

ПРОБЛЕМЫ ОСОБО ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

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

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

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

Выпуск 2

2024

САРАТОВ

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

Журнал зарегистрирован
в Федеральной службе по надзору
в сфере связи, информационных
технологий 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. Лаишкова*
Технический редактор *Т.К. Меркулова*
Перевод на английский
А.П. Ножкиной, Т.Б. Караваевой

Проблемы особо опасных инфекций.
2024. Вып. 2. 198 с.

Подписано в печать 18.06.2024
Дата выхода в свет 28.06.2024
Формат 60×84 1/8
Бумага мелованная
Печать офсетная
Усл. печ. л. 23,0
Заказ № 3216-24

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, 2024

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

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

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

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

ИНОСТРАННЫЕ ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОГО СОВЕТА:

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

2024, Issue 2

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

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

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

Editorial Council

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Editorial Board

Alkhovsky S.V., Doctor of Biological Science, 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)

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

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

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

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

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

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>

Обзоры

- Васильцова Н.Н., Панова А.С., Петров В.Н., Даниленко А.В., Святченко С.В., Иванова К.И., Онхонова Г.С., Гончарова Н.И., Рыжиков А.Б., Марченко В.Ю. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России и мире в 2023 г. 6
- Киреев М.Н., Громова О.В., Борисова С.В., Воробьева С.А., Вольников В.Р., Салихов Р.Р., Волох О.А. Биотехнологический потенциал антигенов возбудителей чумы, холеры, туляремии и сибирской язвы, полученных в институте «Микроб» 15
- Кураташвили А.Ю., Плеханов Н.А., Карпунина Л.В., Заднова С.П. Системы устойчивости к фагам в штаммах *Vibrio cholerae* 20
- Носков А.К., Полеева М.В., Кретенчук О.Ф., Марковская Е.И., Коршенко В.А., Осадчий Д.А., Чемисова О.С. Деятельность ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в XXI веке (к 90-летию института) 27
- Пономаренко Д.Г., Матвиенко А.Д., Хачатурова А.А., Жаринова И.В., Скударева О.Н., Транквилевский Д.В., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Кондратьева Ю.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Анализ ситуации по бруцеллезу в мире и Российской Федерации 36
- Светоч Т.Э., Трунякова А.С., Дентовская С.В. Оральные вакцины для профилактики бактериальных инфекций: стратегии и перспективы разработок 51

Оригинальные статьи

- Алексеева Л.П., Якушева О.А., Евдокимова В.В., Мелоян М.Г., Зюзина В.П. Продукция холерного токсина и его локализация в составе везикул геновариантов *Vibrio cholerae* El Tor 62
- Белкина Н.В., Драгомерецкая А.Г., Троценко О.Е., Аусева Т.А. Видовое разнообразие возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов в клещах *Ixodes persulcatus* на территории Хабаровского края 70
- Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Печковский Г.А., Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Куличенко А.Н. Особенности споруляции основных генетических линий *Bacillus anthracis* 76
- Зубова А.А., Иванова А.В., Сафронов В.А., Трескин А.А., Скударева О.Н. Современные вызовы системе санитарной охраны территории Российской Федерации 83
- Карнаухов И.Г., Касьян Ж.А., Шербакова С.А., Кутырев В.В. Роль Координационного совета по проблемам санитарной охраны территорий государств – участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней в формировании единой системы мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера на пространстве СНГ 101
- Крупинская Е.С., Коренберг Э.И., Голидонова К.А., Горелова Н.Б., Матросова В.А. Результаты апробации оптимизированного метода мультилокусного сиквенс-анализа патогенных боррелий группы *Borrelia burgdorferi* sensu lato 108

Reviews

- Vasil'tsova N.N., Panova A.S., Petrov V.N., Danilenko A.V., Svyatchenko S.V., Ivanova K.I., Onkhonova G.S., Goncharova N.I., Ryzhikov A.B., Marchenko V.Yu. Review on the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza Globally and in Russia in 2023
- Kireev M.N., Gromova O.V., Borisova S.V., Vorob'eva S.A., Vol'nikov V.R., Salikhov R.R., Volokh O.A. Biotechnological Potential of Antigens of Plague, Cholera, Tularemia and Anthrax Pathogens, Obtained at the Russian Research Institute "Microbe"
- Kuratashvili A.Yu., Plekhanov N.A., Karpunina L.V., Zadnova S.P. Systems of Phage Resistance in *Vibrio cholerae* Strains
- Noskov A.K., Poleeva M.V., Kretenchuk O.F., Markovskaya E.I., Korshenko V.A., Osadchy D.A., Chemisova O.S. The Activities of the Rostov-On-Don Anti-Plague Institute of the Rosпотребнадзор in the XXIst Century (on the occasion of the 90th anniversary of the Institute)
- Ponomarenko D.G., Matvienko A.D., Khachaturova A.A., Zharinova I.V., Skudareva O.N., Trankvilevsky D.V., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Kondrat'eva Yu.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Analysis of the Situation on Brucellosis around the World and in the Russian Federation
- Svetoch T.E., Trunyakova A.S., Dentovskaya S.V. Oral Vaccines for Prevention of Bacterial Infections: Development Strategies and Prospects
- Original articles**
- Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Evdokimova V.V., Meloyan M.G., Zyuzina V.P. Cholera Toxin Production and Localization in Vesicles of *Vibrio cholerae* El Tor Genovariants
- Belkina N.V., Dragomeretskaya A.G., Trotsenko O.E., Ausheva T.A. Species Diversity of Ixodidae Tick-Borne Borrelioses Agents in *Ixodes persulcatus* Ticks in the Territory of the Khabarovsk Region
- Eremenko E.I., Ryazanova A.G., Pechkovsky G.A., Pisarenko S.V., Kovalev D.A., Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Kulichenko A.N. Features of Sporulation of the Main Genetic Lines of *Bacillus anthracis*
- Zubova A.A., Ivanova A.V., Safronov V.A., Treskin A.A., Skudareva O.N. Modern Challenges to the System of Sanitary Protection of the Russian Federation
- Karnauchov I.G., Kas'yan Zh.A., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. The Role of the Coordination Council on the Issues of Sanitary Protection of the Territories of the Member States of the Commonwealth of Independent States from the Importation and Spread of Particularly Dangerous Infectious Diseases in the Formation of a Unified System for Monitoring and Responding to Emergencies of Sanitary-Epidemiological Nature in the CIS
- Krupinskaya E.S., Korenberg E.I., Golidonova K.A., Gorelova N.B., Matrosova V.A. Results of Practical Evaluation of the Optimized Method for Multilocus Sequence Analysis of Pathogenic *Borrelia burgdorferi* sensu lato Group

Кутырев В.В., Щербакова С.А., Иванова А.В., Куклев В.Е., Касьян Ж.А., Карнаухов И.Г. Россия и Венесуэла: новое стратегическое партнерство в области реагирования на биологические угрозы и перспективы сотрудничества 115

Миронова Л.В., Федотова И.С., Галачьянц Ю.П., Пономарева А.С., Эрдынеев С.В., Хунхеева Ж.Ю., Басов Е.А., Фортунатова А.В., Балахонov С.В. Геномный анализ штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в Сибири и на Дальнем Востоке в период седьмой пандемии холеры: идентификация принадлежности к глобальным филогенетическим линиям 122

Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Краснов Я.М., Катышев С.Д., Шаропова Н.А., Алексеева Л.П., Меньшикова Е.А., Евдокимова В.В., Ежова М.И., Носков А.К. Характеристика CTX⁺ штамма *Vibrio cholerae* O1, выделенного в 2023 г. из реки Темерник в Ростове-на-Дону 132

Мочалкин П.А., Акимкин В.Г., Углева С.В., Морозкин Е.С., Блинова Е.А., Сычева К.А., Скрипниченко Д.Д., Бондаренко Т.А., Эпик Ю.О., Макенов М.Т., Казак А.А., Попова А.К., Скотарева М.А., Иванова О.В., Гарифуллин Б.Р., Попов Н.В. Сочетанная циркуляция хантавирусов Пуумала, Тула, Сивис на территории Республики Башкортостан 140

Осина Н.А., Ситмбетов Д.А., Морозов О.А., Булгакова Е.Г., Осин А.В., Чекмарева С.С., Сазанова Е.В., Сеничкина А.М., Ляшова О.Ю., Полунина Т.А., Краснов Я.М., Девдарияни З.Л., Щербакова С.А. Внутривидовая дифференциация штаммов *Francisella tularensis* с помощью молекулярно-генетических методов. Комплексный подход 148

Патяшина М.А., Сизова Е.П., Авдонина Л.Г., Бадамшина Г.Г., Ставропольская Л.В., Алешина А.Г., Карпова И.А., Гончарова А.В., Нуртдинова А.Р., Антонов А.С. Эпидемиологические аспекты заболеваемости лихорадкой Западного Нила в Республике Татарстан в 2023 г. 157

Портенко С.А., Найденова Е.В., Агафонов Д.А., Кузнецова Д.А., Евтеев А.В., Тушинский А.А., Дмитриева Л.Н., Катышев А.Д., Куклев В.Е., Obissa N., Mabiala V., Loubano J., Mropolo M., Mobousse Misse J.-C., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Организация совместных лабораторных исследований при проведении санитарно-эпидемиологических мероприятий на территории Республики Конго специалистами Роспотребнадзора 167

Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Ивлева Е.К., Омигов В.В., Пьянков О.В., Таранов О.С. Сравнительное исследование патоморфологических изменений тканей легких животных при моделировании инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2 178

Краткие сообщения

Patrick Loti, Stanley S. Nyirenda, Frank K. Chisulo, Agness Chama, Majory Singogo, Daniel B. Chileshe, James L. Mwansa. Исследование малярийной паразитемии среди бессимптомных лиц в ряде округов провинций Центральная и Мучинга Замбии – перекрестное исследование 188

Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Иванова И.А., Филиппенко А.В., Омельченко Н.Д., Труфанова А.А., Погожова М.П., Аноприенко А.О., Сизова Ю.В., Пасюкова Н.И. Оценка эффективности использования холерных бактериофагов для профилактики экспериментальной холеры 193

Памяти коллег

Памяти Алексея Кимовича Носкова 196

Памяти Артура Викторовича Наумова 197

Правила для авторов 198

Kutyrev V.V., Shcherbakova S.A., Ivanova A.V., Kuklev V.E., Kas'yan Zh.A., Karnaukhov I.G. Russia and Venezuela: New Strategic Partnership in the Field of Response to Biological Threats and Prospects for Cooperation 115

Mironova L.V., Fedotova I.S., Galach'yants Yu.P., Ponomareva A.S., Erdyneev S.V., Khunkheeva Zh.Yu., Basov E.A., Fortunatova A.V., Balakhonov S.V. Genomic Analysis of *Vibrio cholerae* Strains Isolated in Siberia and the Far East during the Seventh Cholera Pandemic: Determining the Appurtenance to Global Phylogenetic Lines 122

Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Krasnov Ya.M., Katsyshev S.D., Sharapova N.A., Alekseeva L.P., Men'shikova E.A., Evdokimova V.V., Ezhova M.I., Noskov A.K. Characteristics of *Vibrio cholerae* O1 CTX⁺ Strain Isolated from the Temernik River in Rostov-on-Don in 2023 132

Mochalkin P.A., Akimkin V.G., Ugleva S.V., Morozkin E.S., Blinova E.A., Sycheva K.A., Skripnichenko D.D., Bondarenko T.A., Epik Yu.O., Makenov M.T., Kazak A.A., Popova A.K., Skotareva M.A., Ivanova O.V., Garifullin B.R., Popov N.V. Combined Circulation of Puumala, Tula, Seewis Hantaviruses in the Territory of the Republic of Bashkortostan 140

Osina N.A., Sitmbetov D.A., Morozov O.A., Bulgakova E.G., Osin A.V., Chekmareva S.S., Sazanova E.V., Senichkina A.M., Lyashova O.Yu., Polunina T.A., Krasnov Ya.M., Devdariani Z.L., Shcherbakova S.A. Intraspecific Differentiation of *Francisella tularensis* Strains Using Molecular-Genetic Methods. Complex Approach 148

Patyashina M.A., Sizova E.P., Avdonina L.G., Badamshina G.G., Stavropol'skaya L.V., Aleshina A.G., Karpova I.A., Goncharova A.V., Nurtdinova A.R., Antonov A.S. Epidemiological Aspects of the Incidence of West Nile Fever in the Republic of Tatarstan in 2023 157

Portenko S.A., Naidenova E.V., Agafonov D.A., Kuznetsova D.A., Evteev A.V., Tushinsky A.A., Dmitrieva L.N., Katsyshev A.D., Kuklev V.E., Obissa N., Mabiala V., Loubano J., Mropolo M., Mobousse Misse J.-C., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Organization of Joint Laboratory Studies during Sanitary and Epidemiological Interventions in the Republic of the Congo by Rospotrebnadzor Specialists 167

Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Ivleva E.K., Omigov V.V., P'yankov O.V., Taranov O.S. Comparative Study of Pathomorphological Changes in Animal Lung Tissue when Modeling Infection Caused by the SARS-CoV-2 Virus 178

Brief communications

Patrick Loti, Stanley S. Nyirenda, Frank K. Chisulo, Agness Chama, Majory Singogo, Daniel B. Chileshe, James L. Mwansa. Investigation of Malaria Parasitemia among Asymptomatic Individuals in Designated Districts of Central and Muchinga Provinces of Zambia – A Cross Sectional Study 188

Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Ivanova I.A., Filippenko A.V., Omel'chenko N.D., Trufanova A.A., Pogozhova M.P., Anoprienko A.O., Sizova Yu.V., Pasyukova N.I. Assessment of the Effectiveness of Cholera Bacteriophages for Prevention of Experimental Cholera 193

Revering the Memory of the Colleagues

Of blessed memory of Aleksey K. Noskov 196

Of blessed memory of Artur V. Naumov 197

To authors 198

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-6-14

УДК 616.921.5(470)

**Н.Н. Васильцова, А.С. Панова, В.Н. Петров, А.В. Даниленко, С.В. Святченко, К.И. Иванова,
Г.С. Онхонова, Н.И. Гончарова, А.Б. Рыжиков, В.Ю. Марченко**

Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России и мире в 2023 г.

