геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Саратовской области».

Проведен анализ персонифицированных данных о физических лицах (4885 человек), которым в 2010–2022 гг. поставлен окончательный диагноз «ГЛПС». При обработке персонифицированных данных соблюдены требования Федерального закона от 27.07.2006 № 152-ФЗ «О персональных данных» и использованы исключительно обезличенные сведения, которые не позволяют в архивной базе определить принадлежность к конкретному субъекту без использования дополнительной информации. Наиболее значимой по каждому случаю заболевания явилась информация о месте предполагаемого заражения, которое определялось точными географическими координатами, полученными путем геокодирования. При определении места предполагаемого заражения учитывался факт нахождения заболевшего на территории природного очага, при невозможности установления места заражения – адрес, по которому проживал заболевший, где и могло произойти инфицирование ГЛПС.

Данные эпизоотологического мониторинга включали информацию о собранном полевом материале по 28 районам Саратовской области и зеленой зоне г. Саратова. Объем данных составил 1073 объекта и содержал информацию по 21 виду мелких

млекопитающих, а также результаты лабораторных исследований на хантавирусы. Раздел эпизоотологических данных позволил определить территориальную неоднородность популяции животных – носителей хантавируса и оценить роль того или иного вида в формировании пространственной структуры природного очага благодаря внесению точной геолокации места отлова, установленной по электронным устройствам в момент сбора полевого материала. Однако из-за недостатка данных, связанного с отсутствием сплошного эпизоотологического мониторинга в области, нами применен метод экстраполяции значений инфицированности грызунов из районов, где подобные исследования проводились, на искомые районы, где статус эпизоотической активности не установлен. Построение логико-методологических выводов о предполагаемой эпизоотической обстановке в том или ином районе проводилось с учетом ландшафтно-экологических условий, принимая во внимание значения в равнозначных ландшафтных зонах Саратовской области (лесостепь, степь, сухая степь, полупустыня).

В исследовании использован показатель лесистости, который определен отношением покрытой лесом площади к общей площади АТО и выражен в процентах. Показатель по каждому из районов рассчитан с использованием данных о площади лесного фонда (постановление Губернатора Саратовской области от 29.12.2018 № 590 «Об утверждении Лесного плана Саратовской области на 2019–2028 годы»).

Для расчета интенсивности эпидемических проявлений (F) применен метод размерности, который предполагает, что каждый из выбранных показателей будет иметь положительную корреляционную связь с риском заражения ГЛПС. Для вычисления использована следующая формула:

$$F = A \cdot B \cdot C \cdot D, \quad (1)$$

где A – интенсивный показатель заболеваемости (на 100 тыс. населения); B – лесистость территории (%); C – инфицированность носителей вирусом ГЛПС (%); D – количество рекреационных объектов (ед.).

Далее для приведения значений вычислений (1) к виду, удобному для сравнения, взят логарифм с основанием 10 от полученной величины. Итак,

$$F' = \log_{10} (A \cdot B \cdot C \cdot D). \quad (2)$$

Подобный способ математического преобразования в данном случае является оптимальным, поскольку логарифм удобен для расчетов и не меняет корреляции (чем больше величина, тем больше логарифм, и наоборот).

Картографической основой для визуализации результатов районирования послужила цифровая карта с административно-территориальными границами районов Саратовской области.

Результаты и обсуждение

Для оценки территориальной неравномерности по интенсивности эпидемических проявлений определены параметры, которые, по нашему мнению, в наибольшей степени влияют на риск заражения ГЛПС. К таковым мы отнесли относительный показатель заболеваемости ГЛПС (на 100 тыс. населения), инфицированность носителей возбудителем ГЛПС, показатель лесистости территории, количество рекреационных объектов. Наиболее значимым проявлением эпидемиологического неблагополучия является уровень заболеваемости населения ГЛПС. Ретроспективные данные по заболеваемости ГЛПС в совокупности с данными эпидемиологического анамнеза о месте предполагаемого заражения наиболее достоверно свидетельствуют о наличии природного очага на той или иной территории. Изучение степени интенсивности проявлений ГЛПС на современном этапе (2010–2022 гг.) позволило выявить значительные различия по АТО Саратовской области, расположенным в различных ландшафтах. В результате вычислений среднего тринадцатилетнего показателя заболеваемости ГЛПС для каждого АТО выделены территории с высоким (11), средним (9), низким (16) уровнем заболеваемости, а также территории (3), свободные от эпидемических проявлений ГЛПС. В регионе эпидемические проявления ГЛПС высокой и средней интенсивности приурочены к районам с ландшафтами лесостепи и степи Правобережья (24 и 23 % территории области соответственно) [13]. Территории с низкой интенсивностью эпидемических проявлений ГЛПС, занимающие свыше 45 % территории области, расположены в районах с ландшафтами в основном сухой степи (11 АТО), в меньшей степени – степи (2), лесостепи (1) и полупустыни (2).

Заболевание человека в природных очагах ГЛПС – это результат вовлечения его в эпизоотический процесс. Учитывая, что наибольшее влияние на интенсивность эпидемических проявлений ГЛПС оказывает уровень эпизоотической напряженности, при анализе природно-очаговых территорий важным является показатель инфицированности носителей возбудителем ГЛПС [14]. Кроме того, значительное влияние на интенсивность эпидемических проявлений оказывают ландшафтные факторы, определяющие условия обитания носителей возбудителей ГЛПС [15]. В связи с тем, что широколиственные леса являются оптимальным местом обитания рыжей полевки, которой придается наибольшее эпидемиологическое значение в распространении ГЛПС в Саратовской области, в своем анализе мы выбрали показатель лесистости территории [16].

Территорией риска заражения ГЛПС могут служить как густо озелененные населенные пункты области, так и определенные микроучастки за их пределами, часто посещаемые населением. В пределах ареала обитания носителей возбудителей ГЛПС, преимущественно в лесных массивах, на побережьях

рек, озер и водохранилищ области, располагаются объекты, предназначенные для туризма, отдыха и восстановительного лечения. Таким образом, массовое пребывание населения в рекреационных объектах, расположенных на территории природного очага, при несоблюдении в ходе эксплуатации противоэпидемических мер может оказывать существенное влияние на интенсивность эпидемического процесса ГЛПС. При проведении районирования учитывались эпидемиологические риски заражения ГЛПС, связанные с пребыванием населения в местах организованного и неорганизованного отдыха (санатории, дома отдыха, детские оздоровительные учреждения, туристические базы, кемпинги и т.д.), общее количество рекреационных объектов по районам области.

Таким образом, все выбранные параметры ассоциированы причинно-следственными связями с закономерностями возникновения, распространения и интенсивности эпидемических проявлений ГЛПС на той или иной территории. Единицей анализа выбраны АТО области, включающие 38 районов и областной центр – г. Саратов, в границах которых проводился сбор и анализ данных. Показатели рассчитаны по АТО и представляют собой среднее многолетнее значение за тринадцатилетний период (2010–2022 гг.) (табл. 1).