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

В 2023 г. ситуация в мире по высокопатогенному гриппу птиц в эпизоотологическом и эпидемиологическом плане была напряженной. Вирусом оказались инфицированы 150 видов птиц и десятки видов млекопитающих. Зарегистрировано более 650 вспышек среди сельскохозяйственной птицы на территории 29 стран, в результате чего погибло или было уничтожено около 19 млн особей. Наблюдался высокий уровень заболеваемости гриппом среди диких птиц (порядка 3 тыс. вспышек на территории 65 стран) и млекопитающих (более 16 тыс. случаев). Большинство вспышек среди дикой и домашней птицы и млекопитающих вызвано вирусами гриппа подтипа А(Н5N1) клады 2.3.4.4b. Вспышки регистрировались в течение всего года во многих странах Европы, Азии, Африки, Северной и Южной Америки. Впервые зарегистрирован случай гибели полярного медведя от вируса гриппа А(Н5N1). При этом в 50 % вирусов гриппа А(Н5N1), вызвавших гибель животных, в белке PB2 обнаружены молекулярные маркеры адаптации к млекопитающим. В 2023 г. зарегистрированы случаи заражения людей вирусами высокопатогенного гриппа птиц А(Н5N1) в Камбодже, Чили, Китае и Великобритании. Кроме того, в Китае отмечены случаи инфицирования вирусами А(Н3N8), А(Н5N6), А(Н9N2) и А(Н10N5). В России в 2023 г. зарегистрированы вспышки среди дикой и домашней птицы на территории 25 регионов, а также вспышка среди морских котиков на территории Сахалинской области. Все вспышки вызваны высоковирулентным вирусом гриппа подтипа А(Н5N1) генетической клады 2.3.4.4b. Все исследованные нами вирусы, циркулировавшие в России в 2023 г., генетически соответствовали предложенным ВОЗ кандидатным вакцинным штаммам А/Astrakhan/3212/2020 (H5N8), А/chicken/Ghana/AVL-763_21VIR7050-39/2021 (H5N1) и А/American Wigeon/South Carolina/22-000345-001/2021 (H5N1) по последовательности гемагглютинина и антигенно сходны с вакцинным штаммом А/Astrakhan/3212/2020.

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

Корреспондирующий автор: Панова Анастасия Сергеевна, e-mail: panova_as@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Васильцова Н.Н., Панова А.С., Петров В.Н., Даниленко А.В., Святченко С.В., Иванова К.И., Онхонова Г.С., Гончарова Н.И., Рыжиков А.Б., Марченко В.Ю. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России и мире в 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 2:6–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-6-14

Поступила 11.03.2024. Принята к публ. 24.04.2024.

**N.N. Vasil'tsova, A.S. Panova, V.N. Petrov, A.V. Danilenko, S.V. Svyatchenko, K.I. Ivanova,
G.S. Onkhonova, N.I. Goncharova, A.B. Ryzhikov, V.Yu. Marchenko**

Review on the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza Globally and in Russia in 2023

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

Abstract. The year 2023 saw a challenging epizootiological and epidemiological situation regarding highly pathogenic avian influenza. The virus affected 150 bird species and dozens of mammal species. More than 650 outbreaks were reported in poultry across 29 countries, resulting in the death or destruction of approximately 19 million specimens. There was a high incidence of the influenza among wild birds (approximately 3,000 outbreaks in 65 countries) and mammals (more than 16,000 cases). The majority of outbreaks in wild birds, poultry and mammals were caused by influenza A(H5N1) clade 2.3.4.4b viruses. Many countries in Europe, Asia, Africa, North and South America experienced the outbreaks throughout the year. For the first time, a polar bear death from A(H5N1) virus was documented. Moreover, molecular markers of virus adaptation to mammals were found in PB2 proteins of 50 % of influenza A(H5N1) viruses that caused the death of animals. During the year 2023, human infections with highly pathogenic avian influenza A(H5N1) viruses were reported in Cambodia, Chile, China, and the UK. In addition, human infections with A(H3N8), A(H5N6), A(H9N2) and A(H10N5) viruses were reported in China. In Russia in 2023, outbreaks among wild birds and poultry were registered in 25 regions, as well as an outbreak among fur seals in the Sakhalin Region. The stated outbreaks were caused by highly virulent influenza A(H5N1) clade 2.3.4.4b. Hemagglutinin sequences of all Russian viruses analyzed in this study in 2023 were genetically close to the WHO candidate vaccine strains A/Astrakhan/3212/2020 (H5N8), A/chicken/Ghana/AVL-763_21VIR7050-39/2021 (H5N1) and A/American Wigeon/South Carolina/22-000345-001/2021 (H5N1). All studied A(H5N1) viruses were antigenically similar to the A/Astrakhan/3212/2020 vaccine strain.

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

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

Funding: The study was conducted within the framework of the state assignment for the State Scientific Center of Virology and Biotechnology “Vector” of the Rospotrebnadzor.

Corresponding author: Anastasia S. Panova, e-mail: panova_as@vector.nsc.ru.

Citation: Vasil'tsova N.N., Panova A.S., Petrov V.N., Danilenko A.V., Svyatchenko S.V., Ivanova K.I., Onkhonova G.S., Goncharova N.I., Ryzhikov A.B., Marchenko V.Yu. Review on the Epizootiological Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza Globally and in Russia in 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:6–14. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-6-14
Received 11.03.2024. *Accepted* 24.04.2024.

Vasil'tsova N.N., ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-1548-5608>

Panova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0556-0552>

Petrov V.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3270-8412>

Danilenko A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3214-2794>

Svyatchenko S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4573-5783>

Onkhonova G.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1547-1708>

Ryzhikov A.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7009-0748>

Marchenko V.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1339-6732>

Грипп является серьезной эпидемиологической и эпизоотологической проблемой во всем мире. Наибольшую опасность для сельского хозяйства и общественного здравоохранения представляют вирусы гриппа А (ВГА), относящиеся к роду *Alphainfluenzavirus*. Ввиду наибольшего распространения и способности инфицировать широкий круг хозяев ВГА способны вызывать пандемии и масштабные эпизоотии. Природными резервуарами ВГА являются дикие перелетные птицы, преимущественно представители отрядов гусеобразных (*Anseriformes*) и ржанкообразных (*Charadriiformes*) [1, 2].

Различные комбинации поверхностных гликопротеинов (18 подтипов гемагглютинина [НА] и 11 подтипов нейраминидазы [НА]), способность к реассортации вследствие наличия сегментированного генома, а также высокая скорость возникновения мутаций обеспечивают быструю изменчивость вирусов гриппа и, как следствие, адаптацию к широкому кругу хозяев [3, 4]. Однако, несмотря на разнообразие вариантов вируса гриппа, циркулирующих среди животных и птиц, преодолевать межвидовой барьер и вызывать заболевание человека способны лишь определенные подтипы ВГА. Таковыми являются вирусы подтипов Н5 и Н7, которые начиная с 1959 г. стали причиной большого количества случаев заболевания людей по всему миру, более 1000 из которых имели летальный исход. Кроме того, данные подтипы являются причиной вспышек болезни и гибели по меньшей мере 422 млн домашних птиц с 2005 г. [5, 6].

Высокопатогенный вирус гриппа птиц (ВПВГП) А(Н5Н1), несущий гемагглютинин генетической линии Gs/Gd, впервые был детектирован в Китае в 1996 г. В 1997 г. в Гонконге ВПВГП А(Н5Н1), имеющий НА линии Gs/Gd, стал причиной крупнейших вспышек среди птиц и первых зарегистрированных случаев заражения людей, в том числе с летальным исходом. Дальнейшая эволюция вирусов, несущих НА линии Gs/Gd, привела к формированию множества генетических клад и сопровождалась реассортацией сегментов генома с различными низкопатогенными вирусами гриппа. Случаи инфицирования людей, близко контактирующих с зараженной птицей, продолжали периодически регистрироваться. Так, за период с 2003 по 21 декабря 2023 г. Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) в мире зарегистрировано 882 случая заболевания людей высоко-

патогенным гриппом птиц (ВПГП) А(Н5Н1), из них 461 случай – с летальным исходом, при этом большинство случаев инфицирования и гибели людей зарегистрировано до 2016 г. [7, 8].

Циркулирующий в настоящее время новый вариант ВПВГП А(Н5Н1) линии Gs/Gd из клады 2.3.4.4b, впервые выявленный в 2020 г., распространился по всему миру с перелетными птицами, нанеся серьезный урон сельскому хозяйству во многих странах [9–11].

Эволюция ВГА, обусловленная накоплением точечных мутаций или реассортацией сегментов генома, может приводить к изменению антигенных свойств вируса, его репликативной активности, трансмиссивности, тканевого тропизма и видоспецифичности [12]. Так, в марте 2013 г. в Китае были зарегистрированы первые случаи заражения людей новым вирусом А(Н7Н9), который появился в результате последовательных двухэтапных реассортаций вирусов среди диких птиц. При этом большинство зоонозных изолятов А(Н7Н9) приобрели способность связываться не только с $\alpha 2,3$ -сиаловыми рецепторами птиц, но и с $\alpha 2,6$ -сиаловыми рецепторами человека, результатом чего стало инфицирование 1568 человек в Китае с летальностью порядка 40 % [13, 14].

Вызывает опасение возросшее в последнее время число случаев инфицирования млекопитающих вирусом гриппа А(Н5Н1), что может свидетельствовать о постепенной адаптации вируса. В качестве иллюстрации потенциально катастрофических последствий циркуляции А(Н5Н1) в животном мире можно привести вспышки на норковой ферме в Испании [15], распространение вируса в Латинской Америке и массовый падеж морских львов в Аргентине [16]. Свидетельством уверенного проникновения вируса в самые удаленные районы являются первый случай гибели полярного медведя в г. Уткиагвик на севере Аляски [17] и обнаружение вируса у млекопитающих (морских слонов и котиков) и птиц (бурых поморников) в Южной Георгии – субантарктической заморской территории Великобритании, расположенной в южной части Атлантического океана [18].

Вспышки на норковой ферме в Испании заслуживают особого внимания, поскольку передача вируса происходила от животного к животному. Секвенирование вирусов, выделенных от заболевших норок, показало наличие ряда изменений, в том числе мутацию Т271А в гене *PB2*, повышающую

полимеразную активность в клетках млекопитающих [19].

Все вышесказанное вызывает значительные опасения относительно вероятности возникновения новой пандемии гриппа в человеческой популяции. Подтверждением тому служат зарегистрированные случаи ограниченной передачи вируса гриппа птиц от человека к человеку [20] и высокая степень летальности при инфицировании людей высокопатогенными вариантами ВГА А(Н5N1) и А(Н7N9) [5]. В связи с этим становится очевидной необходимость постоянного комплексного мониторинга высокопатогенного вируса гриппа, включающего в себя сбор и анализ информации о циркулирующих в настоящее время и зарегистрированных ранее вариантах вируса. Полученные данные позволят спрогнозировать эпидемиологическую и эпизоотологическую ситуацию, оценив возможные пути распространения высокопатогенных вирусных вариантов.

Данная работа посвящена анализу циркуляции наиболее важных в эпидемиологическом значении вариантов вируса гриппа птиц в России и мире за 2023 г.

Ситуация по высокопатогенному гриппу птиц в мире. В 2023 г. эпизоотологическая ситуация по ВПГП была напряженной. Вирусом были инфицированы 150 видов птиц и десятки видов млекопитающих [21]. Большинство случаев заболеваний среди дикой и домашней птицы вызвано вирусами гриппа подтипа А(Н5N1) клады 2.3.4.4b. Вспышки регистрировались в течение всего года во многих странах Европы, Азии, Африки, Северной и Южной Америки.