Для ранжирования районов по степени интенсивности эпидемических проявлений ГЛПС проведены расчеты по формулам (1) и (2). При выстраивании в порядке увеличения результатов вычисления определены четыре ранга значений с интервалами в следующих диапазонах: 0–1,2 (1-й ранг); 1,3–2,4 (2-й ранг); 2,5–3,7 (3-й ранг); 3,8–5 (4-й ранг) (табл. 2).

В результате ранжирования выделены территории с наивысшей интенсивностью эпидемических проявлений ГЛПС (4-й ранг) – 8 АТО области, с высокой интенсивностью (3-й ранг) – 9, средней (2-й ранг) – 10 и низкой (1-й ранг) – 12. Для визуализации полученных результатов районирования ранговые значения по каждому АТО представлены на административной карте области в виде цветовой маркировки (рис. 2).

Эпидемиологический геоинформационный анализ показал, что доля территорий с наивысшей интенсивностью эпидемических проявлений ГЛПС составляет 15,8 % от общей площади Саратовской области, высокой – 23,8 %, средней – 24,5 %, низкой – 35,9 %. Хотя площадь территорий с наивысшим и высоким рисками заражения составляет менее половины площади области (39,6 %), общее число случаев ГЛПС в 2010–2022 гг. на этих участках достигло 3932, или 92,8 % от всех заражений ГЛПС в области. Высокие риски заражения ГЛПС в Саратовской области во многом определяются степенью урбанизации энзоотичных по ГЛПС территорий, формированием эпидемически активных природных очагов ГЛПС прежде всего в зеленых зонах крупных городов (например, в г. Саратове).

Таблица 1 / Table 1

Значение показателей для расчета интенсивности эпидемических проявлений по АТО Саратовской области
The importance of indicators for calculating the intensity of epidemic manifestations in the administrative-territorial units (ATUs) of the Saratov Region

№ АТО No. ATU	АТО Саратовской области (район, город) ATUs of the Saratov Region (district, city)	Интенсивный показатель заболеваемости (на 100 тыс. населения) (А) Intensive incidence rate (per 100 thousand population) (A)	Лесистость территории, % (В) Forest cover rate of the territory, % (B)	Инфицированность носителей ГЛПС, % (С) Infection rate among HFRS carriers, % (C)	Количество рекреационных объектов (D) Number of recreational facilities (D)
1	Александрово-Гайский / Aleksandrovo-Gaisky	0	0,33	0	5
2	Аркадакский / Arkadaksky	9,94	8,91	0,3	12
3	Аткарский / Atkarsky	35,73	9,94	7,5	5
4	Базарно-Карабулакский / Bazarno-Karabulaksky	18,26	19,89	10,4	3
5	Балаковский / Balakosky	0,82	4,48	0	9
6	Балашовский / Balashovsky	1,14	9,45	6,8	8
7	Балтайский / Baltaisky	12,92	24,75	5,8	0
8	Вольский / Volsky	6,61	23,06	1,3	5
9	Воскресенский / Voskresensky	76,25	21,10	3,8	6
10	Дергачевский / Dergachevsky	0,5	0,52	0,2	0
11	Духовницкий / Dukhovnitsky	2,37	4,10	3,1	0
12	Екатериновский / Ekaterinovsky	21,67	4,95	2,7	5
13	Ершовский / Ershovsky	2,03	0,42	0,9	2
14	Ивантеевский / Ivanteevsky	1,95	2,91	2,8	6
15	Калининский / Kalininsky	23,24	5,01	4,7	6
16	Красноармейский / Krasnoarmeisky	4,02	16,21	0	2
17	Краснокутский / Krasnokutsky	2,65	5,85	0,6	9
18	Краснопартизанский / Krasnopartizansky	0,81	1,43	1,4	5
19	Лысогорский / Lysogorsky	30,44	22,44	5,5	2
20	Марковский / Marksovsky	6,08	4,84	3,7	7
21	Новобурасский / Novoburassky	19,14	17,43	7,1	2
22	Новоузенский / Novouzensky	0	0,49	0	10
23	Озинский / Ozinsky	0,55	0,22	0,2	0
24	Перелюбский / Perelyubsky	0	0,79	0,5	8
25	Петровский / Petrovsky	33,06	9,42	0,2	1
26	Питерский / Pitsersky	0,56	0,33	0,3	1
27	Пугачевский / Pugachevsky	1,94	3,94	3,4	8
28	Ровенский / Rovensky	0,49	4,28	0,8	0
29	Романовский / Romanovsky	3,94	8,79	0	6
30	Ртищевский / Rtishchevsky	4,37	0,55	0,7	2
31	Самойловский / Samoilovsky	10,5	1,82	2,4	6
32	Саратовский / Saratovsky	99,43	11,99	6,8	7
33	Советский / Sovetsky	2,35	0,65	1,8	2
34	Татищевский / Tatishchevsky	113,83	22,49	4,9	2
35	Турковский / Turkovsky	3,83	6,57	1,9	0
36	Федоровский / Fedorovsky	0,48	0,81	0	0
37	Хвалынский / Khvalynsky	6,67	15,79	5,9	20
38	Энгельсский / Engelssky	4,29	3,35	4,6	35
39	Саратов / Saratov	18,1	2,23	20,6	46

Таким образом, несмотря на то, что вся территория Саратовской области является эндемичной по ГЛПС, по результатам районирования установлено, что риск заражения населения по АТО распределен неравномерно.

Поскольку основным тактическим приемом по снижению уровня заболеваемости ГЛПС в на-

стоящее время остается дератизация, при выборе приоритетности территорий, подлежащих обработкам, необходимо учитывать дифференциацию районов по интенсивности эпидемических проявлений ГЛПС. Районирование территории с использованием предложенной методики, основанной на возможностях современных геоинформационных технологий,

Таблица 2 / Table 2

Оценка интенсивности эпидемических проявлений ГЛПС по АТО Саратовской области
Assessment of the intensity of epidemic HFRS manifestations in the ATUs of the Saratov Region