По данным WAHIS (World Animal Health Information System), в 2023 г. зарегистрировано более 650 вспышек среди сельскохозяйственной птицы на территории 29 стран, в результате чего погибло или было уничтожено около 19 млн птиц [16, 22]. Большинство вспышек классифицированы как первичные, без вторичного распространения. В начале 2023 г. на юго-западе Франции зарегистрировано 85 вспышек среди уток-мулардов для производства фуа-гра, при этом в 24 хозяйствах отмечена повышенная смертность [23]. Во второй половине 2023 г. большинство вспышек ВПГП среди домашней птицы были спорадическими, причем значительная их часть приходилась на Великобританию [24]. Кроме того, в течение года отмечены случаи бессимптомного носительства. В качестве примера такого варианта событий можно привести ситуацию в Италии, во время которой высокопатогенный вирус гриппа был обнаружен у бройлеров только во время тестирования перед отправкой на бойню [25].

В 2023 г. наблюдался высокий уровень заболеваемости гриппом среди диких птиц – порядка 3 тыс. вспышек на территории 65 стран [16]. Эпизоотия гриппа среди диких птиц в 2023 г. превзошла показатели заболеваемости предыдущего года по общему числу выявлений ВПГП. Заболеванию преиму-

щественно были подвержены черноголовые чайки (*Ichthyaetus melanocephalus*), массовый падеж которых наблюдался в 22 странах Европы: во Франции, Австрии, Великобритании, Бельгии, Дании, Нидерландах, Венгрии, Италии, Ирландии, Испании и др. Кроме того, от гриппа в значительной мере пострадали другие виды чаек и крачек, при этом наблюдалась повышенная смертность как взрослых, так и молодых особей [23]. В первой половине года зарегистрированы массовые случаи гибели перуанского пеликана (*Pelecanus thagus*) в Чили. В течение всего года регистрировался массовый падеж сапсанов (*Falco peregrinus*) в странах Европы, Азии, Северной и Южной Америки. В конце года гриппу в наибольшей степени были подвержены обыкновенные журавли (*Grus grus*), летальные случаи которых отмечены в нескольких европейских странах. От высокопатогенного вируса гриппа также пострадали многие виды диких птиц, находящиеся под угрозой исчезновения, такие как очковый пингвин (*Spheniscus demersus*), японский журавль (*Grus japonensis*), мандаринка (*Aix galericulata*), орлан-белохвост (*Haliaeetus albicilla*), сапсан (*Falco peregrinus*), тундровый лебедь (*Cygnus columbianus bewickii*) и др. [16].

Вспышки среди диких птиц регистрировались по большей части вдоль береговой линии прибрежных стран, однако часто мертвых животных находили внутри континента. Поскольку колонии гнездящихся диких птиц перемещаются вглубь суши и могут пересекать районы птицеводства, риск заражения ВПГП домашней птицы возрастает, особенно в летний период, когда птицы первого года жизни покидают гнездовые колонии [26].

В 2023 г. зафиксировано более 16 тыс. случаев выявления вируса гриппа А(Н5N1) среди млекопитающих, преимущественно на территории стран Европы и Северной Америки [16].

Летом 2023 г. вирус А(Н5N1) выявлен на 26 зверофермах Финляндии. Среди пораженных животных – американские норки (*Neovison vison*), обыкновенные лисицы (*Vulpes vulpes*) и песцы (*Vulpes lagopus*), а также енотовидные собаки (*Nyctereutes procyonoides*). Наиболее вероятным источником заражения был контакт с чайками. Лишь немногие из ферм сообщили о смертности (три фермы) и клинических признаках (две фермы), что указывает на возможное бессимптомное течение заболевания [24].

Среди диких животных большинство случаев заражения гриппом также пришлось на обыкновенных лисиц (*Vulpes vulpes*) и песцов (*Vulpes lagopus*), гибель которых регистрировалась в Канаде, США, Бельгии, Финляндии, Нидерландах, Норвегии, Франции, Германии, Латвии, Словении и Ирландии. На территории этих стран регистрировались случаи заболевания енотов (*Procyon lotor*), пум (*Puma concolor*), рысей (*Lynx rufus*), скунсов (*Mephitis mephitis*), хорьков (*Mustela putorius*), американских норок (*Neovison vison*), енотовидных собак (*Nyctereutes procyonoides*), обыкновенных выдр (*Lutra lutra*), соболей (*Martes*

zibellina), лесных и американских куниц (*Martes martes*, *Martes americana*). На территории США зарегистрирован случай инфицирования барibalа (*Ursus americanus*) и впервые в мире – случай гибели полярного медведя (*Ursus maritimus*) от вируса А(Н5N1) [16, 17].

В 2023 г. получены данные об инфицировании вирусами гриппа А(Н5N1) морских млекопитающих. Зарегистрированы массовый падеж морских львов (*Otaria flavescens*) в Чили и Аргентине, случаи заболевания южных морских слонов (*Mirounga leonina*) и южноамериканских морских котиков (*Arctocephalus australis*) в Аргентине, обыкновенного тюленя – в США и Дании (*Phoca vitulina*), северных морских котиков (*Callorhinus ursinus*) – в России [16].

В Польше, США и Южной Корее зарегистрированы случаи заболевания гриппом А(Н5N1) домашних кошек [27–29]. У пораженных животных наблюдались неврологические и респираторные признаки заболевания, иногда смертность. Все выделенные от кошек вирусы генетически схожи с ВПВП, выявленными у домашних и диких птиц с октября 2022 по январь 2023 г. По-прежнему существует неопределенность в отношении возможного источника инфекции, и до сих пор не сообщалось о передаче инфекции от кошки к кошке или от кошки к человеку.

Следует отметить, что около 50 % охарактеризованных вирусов гриппа А(Н5N1), вызвавших заболевания и гибель животных, содержали в белке PB2 хотя бы один из молекулярных маркеров адаптации вирусов к млекопитающим: E627K, D701N, T271A или K526R [22–26].

В эпидемиологическом плане в 2023 г. ситуация по высокопатогенному гриппу птиц также была неблагоприятной. Зарегистрирован рост числа случаев заражения людей различными вариантами зоонозного вируса гриппа, а также отмечено расширение географии распространения вирусов ВПВП.

В 2023 г. случаи заражения людей вирусами ВПВП А(Н5N1) отмечены в Камбодже (6), Чили (1), Китае (1) и Великобритании (4). Большинство случаев связаны с преобладающей в мире кладой 2.3.4.4b, но случаи в Камбодже – с местной кладой 2.3.2.1c, и только в Камбодже зарегистрированы летальные исходы, число которых к концу года возросло до четырех [30]. Как показал опрос 208 человек в провинции Прейвэнг в юго-восточной части Камбоджи, из которых 56,7 % были фермерами и 68,3 % разводили кур, 23 % готовили для своих семей больную и мертвую птицу и только 49 % сообщали о заболеваемости птиц местным властям [31].

Случай заражения человека в Чили стал первым в этой стране и вторым в Южной Америке после случая инфицирования 9-летней девочки в Эквадоре в конце 2022 г. Прибрежный чилийский город Токопилла, где произошел случай, находится в области Антофагаста, в которой ранее отмечалась связанная с птичьим гриппом гибель морских львов и птиц [32].

О случае заражения вирусом А(Н5N1) в Китае известно, что 52-летняя пациентка переболела гриппом птиц А(Н5N1) и COVID-19 одновременно, это первый известный случай коинфицирования обоими вирусами [33].

Отдельного упоминания заслуживают четыре бессимптомных случая в Великобритании. Отмечено, что их выявление может быть следствием как заражения, так и контаминации верхних дыхательных путей в результате вдыхания материала из окружающей среды [34]. Аналогичные доводы об отсутствии подлинного заражения формулировались и ранее, применительно к случаям в США [35] и Испании в 2022 г. [36].

Помимо ВПВП А(Н5N1), в Китае выявлен случай заболевания человека гриппом А(Н3N8). Вирусом заразилась 56-летняя женщина из провинции Гуандун, став первым инфицированным взрослым и первым погибшим по причине заражения данным вирусом. Известно, что до болезни она контактировала с живой домашней птицей и имела многочисленные сопутствующие заболевания [37]. Впервые вирус А(Н3N8) был подтвержден в 2022 г. у двоих детей 4–5 лет в центральной части Китая [38, 39].

В Китае регулярно регистрируются случаи заболевания гриппом А(Н5N6). С момента обнаружения первых заболевших в 2014 г. и на текущий момент зарегистрировано 89 случаев заболевания людей (из 90 случаев в мире), 35 из которых завершились летальным исходом [40]. Если в 2022 г. отмечено 18 случаев заражения [41], то в 2023 г. – 8, что существенно меньше рекордных 36 случаев, зарегистрированных в 2021 г. [42].

В 2023 г. в Китае также зафиксировано 9 случаев заражения вирусом гриппа птиц А(Н9N2) [43] (в 2022 г. – 15 в Китае и 1 в Камбодже [41]). Вирусы гриппа А(Н9N2) циркулируют среди домашней птицы в ряде стран Азии. У людей инфекция обычно протекает легко, чаще болеют дети, особенно контактирующие с домашней птицей. За все время наблюдения (1998–2023 гг.) установлено 130 случаев заражения людей в восьми странах [43].

Кроме того, в 2023 г. в Китае зарегистрирован первый случай инфицирования человека вирусом А(Н10N5) [44]. У заболевшей 63-летней женщины были многочисленные сопутствующие патологии. Болезнь сопровождалась коинфекцией вирусом сезонного гриппа А(Н3N2) и тяжелой пневмонией, в результате чего пациентка скончалась. Передачи вируса А(Н10N5) от человека к человеку не наблюдалось. Генетический анализ показал, что, несмотря на коинфицирование вирусом А(Н3N2), все гены выделенного от погибшей пациентки вируса А(Н10N5) имеют птичье происхождение, что исключает реассортацию между двумя вирусами [45].

Ситуация по высокопатогенному гриппу птиц в России. Для контроля распространения гриппа птиц на территории Российской Федерации организова-

на система мониторинга, регламентируемая приказом Руководителя Роспотребнадзора от 30.09.2013 № 714 «Об организации мониторинга за циркуляцией вирусов гриппа птиц», а также приказом от 04.08.2016 № 842 «Об организации опорных баз по мониторингу за вирусом гриппа с пандемическим потенциалом». В данной программе участвуют ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора и 48 региональных учреждений Роспотребнадзора, деятельность которых регулируют три опорных базы, находящиеся в Краснодарском крае, Новосибирской области и Хабаровском крае. Сбор образцов от людей и животных обеспечивают медицинские учреждения и ветеринарная служба, затем материал отправляется в региональную опорную базу для дифференциальной диагностики. Все пробы, в которых выявлена РНК вируса гриппа А, направляются в ГНЦ ВБ «Вектор» для изоляции и дальнейшего изучения свойств вирусов.

Всего в 2023 г. в рамках данной программы мониторинга за вирусом гриппа птиц совместно с региональными учреждениями Роспотребнадзора собрано и обследовано 9698 образцов биоматериала, из них 2348 образцов от диких птиц, 213 – от свиней, 8 – от морских млекопитающих, 1482 – от домашних птиц и 5647 – от людей, по роду своей деятельности контактирующих с дикой или домашней птицей, включая 3654 пробы сывороток крови.

В 2023 г. на территории России отмечено широкое распространение высокопатогенного вируса гриппа А(Н5N1) клады 2.3.4.4b. В ходе мониторинга в первом квартале 2023 г. зарегистрированы вспышки на частных подворьях в Камчатском и Ставропольском краях и Белгородской области. Во втором квартале зарегистрированы вспышки среди диких и домашних птиц на территориях Амурской, Астраханской, Владимирской, Ивановской, Калининградской, Кировской, Магаданской, Тверской, Смоленской, Нижегородской, Ярославской областей, г. Москвы, республик Калмыкия, Коми, Марий Эл, Удмуртской Республики. При этом в большинстве регионов зарегистрированы вспышки среди диких птиц, в основном представителей семейства чайковых (*Laridae*).

В третьем квартале 2023 г. вспышки продолжились регистрироваться на территориях Пермского края, Удмуртской Республики, Нижегородской, Мурманской, Вологодской, Владимирской, Сахалинской областей, республик Коми, Башкортостан и Татарстан. Основное количество вспышек зафиксировано среди диких птиц, однако в третьем квартале вирус гриппа выделялся также во время вспышек на птицефабриках. Стоит особо отметить вспышку среди морских котиков, зарегистрированную в августе 2023 г. на территории Сахалинской области. По результатам исследований, все зарегистрированные вспышки вызваны высокопатогенным вирусом гриппа А(Н5N1) клады 2.3.4.4b.

В четвертом квартале 2023 г. повторные вспышки зарегистрированы на птицефабрике в Республике Коми.

Таким образом, в 2023 г. наблюдалось наиболее масштабное за последние годы географическое распространение ВПВГП на территории Российской Федерации.