Ранговое значение, определяющее интенсивность эпидемических проявлений ГЛПС Rank value that determines the intensity of epidemic HFRS manifestations	АТО Саратовской области (район, город) ATUs of the Saratov Region (district, city)	Значение произведения показателей интенсивности эпидемических проявлений, F (90 % ДИ) The value of the product of indicators of the intensity of epidemic manifestations, F (90 % CI)	Количественная оценка показателей интенсивности эпидемических проявлений, F' Quantitative assessment of indicators of the intensity of epidemic manifestations, F'
Низкая интенсивность эпидемических проявлений ГЛПС (1-й ранг) Low intensity of epidemic manifestations of HFRS (1st rank)	Озинский / Ozinsky	0,0 (0,0–0,1)	0,0
	Питерский / Pitsky	0,1 (0,0–0,7)	0,0
	Дергачевский / Dergachevsky	0,1 (0,0–0,2)	0,0
	Александрово-Гайский / Aleksandrovo-Gaisky	0,2 (0,0–0,8)	0,1
	Федоровский / Fedorovsky	0,4 (0,0–0,9)	0,1
	Ершовский / Ershovsky	1,5 (0,2–2,8)	0,4
	Ровенский / Rovensky	1,7 (0,0–3,7)	0,4
	Перелюбский / Perelyubsky	3,2 (2,1–4,3)	0,6
	Ртищевский / Rtishchevsky	3,4 (1,7–5,1)	0,6
	Новоузенский / Novouzensky	4,9 (3,3–6,5)	0,8
	Советский / Sovetsky	5,5 (3,0–8,0)	0,8
	Краснопартизанский / Krasnopartizansky	8,1 (0,0–30,6)	1,0
Средняя интенсивность эпидемических проявлений ГЛПС (2-й ранг) Medium intensity of epidemic manifestations of HFRS (2nd rank)	Духовницкий / Dukhovnitsky	30,1 (4,1–56,1)	1,5
	Балаковский / Balakovsky	33,1 (19,8–46,4)	1,5
	Турковский / Turkovsky	47,8 (5,5–91,1)	1,7
	Петровский / Petrovsky	62,3 (61,0–63,6)	1,8
	Краснокутский / Krasnokutsky	83,8 (0,0–234,5)	1,9
	Ивантеевский / Ivanteevsky	95,5 (44,0–147,0)	2,0
	Красноармейский / Krasnoarmeisky	130,3 (119,2–141,1)	2,1
	Романовский / Romanovsky	207,9 (0,0–420,7)	2,3
	Пугачевский / Pugachevsky	208,0 (99,1–316,9)	2,3
	Самойловский / Samoilovsky	274,5 (0,0–892,4)	2,4
Высокая интенсивность эпидемических проявлений ГЛПС (3-й ранг) High intensity of epidemic manifestations of HFRS (3rd rank)	Аркадакский / Arkadasky	318,7 (191,2–446,2)	2,5
	Балашовский / Balashovsky	586,0 (250,4–921,6)	2,8
	Марковский / Marksovsky	761,4 (208,0–1314,8)	2,9
	Вольский / Volsky	990,9 (615,4–1366,4)	3,0
	Екатериновский / Ekaterinovsky	1446,9 (1257,1–1636,7)	3,2
	Балтайский / Baltaisky	1854,3 (1260,7–2447,9)	3,3
	Энгельсский / Engelssky	2313,2 (0,0–4837,1)	3,4
	Калининский / Kalininsky	3282,8 (2628,7–3936,9)	3,5
	Новобурасский / Novoburassky	4737,8 (2415,7–7059,9)	3,7
Наивысшая интенсивность эпидемических проявлений ГЛПС (4-й ранг) The highest intensity of epidemic manifestations of HFRS (4th rank)	Лысогорский / Lysogorsky	7515,4 (5029,7–10001,1)	3,9
	Базарно-Карабулакский / Bazarno-Karabulaksky	11332,2 (8722,4–13942,0)	4,1
	Хвалынский / Khvalynsky	12424,6 (5845,8–19003,4)	4,1
	Аткарский / Atkarsky	13314,1 (10861,0–15767,2)	4,1
	Татищевский / Tatishchevsky	25083,5 (20945,5–29221,5)	4,4
	Воскресенский / Voskresensky	36677,8 (18277,9–45077,7)	4,6
	Саратов / Saratov	38274,5 (15142,2–61406,8)	4,6
	Саратовский / Saratovsky	56765,4 (54646,0–58884,8)	4,8

позволило определить различную интенсивность эпидемических проявлений ГЛПС в Саратовской области. По итогам выполненной работы определены территории, наиболее опасные по риску инфицирования: 16 районов области (Аркадакский, Аткарский, Базарно-Карабулакский, Балашовский, Балтайский,

Вольский, Воскресенский, Екатериновский, Калининский, Лысогорский, Марковский, Новобурасский, Саратовский, Татищевский, Хвалынский, Энгельсский) и г. Саратов. Административно-территориальные образования с наивысшей и высокой интенсивностью эпидемических проявлений под-

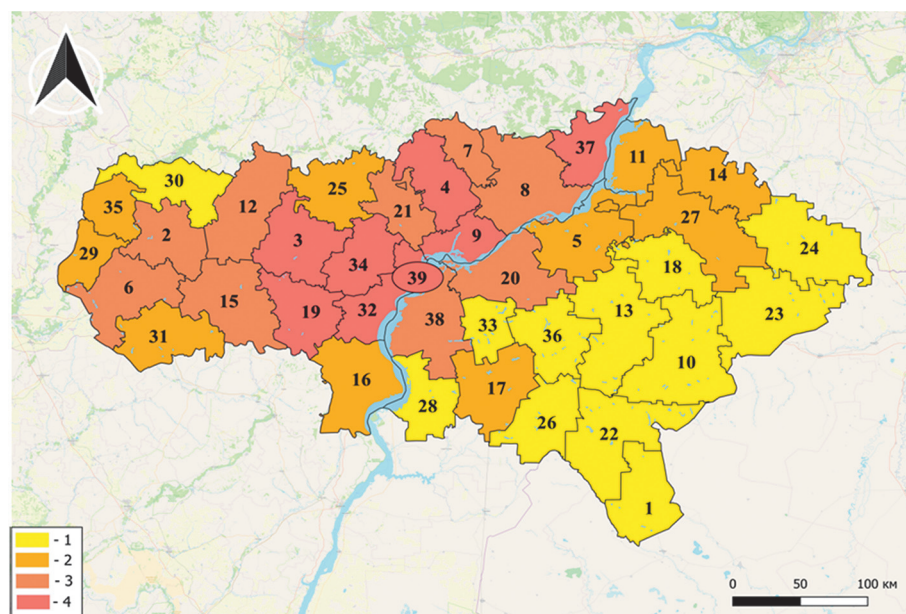


Рис. 2. Районирование АТО Саратовской области по интенсивности эпидемических проявлений ГЛПС:

1 – АТО с низкой интенсивностью; 2 – АТО со средней интенсивностью; 3 – АТО с высокой интенсивностью; 4 – АТО с наивысшей интенсивностью. АТО обозначены цифрами, которые соответствуют порядковому номеру в табл. 1

Fig. 2. Zoning of the ATUs of the Saratov Region by the intensity of epidemic manifestations of HFRS:

1 – ATUs with low intensity; 2 – ATUs with medium intensity; 3 – ATUs with high intensity; 4 – ATUs with the highest intensity. ATUs are indicated by numbers that correspond to the serial number in the Table 1

лежат в приоритетном порядке целенаправленному эпизоотологическому мониторингу для заблаговременного планирования и эффективного проведения профилактических работ, что позволит значительно снизить заболеваемость ГЛПС на территории Саратовской области.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. 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.Г., Транквилевский 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: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-23-34.
2. Бородин Ж.И., Царенко О.Е., Монахов К.М., Багаутдинова Л.И. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом – проблема современности. *Архивъ внутренней медицины*. 2019; 6:419–27. DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-6-419-427.
3. 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.
4. 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.
5. Иванова А.В., Сафронов В.А., Попов Н.В., Кожанова О.И., Матвеева Н.И., Крессова У.А., Чумачкова Е.А., Поспелов М.В., Архипова Г.Н., Вяткин И.Н., Щербакова 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.
6. Коротков В.Б., Наумов А.В., Самойлова Л.В. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом в Саратовской области (эпидемиологические аспекты). Саратов: Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб»; 1996. 127 с.