При исследовании антигенных свойств выделенных в 2023 г. штаммов А(Н5N1) в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с использованием референс-антигенов и сывороток, полученных на кандидатные вакцинные штаммы, рекомендованные ВОЗ, а также на штаммы, циркулирующие в России, и эритроцитов индюка показано, что выявленные вирусы гриппа А(Н5N1) проявляют высокую степень антигенного родства с кандидатным вакцинным штаммом А/Astrakhan/3212/2020 (Н5N8) клады 2.3.4.4b (таблица). При этом сыворотки крови хорьков, полученные на штаммы из различных генетических подгрупп клады 2.3.4.4b, циркулировавших в России в 2022 г. (рисунок), характеризовались различной степенью перекрестной реактивности с вирусами, выделенными в 2023 г. Так, сыворотка крови, полученная на штамм А/dalmatian pelican/Astrakhan/213-2V/2022, хорошо реагировала с 58,6 % исследованных вирусов. Перекрестная реактивность сыворотки крови на штамм А/chicken/Khabarovsk/24-1V/2022 была лучше. Данная сыворотка хорошо реагировала с 93,1% исследованных изолятов 2023 г. Взаимодействие исследуемого вируса с сывороткой считалось удовлетворительным, если титр в РТГА был меньше гомологичного титра сыворотки не более чем в 4 раза.

Проведенный филогенетический анализ гена НА показал, что все проанализированные в 2023 г. в ГНЦ ВБ «Вектор» высокопатогенные вирусы гриппа птиц А(Н5N1) относились к кладе 2.3.4.4b и генетически близки рекомендованным ВОЗ кандидатным вакцинным штаммам А/Astrakhan/3212/2020 (Н5N8), А/chicken/Ghana/AVL-763_21VIR7050-39/2021 (Н5N1) и А/American Wigeon/South Carolina/22-000345-001/2021 (Н5N1) ВОЗ (рисунок).

Таким образом, циркулирующие в настоящее время в России ВПВГП генетически соответствуют предложенным ВОЗ кандидатным вакцинным штаммам А/Astrakhan/3212/2020 (Н5N8), А/chicken/Ghana/AVL-763_21VIR7050-39/2021 (Н5N1) и А/American Wigeon/South Carolina/22-000345-001/2021 (Н5N1).

По результатам исследований рецепторной специфичности циркулирующих вирусов с помощью метода биослойной интерферометрии и расчета равновесных констант диссоциации с клеточными рецепторами так называемого «птичьего» типа (3'-Sialyl-N-acetyllactosamine) и «человеческого» типа (6'-Sialyl-N-acetyllactosamine) показано, что все проанализированные нами в 2023 г. вирусы гриппа А(Н5N1) имеют доминирующую специфичность к рецепторам типа $\alpha_{2,3}$, что указывает на низкую степень риска распространения данных вариантов среди людей. Тем не менее высокая частота выявления вирусов гриппа А(Н5N1) клады 2.3.4.4b у млекопитающих в 2023 г. подчеркивает необходимость

Результаты РТГА с вирусами гриппа А(H5Nх) клады 2.3.4.4 с использованием эритроцитов индюка
 Results of hemagglutination inhibition reaction with A(H5Nх) viruses, clade 2.3.4.4, using turkey red blood cells

Вирусы Viruses	Подтип Subtype	Клада Clade	Референс-сыворотка хорька Reference ferret serum						
			A/gyrfalcon/ Washington/ 41088-6/2014	A/Astrakhan/ 3212/2020	A/chicken/ Vietnam/ NCVD-15A59/ 2015	A/dalmatian pelican/ Astrakhan/ 213-2V/2022	A/chicken/ Khabarovsk/ 24-1V/2022	A/gull/Mari EI/ 340-1V/2023	A/gull/ Udmurtia/ 342-8V/2023
			2.3.4.4c	2.3.4.4b	2.3.4.4f	2.3.4.4b	2.3.4.4b	2.3.4.4b	2.3.4.4b
Референс-антиген / Reference antigen									
A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014	H5N8	2.3.4.4c	160	160	160	160	80	40	160
A/Astrakhan/3212/2020	H5N8	2.3.4.4b	80	80	80	80	160	40	160
A/chicken/Vietnam/NCVD-15A59/2015	H5N6	2.3.4.4f	80	80	160	80	160	10	40
A/dalmatian pelican/Astrakhan/213-2V/2022	H5N1	2.3.4.4b	160	320	160	160	320	80	320
A/chicken/Khabarovsk/24-1V/2022	H5N1	2.3.4.4b	<10	20	<10	40	320	80	80
A/gull/Mari EI/340-1V/2023	H5N1	2.3.4.4b	20	40	40	40	80	40	40
A/gull/Udmurtia/342-8V/2023	H5N1	2.3.4.4b	80	80	80	80	160	40	80
Исследуемый антиген / Antigen under study									
A/dalmatian pelican/Kalmykia/330-10V/2023	H5N1	2.3.4.4b	80	80	80	80	160	40	80
A/great cormorant/ Kalmykia/330-12V/2023	H5N1	2.3.4.4b	80	80	40	40	80	40	80
A/chicken/Kaliningrad/333-1V/2023	H5N1	2.3.4.4b	80	80	80	40	160	40	80
A/chicken/Kaliningrad/333-2V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	80	40	40	80	40	40
A/gull/Mari EI/340-2V/2023	H5N1	2.3.4.4b	20	40	40	20	80	40	40
A/gull/Udmurtia/342-1V/2023	H5N1	2.3.4.4b	10	20	10	20	40	20	20
A/gull/Udmurtia/342-2V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	40	40	40	80	40	40
A/gull/Udmurtia/342-4V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	40	20	20	80	20	40
A/gull/Udmurtia/342-5V/2023	H5N1	2.3.4.4b	160	320	160	80	320	80	160
A/gull/Udmurtia/342-7V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	80	40	40	80	40	80
A/gull/Kaluga/344-1V/2023	H5N1	2.3.4.4b	80	80	80	40	80	40	40
A/gull/Kaliningrad/350-4V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	40	40	40	80	40	40
A/gull/Mari EI/345-3V/2023	H5N1	2.3.4.4b	20	40	20	20	80	20	20
A/gull/Mari EI/345-4V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	80	40	40	80	40	40
A/gull/Mari EI/345-5V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	80	40	40	80	40	40
A/gull/Mari EI/345-6V/2023	H5N1	2.3.4.4b	10	20	10	20	80	20	20
A/gull/Mari EI/345-7V/2023	H5N1	2.3.4.4b	10	20	10	20	40	10	10
A/gull/Kirov/347-2V/2023	H5N1	2.3.4.4b	80	80	80	40	80	40	80
A/gull/Moscow/349-1V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	80	40	80	80	80	80
A/gull/Kaliningrad/350-6V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	80	40	40	80	40	40
A/common quail/Ivanovo/351-1V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	80	40	40	160	40	40
A/common quail/Ivanovo /351-2V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	40	20	20	80	20	20
A/gull/Komi/353-2V/2023	H5N1	2.3.4.4b	20	40	20	20	80	40	40
A/gull/Komi/353-3V/2023	H5N1	2.3.4.4b	20	40	20	20	80	20	20
A/gull/Komi/353-5V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	80	40	40	80	40	40
A/gull/Mari EI/354-8V/2023	H5N1	2.3.4.4b	20	40	20	20	80	20	20
A/gull/Mari EI/354-9V/2023	H5N1	2.3.4.4b	20	40	20	20	80	40	40
A/gull/Yaroslavl/357-9V/2023	H5N1	2.3.4.4b	40	40	40	40	80	40	40
A/gull/Smolensk/358-5V/2023	H5N1	2.3.4.4b	20	40	20	20	80	20	20

проведения тщательного мониторинга за циркулирующими штаммами с целью своевременного выявления изменений свойств вируса, потенциально способных влиять на его адаптацию к новым хозяевам. При этом диагностику на ВППП стоит проводить не только в случаях падежа птиц, но и в случаях заболевания и гибели таких млекопитающих, как лисы, песцы и др.

В результате исследования биоматериала от людей, собранного в 2023 г., РНК вирусов гриппа птиц, в том числе H5, H7, H9-подтипа, не выявлено.

Прогноз развития ситуации по гриппу птиц в России. Исходя из результатов анализа полученных данных, становится очевидным, что в 2023 г. ситуация по высокопатогенному гриппу в России была особенно напряженной. Вспышки среди дикой



Филогенетическое дерево гена HA штаммов вируса гриппа А(H5Nx) клады 2.3.4.4b. Штаммы, выделенные в России в 2023 г., отмечены синим цветом. Штаммы, выделенные в России ранее, – фиолетовым. Кандидатные вакцинные штаммы выделены красным. Черными ромбами отмечены референс-штаммы, на которые получены сыроворотки крови хорьков, использовавшиеся в РПГА. Филогенетическое дерево построено с использованием метода максимального правдоподобия

Phylogenetic tree depicting the HA gene of A(H5Nx) influenza virus strains, clade 2.3.4.4b. Newly characterized viruses isolated in Russia in 2023 are indicated by blue color. Viruses previously isolated in Russia – by purple color. Candidate vaccine strains are marked by red. Black rhombuses indicate reference strains for which ferret blood sera were obtained and used in hemagglutination inhibition test. The phylogenetic tree was constructed using the maximum likelihood estimation

и сельскохозяйственной птицы, вызванные вирусами гриппа А(H5N1) клады 2.3.4.4b, зарегистрированные в 2023 г. в 25 регионах Российской Федерации, свидетельствуют о возможном сохранении некоторых вариантов вируса на территории России, а также заносе на территорию нашей страны новых вариантов.

Если говорить о возможных прогнозах распространения ВПВП, то в настоящее время имеются данные о продолжающихся вспышках ВПВП в странах Европы, Африки и Юго-Восточной Азии в местах зимовки диких перелетных птиц. Учитывая высокие риски распространения вирусов А(H5Nx) с

дикими перелетными птицами, можно предположить повторный занос возбудителя вдоль Черноморского-Средиземноморского пролетного пути, который охватывает густонаселенные промышленные регионы европейской части России, где сосредоточены крупные птицеводческие предприятия. Традиционным началом миграции птиц в эти районы является март, затем птицы перемещаются к местам гнездования в полярных широтах России. Поэтому в весенний период 2024 г. возможен повторный занос вирусов А(Н5N1) дикими птицами в регионы Южного федерального округа.

Можно предположить, что дальнейшее развитие ситуации по высокопатогенному вирусу гриппа во многом будет зависеть от комплекса своевременных принятых соответствующими службами противоэпизоотических и противоэпидемических мер, которые должны быть направлены на недопущение дальнейшего распространения вируса и снижение риска инфицирования людей.

Результаты наших исследований позволяют сделать предположение о том, что в 2024 г. известные в настоящий момент варианты вируса гриппа птиц не окажут значительного влияния на заболеваемость людей, и при соблюдении противоэпизоотических правил в местах вспышек ожидать случаев заболевания человека не приходится.

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

Финансирование. Исследование проводилось в рамках выполнения государственного задания ФБУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора.

References / Список литературы

1. Olsen B., Munster V.J., Wallensten A., Waldenström J., Osterhaus A.D.M.E., Fouchier R.A.M. Global patterns of influenza A virus in wild birds. *Science*. 2006; 312(5772):384–8. DOI: 10.1126/science.1122438.
2. Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev*. 1992; 56(1):152–79. DOI: 10.1128/mr.56.1.152-179.1992.
3. Manrubia S.C., Escarmis C., Domingo E., Lázaro E. High mutation rates, bottlenecks, and robustness of RNA viral quasispecies. *Gene*. 2005; 347(2):273–82. DOI: 10.1016/j.gene.2004.12.033.
4. Xie R., Edwards K.M., Wille M., Wei X., Wong S.S., Zanin M., El-Shesheny R., Ducatez M., Poon L.L.M., Kayali G., Webby R.J., Dhanasekaran V. The episodic resurgence of highly pathogenic avian influenza H5 virus. *Nature*. 2023; 622(7984):810–7. DOI: 10.1038/s41586-023-06631-2.
5. Shi J., Zeng X., Cui P., Yan C., Chen H. Alarming situation of emerging H5 and H7 avian influenza and effective control strategies. *Emerg. Microbes Infect.* 2023; 12(1):2155072. DOI: 10.1080/22221751.2022.2155072.
6. Szablewski C.M., Iwamoto C., Olsen S.J., Greene C.M., Duca L.M., Davis C.T., Coggeshall K.C., Davis W.W., Emukule G.O., Gould P.L., Fry A.M., Wentworth D.E., Dugan V.G., Kile J.C., Azziz-Baumgartner E. Reported global avian influenza detections among humans and animals during 2013–2022: Comprehensive review and analysis of available surveillance data. *JMIR Public Health Surveill.* 2023; 9:e46383. DOI: 10.2196/46383.
7. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003–2023, 21 December 2023. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: [https://www.who.int/publications/m/item/cumulative-number-of-confirmed-human-cases-for-avian-influenza-a\(h5n1\)-reported-to-who--2003-2023-21-december-2023](https://www.who.int/publications/m/item/cumulative-number-of-confirmed-human-cases-for-avian-influenza-a(h5n1)-reported-to-who--2003-2023-21-december-2023).