7. Тарасов М.А. Эколого-эпизоотологический мониторинг в очагах опасных зоонозных инфекционных болезней. Саратов; 2016. 355 с.

8. Чекашов В.Н., Захаров К.С., Магеррамов Ш.В., Селенина А.Г., Марцоха К.С., Шилов М.М., Слудский А.А., Ермаков Н.М., Корнеев М.Г., Толоконникова С.И., Тарасов М.А., Сонин В.К., Романов Р.А., Матросов А.Н., Попов Н.В. Экологические аспекты вспышки геморрагической лихорадки с почечным синдромом на территории Саратовской области. *Поволжский экологический журнал*. 2020; 3:353–66. DOI: 10.35885/1684-7318-2020-3-353-366.

9. Черкасский Б.Л., Амиреев С.А., Кноп А.Г. Эпидемиологический надзор за зоонозами. Алма-Ата: Наука КазССР; 1988. 159 с.

10. Yuan B., Liu R., Tang S. Assessing the transmissibility of epidemics involving epidemic zoning. *BMC Infect. Dis.* 2023; 23:242. DOI: 10.1186/s12879-023-08205-z.

11. Gilot B., Degeilh B., Pichot J., Doche B., Guiguen C. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* (*sensu lato*) in *Ixodes ricinus* (L.) populations in France, according to a phytogeological zoning of the territory. *Eur. J. Epidemiol.* 1996; 12(4):395–401. DOI: 10.1007/BF00145304.

12. Мажитова Г.З., Пашков С.В. Районирование территории Северо-Казахстанской области по степени потенциальной опасности проявления природно-очаговых заболеваний. *Региональные геосистемы*. 2021; 45(1):51–62. DOI: 10.18413/2712-7443-2021-45-1-51-62.

13. Федеральная служба государственной статистики. База данных показателей муниципальных образований. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.gks.ru/dbscripts/munst63/DBInet.cgi> (дата обращения 01.07.2023).

14. Слонова Р.А., Кушнарцева Т.В., Компанец Г.Г. Современные аспекты природной очаговости хантавирусной инфекции в Приморском крае. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2008; 2:5–9.

15. Бернштейн А.Д., Гавриловская И.Н., Апекина Н.С., Дзагурова Т.К., Ткаченко Е.А. Особенности природной очаговости хантавирусных зоонозов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; 2:5–13.

16. Матросов А.Н., Кузнецов А.А., Иванова А.В., Ермаков Н.М., Чумачкова Е.А., Толоконникова С.И., Крессова У.А., Тарасов М.А., Романов Р.А., Сонин В.К., Дзябко А.Н., Матвеева Н.И., Архипова Г.Н., Вяткин И.Н., Попов Н.В., Кожанова О.И. Профилактика заболеваний населения геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Саратовской области. *Дезинфекционное дело*. 2020; 4:59–70. DOI: 10.35411/2076-457X-2020-4-59-70.

References

1. 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 for study)]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika* [Epidemiology and Vaccinal

Prevention]. 2016; 15(3):23–34. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-23-34.

2. Borodina Zh.I., Tsarenko O.E., Monakhov K.M., Bagautdinova L.I. [Hemorrhagic fever with renal syndrome – a problem of today]. *Arkhiv Vnutrennei Meditsiny [Archives of Internal Medicine]*. 2019; (6):419–27. DOI: 10.20514/2226-6704-2019-9-6-419-427.

3. Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Isaeva G.S., Reshetnikova I.D., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Magerramov S.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. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-85-95.

4. Ivanova A.V., Safronov V.A., Popov N.V., Kuklev 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.

5. 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., Kutyrev 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.

6. Korotkov V.B., Naumov A.V., Samoilova L.V. [Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome in the Saratov Region (Epidemiological Aspects)]. Saratov: Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”; 1996. 127 p.

7. Tarasov M.A. [Ecological and Epidemiological Monitoring in Foci of Dangerous Zoonotic Infectious Diseases]. Saratov; 2016. 355 p.

8. Chekashov V.N., Zakharov K.S., Magerramov Sh.V., Selenina A.G., Martsokha K.S., Shilov M.M., Sludsky A.A., Ermakov N.M., Korneev M.G., Tolokonnikova S.I., Tarasov M.A., Sonin V.K., Romanov R.A., Matrosov A.N., Popov N.V. [Ecological aspects of an outbreak of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Saratov Region]. *Povolzhsky Ekologichesky Zhurnal [Volga-Region Ecological Journal]*. 2020; (3):353–66. DOI: 10.35885/1684-7318-2020-3-353-366.

9. Cherkassky B.L., Amireev S.A., Knop A.G. [Epidemiological Surveillance over Zoonoses]. Alma-Ata: Science of the KazSSR; 1988. 159 p.

10. Yuan B., Liu R., Tang S. Assessing the transmissibility of epidemics involving epidemic zoning. *BMC Infect. Dis.* 2023; 23:242. DOI: 10.1186/s12879-023-08205-z.

11. Gilot B., Degeilh B., Pichot J., Doche B., Guiguen C. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* (sensu lato) in *Ixodes ricinus* (L.) populations in France, according to a phytoecological zoning of the

territory. *Eur. J. Epidemiol.* 1996; 12(4):395–401. DOI: 10.1007/BF00145304.

12. Mazhitova G.Z., Pashkov S.V. [Zoning of the territory of the North Kazakhstan region by the degree of potential hazard of natural focal diseases]. *Regional'nye Geosistemy [Regional Geosystems]*. 2021; 45(1):51–62. DOI: 10.18413/2712-7443-2021-45-1-51-62.

13. Federal State Statistics Service. Database of indicators of municipalities. (Cited 07 Jan 2023). [Internet]. Available from: <https://www.gks.ru/dbscripts/munst/munst63/DBInet.cgi>.

14. Slonova R.A., Kushnareva T.V., Kompanets G.G. [Modern aspects of the natural focalities of Hantavirus infection in the Primorsky Territory]. *Tikhookeansky Meditsinsky Zhurnal [Pacific Medical Journal]*. 2008; (2):5–9.

15. Bernshtein A.D., Gavrilovskaya I.N., Apekina N.S., Dzagurova T.K., Tkachenko E.A. [Features of natural focalities of hantavirus zoonoses]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2010; (2):5–13.

16. Matrosov A.N., Kuznetsov A.A., Ivanova A.V., Ermakov N.M., Chumachkova E.A., Tolokonnikova S.I., Kresova U.A., Tarasov M.A., Romanov R.A., Sonin V.K., Dzyabko A.N., Matveeva N.I., Arkhipova G.N., Vyatkin I.N., Popov N.V., Kozhanova O.I. [Prevention of infection of the population with hemorrhagic fever with renal syndrome in the Saratov Region]. *Dezinfektsionnoye Delo [Disinfection Affairs]*. 2020; (4):59–70. DOI: 10.35411/2076-457X-2020-4-59-70.

Authors:

Chumachkova E.A., Ivanova A.V., Porshakov A.M., Toporkov V.P. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Vyatkin I.N., Forostyanaya M.V. Rospotrebnadzor Administration in the Saratov Region. 7, Volskaya St., Saratov, 410028, Russian Federation. E-mail: sarrpn@san.ru.

Chumachkov K.Ya. National Research University “Higher School of Economics” (HSE University). 11, Pokrovsky Blvrd., Moscow, 109028, Russian Federation.

Об авторах:

Чумачкова Е.А., Иванова А.В., Поршаков А.М., Чумачков К.Я., Топорков В.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Вяткин И.Н., Форостяная М.В. 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.

Чумачков К.Я. Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики». Российская Федерация, 109028, Москва, Покровский бульвар, 11.

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-164-167

УДК 616.932:615.371

О.В. Громова, С.А. Воробьева, О.А. Волох, О.Д. Клокова, Л.Ф. Ливанова, Н.И. Белякова,
Е.З. Попова, О.А. Лобовикова, И.В. Шульгина, И.Г. Швиденко, А.К. Никифоров

Изучение стабильности холерной химической вакцины в новой первичной упаковке

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

Вакцина холерная бивалентная химическая – единственный препарат для профилактики холеры, зарегистрированный в Российской Федерации. Вакцина выпускалась во флаконах стеклянных по 210 таблеток. В то же время современные тенденции диктуют необходимость производства препарата для удобства потребителя в различной фасовке и более практичной упаковке. **Цель** работы – исследование стабильности свойств иммунобиологического лекарственного препарата «Вакцина холерная бивалентная химическая» с измененной фасовкой и в новой первичной упаковке. **Материалы и методы.** При исследовании качества серий вакцины холерной бивалентной химической оценены физико-химические показатели, содержание формалина, специфическая активность и безопасность, аномальная токсичность, иммуногенность, микробиологическая чистота. Стабильность по показателю «специфическая активность» оценивали методом дот-иммуноанализа. **Результаты и обсуждение.** В результате выполнения данной работы экспериментально обосновано применение нескольких вариантов фасовки и новой первичной упаковки холерной вакцины. Установлена стабильность готового препарата вакцины в тесте «ускоренного старения» и при длительном хранении. Экспериментально показана возможность использования дот-иммуноанализа с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А, меченного коллоидным золотом, для мониторинга стабильности холерной вакцины.

Ключевые слова: холера, вакцина холерная бивалентная химическая, первичная упаковка, стабильность, фармакопейная статья предприятия.

Корреспондирующий автор: Громова Ольга Викторовна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Громова О.В., Воробьева С.А., Волох О.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Попова Е.З., Лобовикова О.А., Шульгина И.В., Швиденко И.Г., Никифоров А.К. Изучение стабильности холерной химической вакцины в новой первичной упаковке. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:164–167. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-164-167

Поступила 13.07.2023. Принята к публ. 31.07.2023.

O.V. Gromova, S.A. Vorob'eva, O.A. Volokh, O.D. Klokov, L.F. Livanova, N.I. Belyakova,
E.Z. Popova, O.A. Lobovikova, I.V. Shul'gina, I.G. Shvidenko, A.K. Nikiforov

Assessment of Stability of Chemical Cholera Vaccine in a New Primary Packaging

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

Abstract. The bivalent chemical cholera vaccine is the only drug for the prevention of cholera registered in the Russian Federation. The vaccine has been produced in glass bottles containing 210 tablets. At the same time, modern trends dictate the need to produce the drug in varying dispensing and more practical packaging for the convenience of the consumer. **The aim** of the work was to study the stability of the properties of the immunobiological medicinal product "Bivalent chemical cholera vaccine" with modified filling and in new primary packaging. **Materials and methods.** When studying the quality of bivalent chemical cholera vaccine batches, physicochemical parameters, formaldehyde content, specific activity and safety, abnormal toxicity, immunogenicity, and microbiological purity were assessed. Stability in terms of "specific activity" was evaluated using dot immunoassay. **Results and discussion.** As a result of this work, the use of several dispensing options and new primary packaging of cholera vaccine has been experimentally substantiated. The stability of the finished vaccine preparation has been established in the "accelerated aging" test and during long-term storage. The possibility of using dot immunoassay with a conjugate based on staphylococcal protein A, labeled with colloidal gold, to monitor the stability of cholera vaccine has been experimentally demonstrated.

Key words: cholera, bivalent chemical cholera vaccine, primary packaging, stability, pharmacopoeial monograph of the facility.

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

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Corresponding author: Olga V. Gromova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Gromova O.V., Vorob'eva S.A., Volokh O.A., Klokov O.D., Livanova L.F., Belyakova N.I., Popova E.Z., Lobovikova O.A., Shul'gina I.V., Shvidenko I.G., Nikiforov A.K. Assessment of Stability of Chemical Cholera Vaccine in a New Primary Packaging. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 3:164–167. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-164-167

Received 13.07.2023. Accepted 31.07.2023.

Gromova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0172-2964>
Vorob'eva S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3624-0850>
Volokh O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>
Klokov O.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7119-0516>
Livanova L.F., ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-4894-6794>

Belyakova N.I., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-1209-2769>
Popova E.Z., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6650-2300>
Lobovikova O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8085-2331>
Shul'gina I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5866-4091>
Nikiforov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1130-3504>

На территории Российской Федерации эпидемиологическая ситуация по холере характеризуется как стабильная и находится под постоянным контролем Роспотребнадзора [1]. В рамках действующей нормативно-правовой базы в России на системной основе проводится комплекс мероприятий, направленный на профилактику этой инфекции. Единственный препарат для профилактики холеры, зарегистрированный в Российской Федерации, – вакцина холерная бивалентная химическая, разработчиком и производителем которой является ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора [2].