8. Krammer F., Schultz-Cherry S. We need to keep an eye on avian influenza. *Nat. Rev. Immunol.* 2023; 23(5):267–8. DOI: 10.1038/s41577-023-00868-8.
9. Herfst S., Begeman L., Spronken M.I., Poen M.J., Eggink D., de Meulder D., Lexmond P., Bestebroer T.M., Koopmans M.P.G., Kuiken T., Richard M., Fouchier R.A.M. A Dutch highly pathogenic H5N6 avian influenza virus showed remarkable tropism for extra-respiratory organs and caused severe disease but was not transmissible via air in the ferret model. *mSphere*. 2023; 8(4):e0020023. DOI: 10.1128/msphere.00200-23.
10. Marandino A., Tomás G., Panzera Y., Leizagoyen C., Pérez R., Bassetti L., Negro R., Rodríguez S., Pérez R. Spreading of the high-pathogenicity avian influenza (H5N1) virus of clade 2.3.4.4b into Uruguay. *Viruses*. 2023; 15(9):1906. DOI: 10.3390/v15091906.
11. Charostad J., Rezaei Zadeh Rukerd M., Mahmoudvand S., Bashash D., Hashemi S.M.A., Nakhaie M., Zandi K. A comprehensive review of highly pathogenic avian influenza (HPAI) H5N1: An imminent threat at doorstep. *Travel Med. Infect. Dis.* 2023; 55:102638. DOI: 10.1016/j.tmaid.2023.102638.
12. Liang Y. Pathogenicity and virulence of influenza. *Virulence*. 2023; 14(1):2223057. DOI: 10.1080/21505594.2023.2223057.
13. He D., Gu J., Gu M., Wu H., Li J., Zhan T., Chen Y., Xu N., Ge Z., Wang G., Hao X., Wang X., Hu J., Hu Z., Hu S., Liu X., Liu X. Genetic and antigenic diversity of H7N9 highly pathogenic avian influenza virus in China. *Infect. Genet. Evol.* 2021; 93:104993. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104993.
14. Xu R., de Vries R.P., Zhu X., Nycholat C.M., McBride R., Yu W., Paulson J.C., Wilson I.A. Preferential recognition of avian-like receptors in human influenza A H7N9 viruses. *Science*. 2013; 342(6163):1230–5. DOI: 10.1126/science.1243761.
15. Kupferschmidt K. Bird flu spread between mink is a ‘warning bell’. *Science*. 2023; 379(6630):316–7. DOI: 10.1126/science.adg8342.
16. WAHIS. Quantitative data dashboard. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://wahis.woah.org/#/dashboards/qd-dashboard>.
17. Alaska Beacon. Avian influenza death of Alaska polar bear is a global first and a sign of the virus’ persistence. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://alaskabeacon.com/2023/12/30/avian-influenza-death-of-alaska-polar-bear-is-a-global-first-and-a-sign-of-the-virus-persistence/>.
18. GOV.UK. Press release. Bird flu found in mammals in the sub-Antarctic for the first time. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://www.gov.uk/government/news/bird-flu-found-in-mammals-in-the-sub-antarctic-for-the-first-time>.
19. Agüero M., Monne I., Sánchez A., Zecchin B., Fusaro A., Ruano M.J., Del Valle Arrojo M., Fernández-Antonio R., Souto A.M., Tordable P., Cañas J., Bonfante F., Giussani E., Terregino C., Orejas J.J. Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus infection in farmed minks, Spain, October 2022. *Euro Surveill.* 2023; 28(3):2300001. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.3.2300001.
20. Centers for Disease Control and Prevention. Past examples of probable limited, non-sustained, person-to-person spread of avian influenza A viruses. (Cited 05 Feb 2024). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/flu/avianflu/h5n1-human-infections.htm>.
21. WCSNewsroom. Urgent message from WCS as the avian influenza virus threatens wildlife across the globe. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://newsroom.wcs.org/News-Releases/articleType/ArticleView/articleId/21910/Urgent-Message-from-WCS-as-the-Avian-Influenza-Virus-Threatens-Wildlife-Across-the-Globe.aspx>.
22. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Mirinavičiūtė G., Niqueux E., Stahl K., Staubach C., Terregino C., Broglia A., Kohnle L., Baldinelli F. Avian influenza overview March–April 2023. *EFSA J.* 2023; 21(6):e08039. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8039.
23. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Melidou A., Mirinavičiūtė G., Niqueux E., Ståhl K., Staubach C., Terregino C., Baldinelli F., Broglia A., Kohnle L. Avian influenza overview April–June 2023. *EFSA J.* 2023; 21(7):e08191. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8191.
24. European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control; European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Mirinavičiūtė G., Niqueux E., Staubach C., Terregino C., Baldinelli F., Rusinà A., Kohnle L. Avian influenza overview June–September 2023. *EFSA J.* 2023; 21(10):e08328. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8328.
25. European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control; European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Mirinavičiūtė G., Niqueux E., Ståhl K., Staubach C., Terregino C., Willgert K., Baldinelli F., Chuzhakina K., Delacourt R.,

- Georganas A., Georgiev M., Kohnle L. Avian influenza overview September-December 2023. *EFSA J.* 2023; 21(12):e8539. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8539.
26. European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control; European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoeh C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Marangon S., Mirinaviciute G., Niqueux E., Stahl K., Staubach C., Terregino C., Broglia A., Baldinelli F. Avian influenza overview December 2022 – March 2023. *EFSA J.* 2023; 21(3):e07917. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7917.
27. Rabalski L., Milewska A., Pohlmann A., Gackowska K., Lepionka T., Szczepaniak K., Swiatalska A., Sieminska I., Arent Z., Beer M., Koopmans M., Grzybek M., Pyrc K. Emergence and potential transmission route of avian influenza A (H5N1) virus in domestic cats in Poland, June 2023. *Euro Surveill.* 2023; 28(31):2300390. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.31.2300390.
28. Sillman S.J., Drozd M., Loy D., Harris S.P. Naturally occurring highly pathogenic avian influenza virus H5N1 clade 2.3.4.4b infection in three domestic cats in North America during 2023. *J. Comp. Pathol.* 2023; 205:17–23. DOI: 10.1016/j.jcpa.2023.07.001.
29. Lee K., Yeom M., Vu T.T.H., Do H.Q., Na W., Lee M., Jeong D.G., Cheon D.S., Song D. Characterization of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) viruses isolated from cats in South Korea, 2023. *Emerg. Microbes Infect.* 2024; 13(1):2290835. DOI: 10.1080/22221751.2023.2290835.
30. WHO. Avian Influenza Weekly Update. Number 929. Human infection with avian influenza A(H5) viruses. (Cited 25 Jan 2024) [Internet]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avian-influenza/ai_20240112.pdf?sfvrsn=5bc7c406_36.
31. MedRxiv. Knowledge, attitudes, and practices related to avian influenza (h5n1) after the outbreak in Rural, Cambodia. [Internet]. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.09.25.23296059v1> (Cited 25 Jan 2024).
32. WHO. Human infection caused by Avian Influenza A (H5) – Chile. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON453>.
33. Jin K., Dai Z., Shi P., Li Y., Zhu C. Severe pneumonia with co-infection of H5N1 and SARS-CoV-2: a case report. *BMC Infect. Dis.* 2024; 24(1):31. DOI: 10.1186/s12879-023-08901-w.
34. GOV.UK. UKHSA update on avian influenza. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://www.gov.uk/government/news/ukhsa-update-on-avian-influenza>.
35. CDC Newsroom. U.S. case of human avian influenza A(H5) virus reported. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/media/releases/2022/s0428-avian-flu.html>.
36. Aznar E., Casas I., González Praetorius A., Ruano Ramos M.J., Pozo F., Sierra Moros M.J., García Rivera M.V., Sánchez Sánchez A., García Villaceros E., Saravia G., Iglesias-Caballero M., Román Marcos E., García San Miguel L. Influenza A(H5N1) detection in two asymptomatic poultry farm workers in Spain, September to October 2022: suspected environmental contamination. *Euro Surveill.* 2023; 28(8):2300107. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.8.2300107.
37. Wise J. Bird flu: China records first death from H3N8 influenza strain, WHO says. *BMJ.* 2023; 381:839. DOI: 10.1136/bmj.p839.
38. Cheng D., Dong Y., Wen S., Shi C. A child with acute respiratory distress syndrome caused by avian influenza H3N8 virus. *J. Infect.* 2022; 85(2):174–211. DOI: 10.1016/j.jinf.2022.05.007.
39. Tan X., Yan X., Liu Y., Wu Y., Liu J.Y., Mu M., Zhao J., Wang X., Li J.Q., Wen L., Guo P., Zhou Z.G., Li X.B., Bao P.T. A case of human infection by H3N8 influenza virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2022; 11(1):2214–7. DOI: 10.1080/22221751.2022.2117097.
40. WHO. Avian Influenza Weekly Update. Number 931. Human infection with avian influenza A(H5) viruses. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avian-influenza/ai_20240126.pdf?sfvrsn=5f006f99_125&Status=Master.
41. ECDC. Zoonotic influenza. Annual epidemiological report for 2022. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER_zoonoticFlu_2022_Final.pdf.
42. Zhu W., Li X., Dong J., Bo H., Liu J., Yang J., Zhang Y., Wei H., Huang W., Zhao X., Chen T., Yang J., Li Z., Zeng X., Li C., Tang J., Xin L., Gao R., Liu L., Tan M., Shu Y., Yang L., Wang D. Epidemiologic, clinical, and genetic characteristics of human infections with influenza A(H5N6) viruses, China. *Emerg. Infect. Dis.* 2022; 28(7):1332–44. DOI: 10.3201/eid2807.212482.
43. ECDC. Weekly bulletin. Communicable disease threats report. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/communicable-disease-threats-report-week-1-2024.pdf>.
44. ECDC. Weekly bulletin. Communicable disease threats report. (Cited 09 Feb 2024). [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/communicable-disease-threats-report-week-5-2024.pdf>.
45. The Government of the Hong Kong Special Administrative Region. Press Releases. CHP closely monitors human case co-infected with avian influenza A(H10N5) and influenza A(H3N2) on Mainland. (Cited 09 Feb 2024). [Internet]. Available from: <https://www.info.gov.hk/gia/general/202401/31/P2024013100657.htm>.

Authors:

Vasil'tsova N.N., Panova A.S., Petrov V.N., Danilenko A.V., Svyatchenko S.V., Ivanova K.I., Onkhonova G.S., Goncharova N.I., Ryzhikov A.B., Marchenko V.Yu. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

Васильцова Н.Н., Панова А.С., Петров В.Н., Даниленко А.В., Святченко С.В., Иванова К.И., Онхонова Г.С., Гончарова Н.И., Рыжиков А.Б., Марченко В.Ю. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Колцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-15-19

УДК 616.9:616-097

М.Н. Киреев, О.В. Громова, С.В. Борисова, С.А. Воробьева, В.Р. Вольников, Р.Р. Салихов, О.А. Волох

Биотехнологический потенциал антигенов возбудителей чумы, холеры, туляремии и сибирской язвы, полученных в институте «Микроб»

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

Во ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора разрабатываются и внедряются методы получения и очистки биологически активных веществ возбудителей чумы, холеры, туляремии и сибирской язвы, которые используются при конструировании профилактических и диагностических препаратов. **Цель** обзора – обобщение и систематизация накопленных данных по выделению, очистке и анализу антигенов и токсинов возбудителей чумы, холеры, туляремии и сибирской язвы. Также уделено внимание применению и перспективам использования полученных антигенов для конструирования медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП). Институт «Микроб» является референс-центром по чуме, поэтому современные иммунодиагностические препараты необходимы и востребованы. Профилактические препараты антигенного уровня против перечисленных выше инфекций также являются предметом изучения сотрудников института. Основные этапы выделения, очистки и анализа антигенов включают в себя выбор или конструирование подходящего штамма, культивирование, экстракцию, концентрирование и очистку антигенов и токсинов с применением биотехнологических методов, позволяющих получить и сохранить интересующее исследователя биологически активное вещество. Для изучения антигенной активности очищенных антигенов используют лабораторных животных, фиксируют и анализируют иммунный ответ, получают антисыворотку. Затем следует этап анализа физико-химических и иммунобиологических свойств выделенных антигенных препаратов и составление паспорта антигена. Охарактеризованные антигены используются для конструирования профилактических и диагностических препаратов.

Ключевые слова: антигены *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis*, *Bacillus anthracis*.