Иммунобиологический лекарственный препарат (ИЛП) «Вакцина холерная бивалентная химическая», таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, представляет собой смесь холерогена-анатоксина (ХА) и О-антигенов (О-Аг), полученных из культур холерного вибриона сероваров Инаба и Огава [3, 4]. Вакцина холерная расфасована по 210 таблеток во флаконы стеклянные, укупоренные резиновыми пробками и завальцованные алюминиевыми колпачками (ПУ № Р N001465/01).

Стабильность – одна из важнейших характеристик лекарственного препарата [5], критерием которой служит сохранение качества препарата, т.е. соответствие требованиям, установленным нормативной документацией (НД). Стабильность иммунобиологического лекарственного препарата при хранении и транспортировании во многом зависит от химического состава и свойств материала первичной упаковки. Изменения качества и свойств ИЛП могут быть вызваны его взаимодействием с системой укупорки [6]. Упаковка должна предохранять препарат от воздействия света, температуры, влажности, газов и микробной контаминации, обеспечивать его сохранность в течение определенного срока. Изучение стабильности должно быть представлено для каждой индивидуальной дозировки, лекарственной формы, типа и вместимости упаковки лекарственного препарата.

Ранее нами показана возможность оценки специфической активности готовой лекарственной формы вакцины и ее специфических компонентов методом дот-иммуноанализа с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А, меченного коллоидным золотом (ДИА ЗНЧ) [7, 8]. ДИА ЗНЧ показал высокую степень корреляции с методами, установленными НД. В связи с этим представляется перспективным его применение для оценки стабильности по показателю «специфическая активность» холерной вакцины.

Цель работы – исследование стабильности свойств ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая» с измененной фасовкой и в новой первичной упаковке.

Материалы и методы

Объект исследования – ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая», таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, серия 5 (коммерческая), дата выпуска – май 2016 г.; серии 09–011, 012–014, 015–017 (экспериментальные), дата выпуска – май 2016 г.

Изучение стабильности образцов препарата проводили методом «ускоренного старения» в течение 29 дней при температуре наблюдения $(49,5 \pm 1)^\circ\text{C}$. Для расчета экспериментального срока хранения использовали действующую на момент исследования общую фармакопейную статью ОФС.1.1.0009.15. В процессе хранения в течение срока годности в новой первичной упаковке и новом варианте фасовки изучали сохранение свойств препарата в условиях, установленных НД ([9] и МУК 4.1/4.2.588-96. Методы контроля медицинских иммунобиологических препаратов, вводимых людям). Оценку стабильности препарата проводили по показателям качества, включенным в спецификацию ФС П N001465/01, а также методом ДИА ЗНЧ [7]. В работе использовали стандартные образцы предприятия (СОП) «Сыворотка антихолерогенная кроличья» (АХС) и «Тест-токсин холерный». Содержание в таблетке вакцины О-антигена штаммов холерного вибриона О1 определяли в реакции непрямой гемагглютинации с «Сывороткой диагностической холерной О1 адсорбированной сухой для реакции агглютинации (РА)» по ТУ 8938-009-01898109-2007 (ФСР 2007/00468) производства Российского противочумного института «Микроб».

Результаты и обсуждение

Упаковка холерной химической вакцины в соответствии с производственной документацией производителя являлась многостадийным процессом, включающим подготовку и стерилизацию флаконов стеклянных, пробок резиновых и колпачков алюминиевых, фасовку таблеток в стерильные флаконы по 210 штук, подготовку полуавтомата для закатки алюминиевых колпачков, герметизацию флаконов резиновыми пробками и алюминиевыми колпачками. Изменение фасовки, а именно уменьшение единиц лекарственной формы до 150, 60, 30 таблеток в первичной упаковке является более удобным для производителей, поставщиков и потребителей. Для вариантов фасовки по 30 и 60 таблеток производителем предложена к применению упаковка с защитой от несанкционированного вскрытия (упаковка с контролем первого вскрытия), представляющая собой банку полимерную с крышкой.

Для обоснования возможности применения новой первичной упаковки проведены испытания ста-

бильности методом «ускоренного старения» с целью подтверждения срока годности лекарственного средства согласно ОФС.1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств», действующей на момент исследования.

Перед началом испытания проводили анализ лекарственного препарата по всем показателям качества. При изучении стабильности проведена сравнительная оценка показателей качества экспериментальных серий 09, 010, 011, расфасованных в новую первичную упаковку – банки полимерные для лекарственных средств с крышкой контроля первого вскрытия по ТУ 9464-002-95202676-2011 (ФСР 2011/12301), и коммерческой серии 5, упакованной во флаконы стеклянные, укупоренные резиновыми пробками и завальцованные алюминиевыми колпачками в соответствии с ФСР Р N001465/01-220708.

В ходе исследований стабильности установлено, что все показатели качества экспериментальных серий 09, 010, 011 ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая», таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, выпущенных в новой первичной упаковке, соответствовали требованиям ФСР Р N001465/01-220708, изм. 1, 2. Методом ДИА ЗНЧ проведена оценка стабильности по показателю «специфическая активность» данных серий готового препарата. Установлено сохранение титров активности после ускоренного старения в новой первичной упаковке серии 09, 010, 011. Показатели специфической активности составили (1280 ± 64) (серия 09), (1024 ± 64) (серия 010), (1280 ± 64) (серия 011) с «Сывороткой диагностической холерной О1 адсорбированной сухой для реакции агглютинации» и (1024 ± 48) (серия 09), (640 ± 48) (серия 010), (1024 ± 48) (серия 011) с «Сывороткой антихолерогенной кроличьей».

Таким образом, использование новой первичной упаковки – банки полимерной с крышкой контроля первого вскрытия – не влияет на качество ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая», таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой.

Далее изучена стабильность свойств холерной вакцины в процессе хранения в течение срока годности в новой первичной упаковке и новом варианте фасовки. Сформированы экспериментальные серии вакцины 012–014 (в полимерных банках по 30 таблеток) и 015–017 (в стеклянных флаконах по 150 таблеток). Хранение образцов коммерческой серии 5 и экспериментальных серий 009–017 ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая», таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой, проводили при температуре от 2 до 8 °С (ФСР Р N001465/01-220708, изм. 1, 2, проект изм. 3) в течение срока годности (3 года). Контроль свойств образцов ИЛП на соответствие требованиям ФСР Р N001465/01-220708 проводили каждые полгода в течение трех лет.

В результате исследования выявлено, что вышеприведенные виды первичных упаковок обеспечивают стабильность таких качественных показателей препарата, как внешний вид, подлинность, прочность, распадаемость, растворимость, а также количественное содержание действующего вещества. Методом ДИА ЗНЧ установлена стабильность по показателю «специфическая активность» при хранении образцов коммерческой серии 5 и экспериментальных серий 009–017 вакцины в течение срока годности.

Таким образом, в результате проведенной работы доказана стабильность свойств ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая», серий 012–017, в полимерных банках и традиционной стеклянной таре (по 150 таблеток) в течение срока наблюдения (3 года). Установлено, что хранение экспериментальных серий 012–014 вакцины холерной в новой первичной упаковке не привело к изменению качества препарата в течение срока наблюдения (3 года), что согласуется с результатами теста «ускоренного старения» на примере образцов серий 09–011. Установлена возможность использования нового методического подхода на основе дот-иммуноанализа с использованием конъюгата на основе стафилококкового белка А, меченного коллоидным золотом, для мониторинга стабильности готовой лекарственной формы вакцины по показателю «специфическая активность».

Внедрена новая упаковка (пластиковые банки) и фасовка по 30, 60, 150, 210 таблеток ИЛП «Вакцина холерная бивалентная химическая». По итогам проведенной работы внесены изменения в нормативную документацию на холерную химическую вакцину (ФСР Р N001465/01-220708, изм. № 3, Р N001465/01-030718), с 2020 г. начался выпуск вакцины в фасовке по 150 таблеток, с 2021 г. – в фасовке по 30 таблеток. В настоящее время проводится долгосрочный контроль стабильности свойств вакцины.

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

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Список литературы

1. 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.
2. Горяев А.А., Саяпина Л.В., Обухов Ю.И., Бондарев В.П. Эффективность и безопасность вакцин для профилактики холеры. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018; 18(1):42–9. DOI: 10.30895/2221-996X-2018-18-1-42-49.
3. Джапаридзе М.Н., Никитина Г.П., Иванов Н.Р., Рысцова Е.А., Удалова И.Б., Караева Л.Т., Попов А.А., Наумов А.В., Коткина Т.А., Тропина Г.В., Павлова Л.П. Биохимическая и иммунохимическая характеристика новой оральной холерной бивалентной вакцины и результаты испытания препарата на добровольцах. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1982; 11:29–33.

4. Сумароков А.А., Джапаридзе М.Н., Резников Ю.Б., Рысцова Е.А., Матусевич Л.Я., Никитина Г.П., Плотникова М.Н., Шустов В.Я., Королев В.В., Елисеев Ю.Ю., Дробышева Т.М., Адамова Г.В., Мелешченко М.В., Коваленко Н.М., Коткина Т.А., Громова О.В. Реактогенность и иммунологическая эффективность новой оральной холерной химической бивалентной вакцины в ограниченном контролируемом опыте ревакцинации людей. *Проблемы особо опасных инфекций*. 1993; 1-2:143-8.

5. Беланова А.И., Ковалева Е.Л., Митькина Л.И. Сравнение подходов к изучению стабильности лекарственных средств в рамках национальной процедуры в России и Евразийском экономическом союзе. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021; 11(1):16-23. DOI: 10.30895/1991-2919-2021-11-1-16-23.

6. Прокопов И.А., Ковалева Е.Л., Митькина Л.И., Шаназаров К.С. Вопросы стабильности лекарственных средств в взаимосвязи с первичной упаковкой. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2014; 4:198-202.

7. Воробьева С.А., Дуракова О.С., Волох О.А., Громова О.В. Возможность определения специфической активности О-АГ в производстве холерной химической вакцины с помощью дот-анализа. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология*. 2018; 18(3):318-9. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319.

8. Дуракова О.С., Громова О.В., Киреев М.Н., Воробьева С.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Волох О.А. Применение дот-иммуноанализа для определения специфической активности антигенов в производстве холерной вакцины. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2018; 14(4):10-3.

9. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.; 2018.

References

1. 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., Podoynitsyna 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. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-56-66.

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

3. Dzharidze M.N., Nikitina G.P., Ivanov N.R., Rystsova E.A., Udalova I.B., Karaeva L.T., Popov A.A., Naumov A.V., Kotkina T.A., Tropina G.V., Pavlova L.P. [Biochemical and immunological characteristics of the new oral bivalent cholera vaccine and

the results of testing the drug on volunteers]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 1982; (11):29-33.

4. Sumarokov A.A., Dzharidze M.N., Reznikov Yu.B., Rystsova E.A., Matusevich L.Ya., Nikitina G.P., Plotnikova M.N., Shustov V.Ya., Korolev V.V., Eliseev Yu.Yu., Drobysheva T.M., Adamova G.V., Meleshchenko M.V., Kovalenko N.M., Kotkina T.A., Gromova O.V. [Reactogenicity and immunological efficacy of new oral chemical bivalent cholera vaccine in a limited controlled human revaccination trial]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 1993; (1-2):143-8.

5. Belanova A.I., Kovaleva E.L., Mit'kina L.I. [Comparison of approaches to studying the stability of drugs within the framework of the national procedure in Russia and the Eurasian Economic Union]. *Vedomosti Nauchnogo Tsentra Ekspertizy Sredstv Meditsinskogo Primeneniya [Bulletin of the Scientific Center for Expertise of Medical Products]*. 2021; 11(1):16-23. DOI: 10.30895/1991-2919-2021-11-1-16-23.

6. Prokopov I.A., Kovaleva E.L., Mit'kina L.I., Shanazarov K.S. [Issues of drug stability, relation to primary packaging]. *Razrabotka i Registratsiya Lekarstvennykh Sredstv [Development and Registration of Medicines]*. 2014; (4):198-202.

7. Vorob'eva S.A., Durakova O.S., Volokh O.A., Gromova O.V. [Possibility of determining the specific activity of O-AG in the production of cholera chemical vaccine using dot immunoassay]. *Izvestiya Saratovskogo Universiteta. Novaya Seriya. Seriya Khimiya. Biologiya. Ekologiya [Bulletin of the Saratov University. New Series. Chemistry. Biology. Ecology Series]*. 2018; 18(3):318-9. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319.

8. Durakova O.S., Gromova O.V., Kireev M.N., Vorob'eva S.A., Klokova O.D., Livanova L.F., Belyakova N.I., Volokh O.A. [Application of dot immunoassay to determine the specific activity of antigens in the production of cholera vaccine]. *Vestnik Biokhologii i Fiziko-Khimicheskoy Biologii im. Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after. Yu.A. Ovchinnikov]*. 2018; 14(4):10-3.

9. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. Moscow; 2018.