Корреспондирующий автор: Киреев Михаил Николаевич, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Киреев М.Н., Громова О.В., Борисова С.В., Воробьева С.А., Вольников В.Р., Салихов Р.Р., Волох О.А. Биотехнологический потенциал антигенов возбудителей чумы, холеры, туляремии и сибирской язвы, полученных в институте «Микроб». *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 2:15–19. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-15-19

Поступила 09.11.2023. Принята к публ. 17.04.2024.

M.N. Kireev, O.V. Gromova, S.V. Borisova, S.A. Vorob'eva, V.R. Vol'nikov, R.R. Salikhov, O.A. Volokh

Biotechnological Potential of Antigens of Plague, Cholera, Tularemia and Anthrax Pathogens, Obtained at the Russian Research Institute "Microbe"*Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation*

Abstract. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rospotrebnadzor develops and implements methods for obtaining and purifying biologically active substances of the causative agents of plague, cholera, tularemia and anthrax, which are used in the design of preventive and diagnostic preparations. **The aim** of the review is to summarize and systematize the accumulated data on the isolation, purification and assessment of antigens and toxins of plague, cholera, tularemia and anthrax pathogens. Attention is also paid to the application and prospects for using the obtained antigens for the design of medical immunobiological preparations (MIBPs). The Institute "Microbe" is a reference center for plague, hence modern immunodiagnostic drugs are necessary and in demand. Antigen-level preventive drugs against the infections listed above are also the subject of study by the institute's staff. The main stages of isolation, purification and analysis of antigens include the selection or construction of a suitable strain; cultivation, extraction, concentration and purification of antigens and toxins using biotechnological techniques that allow for obtaining and preserving the biologically active substance of interest to the researcher. To study the antigenic activity of purified antigens, laboratory animals are involved, the immune response is recorded and analyzed, and antiserum is obtained. This is followed by the stage of investigating the physicochemical and immunobiological properties of the isolated antigen preparations and drawing up an antigen profile. The characterized antigens are used for the design of preventive and diagnostic drugs.

Key words: *Yersinia pestis*, *Vibrio cholerae*, *Francisella tularensis*, *Bacillus anthracis*, antigens.

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

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

Corresponding author: Mikhail N. Kireev, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Kireev M.N., Gromova O.V., Borisova S.V., Vorob'eva S.A., Vol'nikov V.R., Salikhov R.R., Volokh O.A. Biotechnological Potential of Antigens of Plague, Cholera, Tularemia and Anthrax Pathogens, Obtained at the Russian Research Institute "Microbe". *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:15–19. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-15-19

Received 09.11.2023. Accepted 17.04.2024.

Kireev M.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3059-4386>
Gromova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0172-2964>
Borisova S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3793-6526>
Vorob'eva S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3624-0850>

Vol'nikov V.R., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0791-895X>
Salikhov R.R., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4980-4109>
Volokh O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3044-971X>

Во ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора накоплен большой опыт по получению антигенов возбудителей чумы, сибирской язвы, туляремии и холерного вибриона. Разработаны или усовершенствованы методы их выделения, очистки и модификации, подобраны и оптимизированы способы определения антигенной и ферментативной активности. Это позволяет проектировать и конструировать профилактические и диагностические препараты современного уровня.

В резолюциях ежегодных пленумов Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации неоднократно отмечалась необходимость разработки новых вакцинных препаратов с повышенной эффективностью, сниженной реактогенностью, конструирования и внедрения в практику здравоохранения новых препаратов для лабораторной диагностики особо опасных инфекций. Молекулярные исследования антигенов возбудителей инфекционных болезней позволят целенаправленно изменять свойства биомолекул при конструировании медицинских иммунобиологических препаратов (МИБП). На решение этих вопросов направлены научно-исследовательские и опытно-конструкторские разработки.

Для чумного микроба это такие антигены, как капсульный антиген (F1), углеводсодержащие антигены, липополисахарид (ЛПС), полисахарид (ПС), основной соматический антиген (ОСА), активатор плазминогена (Pla), аллерген пестин (ПП), транспортные белки, белки внешней мембраны (Omp) [1–8].

Изучена стабильность компонентов экспериментальной химической чумной вакцины в условиях длительного хранения в холодильнике и в экстремальных температурных условиях (тесты на ускоренное старение и стресс-условия). Полученные результаты свидетельствуют о выраженной термостабильности специфических биополимерных структур антигенных компонентов F1 и ОСА, ответственных за иммунобиологическую активность химической чумной вакцины, что, на наш взгляд, является важной характеристикой этого прототипа химической чумной вакцины.

Антигены чумного микроба использовали для многих научно-практических разработок: конструирование биологического микрочипа для выявления специфических антител к возбудителю чумы, создание способа специфической индикации возбудителя методом оптической спектроскопии [9, 10].

Капсульный антиген F1 применяли для конструирования иммуносуспензионных диагностикумов для выявления специфических антител чумного микроба в дот-иммуноанализе и ИФА-диагностикума [11]. Также он используется как модельный компонент при конструировании прототипа трансдермального варианта вакцин [12].

В рамках выполнения ряда научно-исследовательских работ и государственных контрактов получены экспериментальные и практические данные о выделении, очистке и модификации антигенов чумного микроба, холерного вибриона и возбудителя

туляремии. Выделены и очищены ЛПС чумного микроба, нетоксичный полисахарид чумного микроба, O-антигены холерного вибриона сероваров Инаба, Огава и O139, холерный токсин, В-субъединица холерного токсина, протеовибрин (комплекс ферментов) холерного вибриона, липополисахарид возбудителя туляремии. К антигенам получены сыворотки и гибридомы, которые используются в научных исследованиях и при разработке профилактических и диагностических препаратов.

В Российской Федерации зарегистрирован и выпускается уникальный препарат – вакцина холерная бивалентная химическая, таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой [13, 14]. Данный иммунобиологический лекарственный препарат производится в отделе профилактических препаратов института «Микроб». Основные компоненты вакцины – анатоксин холерного токсина и O-антигены холерного вибриона различных серогрупп [15–17]. В настоящее время проводится работа по внедрению в производственный процесс и включению в регламент по выпуску вакцины инструментальных методов контроля, позволяющих заменить тесты на лабораторных животных анализом *in vitro*.

В институте «Микроб» разработана экспериментальная технология получения антитоксического энтеросорбента для интраинтестинальной нейтрализации экзотоксина холерного вибриона. Данный препарат состоит из иммобилизованного на микрочастицах хитозана антитоксического противохолерного иммуноглобулина, выделенного из сыворотки крови животных, иммунизированных холерным токсином. Полученный иммуоэнтеросорбент стабилизирован лиофильным высушиванием с последующим формированием лекарственной формы энтеросорбента для направленной сорбции холерного экзотоксина. На полученную лекарственную форму оформлен патент [18].

На антигены холерного вибриона получены кроличьи сыворотки. Проведены межлабораторные комиссионные испытания экспериментальных серий сывороток кроличьих к O-антигенам холерного вибриона Огава, Инаба и к В-субъединице холерного токсина. Установлено, что все исследованные сыворотки обладают высокой специфической активностью и могут быть использованы при конструировании тест-систем и диагностикумов для контроля содержания антигенных компонентов в вакцине холерной химической таблетированной.

На основе выделенного и очищенного O-антигена получены иммуноглобулины и разработан препарат – иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие холерные O139 адсорбированные кроличьи, лиофилизат для диагностических целей. Иммуноглобулины предназначены для выявления и идентификации возбудителя холеры O139-серогруппы в мазках из различных материалов и чистых культур прямым методом флуоресцирующих антител.

При получении O-антигенного компонента холерной бивалентной химической вакцины остается

побочный продукт, в котором содержится комплекс низкомолекулярных биологически активных ферментов, среди которых преобладают протеаза, фосфолипазы А₂ и С. Из этого отхода получен и изучен ферментный комплекс холерного вибриона, названный авторами протеовибрином, который обладает активностью в отношении достаточно широкого спектра белковых субстратов, не уступая коммерческому трипсину, а в ряде случаев превосходит его по ферментативной активности [19]. Данное свойство протеовибрина было использовано в биотехнологии получения полисахарида чумного микроба с низкой токсичностью [20]. Другим важным направлением использования протеовибрина является первичный гидролиз белкового сырья в приготовлении микробиологических сред. Данный препарат применен в качестве трипсиноподобного агента, близкого по действию к поджелудочной железе, для ферментативного гидролиза казеина и пекарских дрожжей, традиционно используемых в качестве питательной основы при производстве холерных вакцин [21].

Разработаны методические подходы к культивированию туляремийного микроба и получению его антигенов и антигенных комплексов: ЛПС, протективный антигенный комплекс (ПАК), комплекс Vfr-O-антиген, стрессовые белки (Vfr, GroEl/GroEs, HSP) [22–24]. На ЛПС туляремийного микроба получены моноклональные антитела и сконструирована экспериментальная туляремийная дот-иммуоферментная тест-система («ДИАТул-М»), которая прошла лабораторные и полевые испытания и зарегистрирована [25]. Продемонстрирована иммуногенность конъюгатов протективных антигенных комплексов туляремийного микроба с наночастицами золота [26]. Выделен и всесторонне охарактеризован комплекс Vfr-O-антигена *Francisella tularensis*, показана потенциальная возможность его практического использования при конструировании прототипа химической туляремийной вакцины. При изучении влияния стрессовых условий на жизнеспособность возбудителя туляремии и экспрессию стрессовых антигенов электрооптическим методом показано, что условия культивирования оказывают значительное влияние на жизнеспособность микробных клеток и уровень экспрессии антигенов. Электрооптический мониторинг функционального состояния клеток возбудителя туляремии при культивировании позволит смоделировать оптимальные условия получения биомассы с максимальным выходом антигенов. Такие данные крайне необходимы при масштабном получении компонентов вакцин или антигенов для диагностических целей.

В последние годы получены, очищены и охарактеризованы антигены сибирской язвы: протективный антиген, антигены S-слоя (Sap, EAI) [27]. Создан прототип химической сибиреязвенной вакцины и экспериментальные иммунодиагностические препараты на основе рекомбинантного протективного антигена и белков S-слоя сибиреязвенного микроба. В ходе работы над данной тематикой разработан биологически безопасный и эффективный способ масшта-

бируемого получения высокоочищенных антигенов сибиреязвенного микроба – протективного антигена и белка S-слоя (EAI), необходимых для создания химических вакцин. Разработан способ, предусматривающий возможность их выделения в одной технологической цепочке, состоящей из этапов культивирования, стерилизующей фильтрации, концентрирования, диафильтрации и хроматографической очистки. В качестве продуцента протективного антигена и белка EAI сибиреязвенного микроба предложен аспорогенный, авирулентный генно-инженерный штамм *B. anthracis* 55ΔTPA-1Sp⁺ [28].

Большинство полученных, очищенных и изученных антигенных препаратов лиофилизированы и в условиях хранения при температуре 2–8 °С сохраняют свои свойства не менее 5 лет (срок наблюдения). В тестах на ускоренное старение и в стресс-условиях антигены чумного микроба стабильно сохраняли свои характеристики [29]. На полученные и изученные биологически активные вещества составлены паспорта с основными биологическими, физико-химическими, биохимическими и иммунохимическими характеристиками. К большинству антигенов получены сыворотки и иммуноглобулины. В настоящее время проводятся исследования данных антигенов с использованием высокотехнологического научного оборудования: масс-спектрометрии, инфракрасной Фурье-спектроскопии, электронной и атомно-силовой микроскопии [30–34].

В институте «Микроб» разработаны и используются в работе методы получения и очистки биологически активных веществ возбудителей чумы, холеры, туляремии и сибирской язвы. Нарботанные и охарактеризованные антигены применяются в работе научных и экспериментально производственных подразделений института при проектировании, конструировании и производстве профилактических и диагностических препаратов. Методы выделения и очистки антигенов оформлены в виде методических рекомендаций, отражены в публикациях, авторские методики запатентованы. Информация, представленная в статье, будет полезна для специалистов, исследователей, научных сотрудников, занимающихся изучением и конструированием профилактических и диагностических препаратов, а также подготовкой и апробацией средств для контроля МИБП на этапах их производства.

Дальнейшая работа в этом направлении будет посвящена разработке электронного реестра антигенов, который позволит объединить в одном виртуальном ресурсе накопленные данные об антигенах особо опасных инфекций, их составе, способах и методах их выделения и очистки, результатах биохимического и иммунохимического анализа.