Authors:

Gromova O.V., Vorob'eva S.A., Volokh O.A., Klokova O.D., Livanova L.F., Belyakova N.I., Popova E.Z., Lobovikova O.A., Shul'gina I.V., Shvidenko I.G., Nikiforov A.K. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Громова О.В., Воробьева С.А., Волох О.А., Клокова О.Д., Ливанова Л.Ф., Белякова Н.И., Попова Е.З., Лобовикова О.А., Шульгина И.В., Швиденко И.Г., Никифоров А.К. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

К юбилею Владимира Петровича Сергиева

31 июля 2023 г. исполнилось 80 лет известному российскому ученому, эпидемиологу и паразитологу, академику РАН Владимиру Петровичу Сергиеву, члену редакционного совета журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

Владимир Петрович внес большой вклад в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия нашей страны: он стоял у истоков борьбы со СПИДом в Российской Федерации, участвовал в мировой кампании по ликвидации полиомиелита, возглавляя Государственную независимую комиссию, которая подтвердила отсутствие этого заболевания в России. Почти 30 лет В.П. Сергиев руководил Институтом медицинской паразитологии и тропической медицины им. Е.И. Марциновского. В.П. Сергиевым создана научная школа эпидемиологов и паразитологов, под его руководством подготовлено более 20 кандидатов и докторов наук. Его



монографии и руководства вошли в золотой фонд научной медицинской литературы, за «Атлас клинической паразитологии и тропической медицины» В.П. Сергиев награжден Премией им. К.И. Скрябина. Плодотворный и самоотверженный труд Владимира Петровича по заслугам высоко оценен Родиной: он удостоен почетного звания «Заслуженный деятель науки Российской Федерации», дважды награжден премиями Правительства Российской Федерации, орденом Почета, орденом Дружбы, медалью «За трудовую доблесть».

Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Владимира Петровича Сергиева с юбилеем и желают ему новых свершений на благо отечественной науки и здравоохранения, здоровья и благополучия!

К юбилею Георгия Борисовича Смирнова

28 сентября 2023 г. исполняется 80 лет российскому ученому, микробиологу и генетику, члену-корреспонденту РАН Георгию Борисовичу Смирнову.

Более полувека своей жизни Георгий Борисович посвятил генетике микроорганизмов. После защиты докторской диссертации он возглавил новую лабораторию молекулярной генетики плазмид в Институте эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи. В НИИЭМ Г.Б. Смирнов организовал научный семинар «Молекулярная генетика патогенных микроорганизмов», где в течение ряда лет выступали ведущие ученые нашей страны. Г.Б. Смирнов стал также одним из основателей журнала «Молекулярная генетика, микробиология и вирусология», в редакцион-



ной коллегии которого он продолжает работать.

Георгий Борисович Смирнов внес существенный вклад в развитие генетических исследований возбудителей особо опасных инфекций в институте «Микроб». Нас связывает давнее сотрудничество – совместные исследовательские проекты, стажировки сотрудников института в лаборатории Г.Б. Смирнова, его участие в научных мероприятиях, организуемых институтом «Микроб».

Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Георгия Борисовича Смирнова с юбилеем и желают ему новых научных успехов, здоровья и благополучия!

К юбилею Лидии Васильевны Саяпиной

30 августа 2023 г. отметила юбилей член редакционной коллегии журнала «Проблемы особо опасных инфекций» доктор медицинских наук Лидия Васильевна Саяпина.

Лидия Васильевна – высококвалифицированный специалист в области разработки, контроля качества и внедрения лечебных, профилактических и диагностических препаратов против особо опасных инфекционных болезней. В настоящее время она применяет свой опыт и знания, работая в Центре экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов НЦЭСМП. Сфера ее научных интересов охватывает различные аспекты: это и разработка критериев оценки вакцинных штаммов и иммунитета у вакцинированных людей, и совершенствование технологии получения различных диагностических препаратов, оценка их чувствительности и эффективности.



За профессиональные достижения и безупречный труд Л.В. Саяпина отмечена ведомственными наградами.

С институтом «Микроб» Л.В. Саяпину связывают 30 лет трудовой деятельности в лаборатории ГИСК имени Л.А. Тарасевича, защита докторской диссертации, работа в диссертационном совете. И сегодня это сотрудничество продолжается в рамках Координационного научного совета и работы редакционной коллегии журнала «Проблемы особо опасных инфекций».

Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Лидию Васильевну Саяпину с юбилеем и желают ей больших творческих успехов, новых достижений, здоровья и благополучия!

К юбилею Николая Ивановича Брико

9 августа 2023 г. свой 70-летний юбилей отметил видный ученый-эпидемиолог академик РАН Николай Иванович Брико.

Николай Иванович является признанным авторитетом в области клинической эпидемиологии и доказательной медицины. Им внесен значительный вклад в изучение вакциноуправляемых и внутрибольничных инфекций. Н.И. Брико – талантливый педагог и научный руководитель, автор многих учебников, руководств, монографий, вошедших в золотой фонд научной медицинской литературы. С его участием подготовлен уникальный комплект междисциплинарных учебных материалов по инфекционным болезням и эпидемиологии. Научно-общественная деятельность Н.И. Брико многогранна: он является президентом НАСКИ, членом правления ВНПОЭМиП, главным



редактором одного из ведущих медицинских журналов – «Эпидемиология и вакцинопрофилактика». Плодотворный и самоотверженный труд Николая Ивановича по заслугам высоко оценен Родиной: он удостоен премии Правительства Российской Федерации в области образования, звания «Заслуженный деятель науки Российской Федерации», награжден медалью ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени, медалью «За заслуги перед отечественным здравоохранением».

Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Николая Ивановича Брико с юбилеем и желают ему новых научных успехов, талантливых учеников, здоровья и благополучия!

К юбилею Игоря Геннадиевича Карнаухова

4 июля 2023 г. исполнилось 60 лет заведующему отделом эпидемиологии института «Микроб», секретарю Координационного совета по вопросам санитарной охраны территорий государств – участников СНГ кандидату медицинских наук Игорю Геннадиевичу Карнаухову.

И.Г. Карнаухов – один из ведущих разработчиков инновационной технологии оперативного реагирования на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера с помощью модернизированных специализированных противэпидемических бригад (СПЭБ) Роспотребнадзора. Участвовал в разработке мобильных комплексов СПЭБ первого и второго поколения, а также мобильных лабораторий на базе автошасси различного профиля. И.Г. Карнаухов – соавтор 20 патентов Российской Федерации на изобретения и полезные модели и 15 коллективных монографий, посвященных вопросам функционирования СПЭБ Роспотребнадзора, санитарной охраны



территории, борьбы с особо опасными инфекциями. С его участием научно обоснована концепция по формированию единой системы мониторинга и реагирования на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера на пространстве СНГ. Он неоднократно возглавлял работу СПЭБ института «Микроб» при обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия в период проведения массовых спортивных мероприятий с международным участием.

Трудовые и научные достижения Игоря Геннадиевича Карнаухова отмечены ведомственными наградами, Благодарностью Президента РФ, орденом Пирогова.

Редакционный совет и редакционная коллегия журнала «Проблемы особо опасных инфекций» поздравляют Игоря Геннадиевича Карнаухова с юбилеем и желают ему творческих успехов, новых достижений, здоровья и благополучия!