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

- Бахрах Е.Э., Вейнблат В.И. Соматические полисахарид-содержащие антигены чумного микроба. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1972; 3:12–6.
- Вейнблат В.И., Дальвадянец С.М., Веренков М.С. Методы получения и очистки капсульного антигена и эндотоксина возбудителя чумы. *Лабораторное дело*. 1983; 12:37–9.
- Тараненко Т.М., Гольдфарб Л.М., Наумов А.В., Андреева И.П. Ускоренный метод выявления структурных особенностей липополисахарида по наличию альдегептозы у бактерий чумы и псевдотуберкулеза. *Лабораторное дело*. 1982; 2:46–7.
- Сердобинцев Л.Н., Тараненко Т.М., Веренков М.С., Наумов А.В. Получение капсульного антигена методом одно-этапной гелевой фильтрации. В кн.: Вопросы профилактики природно-очаговых инфекций. Саратов; 1983. С. 37–41.
- Гусева Н.П., Кравцов А.Л., Киреев М.Н., Тараненко Т.М., Шмелькова Т.П. Липополисахарид чумного микроба как индуктор апоптоза лимфоцитов крови и перитонеальных макрофагов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2003; 86:117–23.
- Щербаков А.А., Заднова С.П., Коннов Н.П. Анализ препарата мембранных белков чумного микроба иммунохимическими методами. В кн.: Молекулярная биология и микробиология природно-очаговых инфекций. Саратов; 1986. С. 93–100.
- Видяева Н.А., Кутырев В.В., Проценко О.А., Олейников П.Н., Анисимов П.И. Экспрессия антигенов чумного микроба, кодируемых плазмидой Ca²⁺-зависимости. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 1990; 6:17–21.
- Микеров А.Н., Емельянова Н.В., Назарова Л.С., Видяева Н.А., Кутырев В.В. Действие на мышей препаратов белков Уор, кодируемых плазмидой кальцийзависимости *Yersinia pestis*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2000; 6:70–6.
- Спицын А.Н., Уткин Д.В., Киреев М.Н., Шарапова Н.А., Ерохин П.С., Германчук В.Г., Кочубей В.И. Оптическая регистрация образования иммунных комплексов с использованием наночастиц коллоидного золота. *Оптика и спектроскопия*. 2018; 125(5):716–20. DOI: 10.21883/OS.2018.11.46848.199.
- Уткин Д.В., Киреев М.Н., Никифоров К.А., Волох О.А. Способ изготовления биологических микроматриц для выявления генетических и белковых маркеров. Патент РФ № 2792447, опубл. 22.03.2023.
- Бойко А.В., Киреев М.Н., Осина Н.А., Куклев В.Е. Композитный чумной антигенный F1-диагностикум для индикации специфических антител. Патент РФ № 2582941, опубл. 27.04.2016. Бюл. № 12.
- Киреев М.Н., Волох О.А., Никифоров А.К. Композиты на основе природных биополимеров: свойства и перспективы применения при создании трансдермальных форм вакцин. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016; 1:70–2.
- Джапаридзе М.Н., Наумов А.В., Мелешенко М.В., Никитина Г.П. Способ получения пероральной химической вакцины. Патент РФ № 2076734, опубл. 10.04.1997.
- Волох О.А., Шепелёв И.А., Заднова С.П., Крепостнова И.М., Еремин С.А. Изучение биокинетических особенностей и оптимизация условий культивирования штаммов холерного вибриона – продуцентов протективных антигенов, перспективных для внедрения в производство. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2008; 1:52–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2008-1(95)-52-55.
- Громова О.В., Джапаридзе М.Н., Дятлов И.А., Елисеев Ю.Ю., Киреев М.Н., Космаенко О.М. Способ получения О-антигена холерного очищенного. Патент РФ № 2143280, опубл. 27.12.1919.
- Захарова Т.Л., Заднова С.П., Ливанова Л.Ф., Киреев М.Н., Смирнова Н.И. Использование рекомбинантных штаммов для одновременного получения нескольких очищенных основных протективных антигенов холерного вибриона. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 2:68–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-2(100)-68-71.
- Дыкман Л.А., Волох О.А., Громова О.В., Дуракова О.С., Воробьева С.А., Киреев М.Н., Ливанова Л.Ф., Никифоров А.К., Щеголев С.Ю., Кутырев В.В. Получение и характеристика антител к протективному антигену холерного вибриона, конъюгированным с наночастицами золота. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни*. 2020; 490(1):27–30. DOI: 10.31857/S2686738920010084.
- Овчинникова М.В., Абрамова Е.Г., Киреев М.Н., Комиссаров А.В., Никифоров А.К., Кутырев В.В. Энтеросорбент для направленной сорбции холерного экзотоксина, лекарственная форма энтеросорбента для направленной сорбции холерного экзотоксина. Патент РФ № 26113556, опубл. 21.02.2017. Бюл. № 6.
- Кузьмиченко И.А., Киреев М.Н., Громова О.В., Бронникова В.С., Нижегородцев С.А. Гидролизующая способность протеазы ферментного комплекса холерного вибриона – протеовибрина по отношению к белковым субстратам. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2008; 4:37–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2008-4(98)-37-39.
- Полунина Т.А., Гусева Н.П., Кузьмиченко И.А., Девдариани З.Л., Заднова С.П., Степанов А.В., Киреев М.Н. Способ получения липополисахарида возбудителя чумы. Патент РФ № 2483112, опубл. 27.05.2013. Бюл. № 15.
- Кузьмиченко И.А., Громова О.В., Киреев М.Н., Плотников О.П., Грачева И.В., Виноградова Н.А., Солодовников Н.С., Червякова Н.С., Нижегородцев С.А., Антонючева М.В. Способ получения питательной основы и питательная среда для культивирования микроорганизмов рода *Yersinia* и *Vibrio*. Патент РФ № 2360962, опубл. 10.07.2009.
- Кузнецова Е.М., Волох О.А., Шепелёв И.А., Никифоров А.К. Компонентный состав протективного антигенного комплекса туляремиального микроба. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2012; 3:22–5.
- Кузнецова Е.М., Волох О.А., Краснов Я.М., Полунина Т.А., Авдеева Н.Г., Самохвалова Ю.И., Баданин Д.В., Киреев М.Н., Германчук В.Г., Никифоров А.К. Комплекс Вфг-О-антиген внешних мембран *Francisella tularensis*: получение, характеристика, возможности использования. *Биотехнология*. 2019; 35(1):73–81. DOI: 10.21519/0234-2758-2019-35-1-73-81.
- Борисова С.В., Волох О.А., Кожевников В.А., Кравцов А.Л., Никифоров А.К. Динамика показателей иммунитета биомодели, иммунизированных стресс-белками *Francisella tularensis*. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2023; 19(3):6–13.
- Терешкина Н.Е., Терехова И.В., Сырова Н.А., Девдариани З.Л., Ляшова О.Ю., Григорьева Г.В., Лобовикова О.А., Шульгина И.В., Иваненко И.Л., Захарова Н.Б., Безрукова Г.А., Спирин В.Ф. Конструирование и медицинские испытания моноклональной дот-иммуноферментной тест-системы для детекции туляремиального микроба «ДИАТул-М». *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 2:42–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-2-42-45.
- Дыкман Л.А., Волох О.А., Кузнецова Е.М., Никифоров А.К. Иммуногенность конъюгатов протективных антигенных комплексов туляремиального микроба с наночастицами золота. *Российские нанотехнологии*. 2018; 13(7-8):36–43.
- Микшиш Н.И., Семакова А.П., Попова П.Ю., Кудрявцева О.М., Бугоркова С.А., Комиссаров А.В., Германчук В.Г., Попов Ю.А. Определение соответствия прототипа рекомбинантной сибирезавенной вакцины требованиям, предъявляемым к иммунобиологическим препаратам. *Инфекция и иммунитет*. 2018; 8(3):388–92.
- Микшиш Н.И., Попов Ю.А., Шулепов Д.В. Аспорогенный рекомбинантный штамм *Bacillus anthracis* 55ΔTPA-1Sp0 (pUB110PA-1)-продуцент протективного антигена сибирезавенного микроба. Патент РФ № 2321629, опубл. 10.04.2008.
- Киреев М.Н., Тараненко Т.М., Храменкова Т.А., Гусева Н.П., Полунина Т.А., Павлова В.И., Подборонова Н.А., Девдариани З.Л., Голова А.Б., Дальвадянец С.М. Изучение стабильности антигенных компонентов чумной химической вакцины (Ф1+ОСА) в тестах на «ускоренное старение» и стресс-условия. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; 1:70–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-1(99)-70-74.
- Гаева А.В., Громова О.В., Дуракова О.С., Генералов С.В., Волох О.А. Современные подходы к контролю активных компонентов холерной химической вакцины. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018; 1:152–7.
- Гаева А.В., Громова О.В., Дуракова О.С., Генералов С.В., Ливанова Л.Ф., Волох О.А. Определение специфической активности компонентов холерной химической вакцины с использованием культуры клеток. *Биотехнология*. 2020; 36(3):82–9.
- Громова О.В., Киреев М.Н., Дуракова О.С., Ливанова Л.Ф., Гаева А.В., Воробьева С.А., Волох О.А. Способ получения холерного токсина для контроля производства холерной химической вакцины. Патент РФ № 2799574, опубл. 06.07.2023. Бюл. № 19.
- 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.
- Германчук В.Г., Уткин Д.В., Спицын А.Н., Киреев М.Н., Щербакова Н.Е. Индикация холерного токсина с помощью MALDI масс-спектрометрии. *Здоровье населения и среда обитания – 3НУСО*. 2015; 3:27–31.

References

- Bakhrakh E.E., Veinblat V.I. [Somatic polysaccharide-containing antigens of the plague microbe]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology]*. 1972; (3):12–6.
- Veinblat V.I., Dal'vadyants S.M., Verenkov M.S. [Methods for obtaining and purifying capsular antigen and endotoxin of the plague pathogen]. *Laboratornoe Delo [Laboratory Work]*. 1983; (12):37–9.

3. Taranenko T.M., Goldfarb L.M., Naumov A.V., Andreeva I.P. [An express method for identifying the structural features of lipopolysaccharide by the presence of aldoheptose in plague and pseudotuberculosis bacteria]. *Laboratornoe Delo [Laboratory Work]*. 1982; (2):46–7.
4. Serdobintsev L.N., Taranenko T.M., Verenkov M.S., Naumov A.V. [Production of capsular antigen using one-step gel filtration]. In: [Issues of Prevention of Natural-Focal Infections]. Saratov; 1983. P. 37–41.
5. Guseva N.P., Kravtsov A.L., Kireev M.N., Taranenko T.M., Shmel'kova T.P. [Plague microbe lipopolysaccharide as an inducer of apoptosis of blood lymphocytes and peritoneal macrophages]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2003; (86):117–23.
6. Shcherbakov A.A., Zadnova S.P., Konnov N.P. [Analysis of preparation of the plague microbe membrane proteins using immunochemical methods]. In: [Molecular Biology and Microbiology of Natural-Focal Infections]. Saratov; 1986. P. 93–100.
7. Vidyayeva N.A., Kut'yev V.V., Protsenko O.A., Oleynikov P.N., Anisimov P.I. [Expression of plague microbe antigens encoded by the Ca2+-dependence plasmid]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 1990; (6):17–21.
8. Mikerov A.N., Emel'yanova N.V., Nazarova L.S., Vidyayeva N.A., Kut'yev V.V. [Effect of Yop protein preparations encoded by the *Yersinia pestis* calcium dependence plasmid on mice]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology]*. 2000; (6):70–6.
9. Spitsyn A.N., Utkin D.V., Kireev M.N., Sharapova N.A., Erokhin P.S., Germanchuk V.G., Kochubey V.I. [Optical registration of the formation of immune complexes using colloidal gold nanoparticles]. *Optika i Spektroskopiya [Optics and Spectroscopy]*. 2018; 125(5):716–20. DOI: 10.21883/OS.2018.11.46848.199.
10. Utkin D.V., Kireev M.N., Nikiforov K.A., Volokh O.A. [A method for producing biological microarrays for identifying genetic and protein markers]. RF Patent No. 2792447, publ. 03/22/2023.
11. Boiko A.V., Kireev M.N., Osina N.A., Kuklev V.E. [Composite plague antigen F1 diagnosticum for indicating specific antibodies]. RF Patent No. 2582941, publ. 04/27/2016. Bull. No. 12.
12. Kireev M.N., Volokh O.A., Nikiforov A.K. [Composites based on natural biopolymers: properties and prospects for use in the creation of transdermal forms of vaccines]. *Razrabotka i Registratsiya Lekarnykh Sredstv [Development and Registration of Medicinal Products]*. 2016; (1):70–2.
13. Dzhaparidze M.N., Naumov A.V., Meleshchenko M.V., Nikitina G.P. [Method for producing an oral chemical vaccine]. RF Patent No. 2076734, publ. 04/10/1997.
14. Volokh O.A., Shepelev I.A., Zadnova S.P., Krepostnova I.M., Eremin S.A. [A study of biokinetic peculiarities and optimization of the conditions for culturing *Vibrio cholerae* strains over-producing protective antigens suitable for use in the production]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2008; (1):52–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2008-1(95)-52-55.
15. Gromova O.V., Dzhaparidze M.N., Dyatlov I.A., Eliseev Yu.Yu., Kireev M.N., Kosmaenko O.M. [Method for obtaining purified cholera O-antigen]. RF Patent No. 2143280, publ. 12/27/1919.
16. Zakharova T.L., Zadnova S.P., Livanova L.F., Kireev M.N., Smirnova N.I. [Recombinant strains application for simultaneous preparation of several purified cholera vibrio antigens]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; (2):68–71. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-2(100)-68-71.
17. Dykman L.A., Volokh O.A., Gromova O.V., Durakova O.S., Vorob'eva S.A., Kireev M.N., Livanova L.F., Nikiforov A.K., Shchegolev S.Yu., Kut'yev V.V. [Production and characterization of antibodies to protective antigens of *Vibrio cholerae* conjugated with gold nanoparticles]. *Reports of the Russian Academy of Sciences. Life Sciences*. 2020; 490(1):27–30. DOI: 10.31857/S2686738920010084.
18. Ovchinnikova M.V., Abramova E.G., Kireev M.N., Komissarov A.V., Nikiforov A.K., Kut'yev V.V. [Enterosorbent for targeted sorption of cholera exotoxin, dosage form of enterosorbent for targeted sorption of cholera exotoxin]. RF Patent No. 26113556, publ. 02/21/2017. Bull. No. 6.
19. Kuz'michenko I.A., Kireev M.N., Gromova O.V., Bronnikov V.S., Nizhegorodtsev S.A. [Hydrolyzing ability of protease of enzyme complex of cholera vibrio that is proteovibrin for protein substrates]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2008; (4):37–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2008-4(98)-37-39.
20. Polunina T.A., Guseva N.P., Kuz'michenko I.A., Devdariani Z.L., Zadnova S.P., Stepanov A.V., Kireev M.N. [Method for producing plague pathogen lipopolysaccharide]. RF Patent No. 2483112, publ. 05/27/2013. Bull. No. 15.
21. Kuz'michenko I.A., Gromova O.V., Kireev M.N., Plotnikov O.P., Gracheva I.V., Vinogradova N.A., Solodovnikov N.S., Chervyakova N.S., Nizhegorodtsev S.A., Antonycheva M.V. [Method for obtaining a nutrient base and nutrient medium for cultivating microorganisms of the genus *Yersinia* and *Vibrio*]. RF Patent No. 2360962, publ. 07/10/2009.
22. Kuznetsova E.M., Volokh O.A., Shepelev I.A., Nikiforov A.K. [Component composition of the protective antigenic complex of tularemia microbe]. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2012; (3):22–5.
23. Kuznetsova E.M., Volokh O.A., Krasnov Ya.M., Polunina T.A., Avdeeva N.G., Samokhvalova Yu.I., Badanin D.V., Kireev M.N., Germanchuk V.G., Nikiforov A.K. [*Francisella tularensis* outer membrane complex Bff-O-antigen: preparation, characteristics, possibilities of use]. *Biotechnologiya [Biotechnology]*. 2019; 35(1):73–81. DOI: 10.21519/0234-2758-2019-35-1-73-81.
24. Borisova S.V., Volokh O.A., Kozhevnikov V.A., Kravtsov A.L., Nikiforov A.K. [Dynamics of immunity parameters of biodels immunized with *Francisella tularensis* stress proteins]. *Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov*. 2023; 19(3):6–13.
25. Tereshkina N.E., Terekhova I.V., Syrova N.A., Devdariani Z.L., Lyashova O.Yu., Grigorieva G.V., Lobovikova O.A., Shul'gina I.V., Ivanenko I.L., Zakharova N.B., Bezrukova G.A., Spirin V.F. [Constructing and medical trials of a monoclonal dot-immunoenzyme test-system "DIATul-M" for tularemia microbe detection]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (2):42–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-2-42-45.
26. Dykman L.A., Volokh O.A., Kuznetsova E.M., Nikiforov A.K. [Immunogenicity of conjugates of protective antigenic complexes of the tularemia microbe with gold nanoparticles]. *Rossiiskie Nanotekhnologii [Russian Nanotechnologies]*. 2018; 13(7-8):36–43.
27. Mikshis N.I., Semakova A.P., Popova P.Yu., Kudryavtseva O.M., Bugorkova S.A., Komissarov A.V., Germanchuk V.G., Popov Yu.A. [Determination of compliance of the recombinant anthrax vaccine prototype with the requirements for immunobiological preparations]. *Infektsiya i Immunitet [Infection and Immunity]*. 2018; 8(3):388–92.
28. Mikshis N.I., Popov Yu.A., Shulepov D.V. [Asporogenous recombinant strain of *Bacillus anthracis* 55ATPA-1Sp0 (pUB110PA-1), producer of the protective antigen of anthrax microbe]. RF Patent No. 2321629, publ. 04/10/2008.
29. Kireev M.N., Taranenko T.M., Khranchenkova T.A., Guseva N.P., Polunina T.A., Pavlova V.I., Podboronova N.A., Devdariani Z.L., Golova A.B., Dal'vadyants S.M. [Analysis of stability of plague chemical vaccine (F1+MSA) antigenic components in the tests of accelerated ageing and stress conditions]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; (1):70–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-1(99)-70-74.
30. Gaeva A.V., Gromova O.V., Durakova O.S., Generalov S.V., Volokh O.A. [Modern approaches to the control of active components of cholera chemical vaccine]. *Razrabotka i Registratsiya Lekarnykh Sredstv [Development and Registration of Medicinal Products]*. 2018; (1):152–7.
31. Gaeva A.V., Gromova O.V., Durakova O.S., Generalov S.V., Livanova L.F., Volokh O.A. [Determination of the specific activity of cholera chemical vaccine components using cell culture]. *Biotechnologiya [Biotechnology]*. 2020; 36(3):82–9.
32. Gromova O.V., Kireev M.N., Durakova O.S., Livanova L.F., Gaeva A.V., Vorob'eva S.A., Volokh O.A. [Method for obtaining cholera toxin to control the production of cholera chemical vaccine]. RF Patent No. 2799574, publ. 07/06/2023. Bull. No. 19.
33. 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 analysis]. *Izvestiya Saratovskogo Universiteta. Novaya Seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya [Bulletin of Saratov University. New series. Series: Chemistry. Biology. Ecology]*. 2018; 18(3):318–9. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-3-318-319.
34. Germanchuk V.G., Utkin D.V., Spitsyn A.N., Kireev M.N., Shcherbakova N.E. [Indication of cholera toxin using MALDI mass spectrometry]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2015; (3):27–31.

Authors:

Kireev M.N., Gromova O.V., Borisova S.V., Vorob'eva S.A., Vol'nikov V.R., Salikhov R.R., Volokh O.A. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Киреев М.Н., Громова О.В., Борисова С.В., Воробьева С.А., Вольников В.Р., Салихов Р.Р., Волох О.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-20-26

УДК 616.932:579

А.Ю. Кураташвили¹, Н.А. Плеханов¹, Л.В. Карпунина², С.П. Заднова¹**Системы устойчивости к фагам в штаммах *Vibrio cholerae***¹ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация;²ФГБОУ ВО «Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова», Саратов, Российская Федерация

Цель обзора – анализ литературных данных о системах устойчивости штаммов *Vibrio cholerae* к литическим холерным фагам. Холерные фаги присутствуют как в воде открытых водоемов, так и выделяются совместно с возбудителем из организма больных холерой. Механизмы молекулярной защиты *V. cholerae* от фагов подобны данным системам других бактерий, действуют на всех этапах фаговой инфекции и включают следующие стадии: предотвращение адсорбции фага, деградация фаговых нуклеиновых кислот и ингибирование процесса формирования частиц фага. Блокирование взаимодействия фага с бактериальной клеткой происходит в результате модификации рецепторов, продукции внеклеточных полисахаридов, создающих физический барьер между фагами и поверхностью клетки. Если ДНК фага все же проникла в клетки, то она уничтожается посредством ферментов рестрикции-модификации, а также с помощью адаптивной иммунной системы CRISPR-Cas. Наиболее многочисленными являются механизмы блокирования формирования фаговых частиц в клетках. Данный процесс происходит при участии фагоиндуцируемых PLE-островов, системы исключения бактериофагов BREX и abortивной Abi-инфекции, включающей антифаговую сигнальную систему на основе циклических олигонуклеотидов (CBASS) и систему токсин-антитоксин. При Abi-инфекции зараженные фагом клетки самоуничтожаются и погибают раньше, чем формируются зрелые частицы фага, что способствует сохранению популяции *V. cholerae*. Молекулярные механизмы ряда антифаговых систем еще до конца не выяснены, что указывает на необходимость дальнейшего изучения взаимоотношений фаг – хозяин.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, антифаговые системы, система CRISPR-Cas, PLE-острова, BREX-система, Abi-инфекция.

Корреспондирующий автор: Плеханов Никита Александрович, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Кураташвили А.Ю., Плеханов Н.А., Карпунина Л.В., Заднова С.П. Системы устойчивости к фагам в штаммах *Vibrio cholerae*. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 2:20–26. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-20-26

Поступила 06.02.2024. Отправлена на доработку 20.02.2024. Принята к публ. 15.04.2024.

A.Yu. Kuratashvili¹, N.A. Plekhanov¹, L.V. Karpunina², S.P. Zadnova¹**Systems of Phage Resistance in *Vibrio cholerae* Strains**¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation;²Saratov State University of Genetics, Biotechnology, and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russian Federation

Abstract. The aim of the review is to analyze the literature data on systems of resistance to lytic cholera phages in *Vibrio cholerae* strains. Cholera phages are both present in the water of open reservoirs and isolated together with the pathogen from cholera patients. The mechanisms of molecular protection of *V. cholerae* from phages are similar to these systems of other bacteria, act at all stages of phage infection and include the following stages: prevention of phage adsorption, degradation of phage nucleic acids and inhibition of the formation of phage particles. Blocking the interaction of a phage with a bacterial cell occurs as a result of modification of receptors and the production of extracellular polysaccharides that create a physical barrier between the phages and the cell surface. If the phage DNA does enter the cells, it is destroyed by restriction-modification enzymes, as well as by the adaptive immune system CRISPR-Cas. The most numerous are the mechanisms for blocking the formation of phage particles in cells. This process occurs with the participation of phage-inducible PLE islands, the BREX bacteriophage exclusion system and abortive Abi infection, including the cyclic oligonucleotide-based anti-phage signaling system (CBASS) and the toxin-antitoxin system. During Abi infection, cells infected with the phage self-destruct and die before mature phage particles are formed, which contributes to the preservation of the *V. cholerae* population. The molecular mechanisms of a number of anti-phage systems have not yet been fully elucidated, which indicates the need for further study of the phage-host relations.

Key words: *Vibrio cholerae*, anti-phage systems, CRISPR-Cas system, PLE islands, BREX system, Abi infection.

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

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

Corresponding author: Nikita A. Plekhanov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Kuratashvili A.Yu., Plekhanov N.A., Karpunina L.V., Zadnova S.P. Systems of Phage Resistance in *Vibrio cholerae* Strains. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:20–26. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-20-26

Received 06.02.2024. Revised 20.02.2024. Accepted 15.04.2024.

Kuratashvili A.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9779-166X>
Plekhanov N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2355-7018>

Zadnova S.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4366-0562>

Бактериофаги (фаги) являются одним из компонентов внешней среды, постоянно воздействующих на бактериальные клетки. Холерным фагам, которые также часто выделяются совместно с возбудителем от больных холерой, принадлежит важная роль в генетическом разнообразии штаммов холерного вибриона. Совместное существование вибрионов и фагов и необходимость взаимного приспособления являются значимым фактором эволюции как патогена, так и фагов. Бактерии приобретают различные механизмы устойчивости к фагам посредством мутаций и горизонтального переноса генов, в свою очередь фаги легко развивают устойчивость ко многим бактериальным защитным системам. Показано, что антифаговые гены могут составлять более 10 % бактериального генома, а их анализ позволяет выявлять генетические различия между близкородственными штаммами. Ряд структур, включающих гены устойчивости к фагам, у холерного вибриона изучены достаточно подробно. Однако обнаруживаются новые системы, защищающие клетки от фагов. Высказывается предположение, что одна из причин длительного существования возбудителя холеры обусловлена его способностью противостоять фагам в результате выработки различных стратегий резистентности [1–3]. Механизмы устойчивости штаммов *Vibrio cholerae* к фагам нацелены практически на все этапы фаговой инфекции: на предотвращение адсорбции (изменение фаговых рецепторов, продукция внеклеточных полисахаридов), деградацию фаговых нуклеиновых кислот (системы рестрикции-модификации, CRISPR-Cas-системы), ингибирование процесса продукции частиц фага (PLE-острова, системы BREX, Abi, CBASS, токсин-антитоксин). Изучение антифаговых систем расширяет наши знания о генетическом разнообразии штаммов холерного вибриона. Кроме того, в связи с появлением бактерий, устойчивых к большому числу антибиотиков, активно развивается направление по использованию фагов для лечения и профилактики холеры. При этом, несмотря на присутствие у холерного вибриона большого количества антифаговых систем, разработано несколько препаратов на основе «фагового коктейля», которые способны уничтожить фаги, и предлагаются в качестве лечебных [4, 5]. Таким образом, анализ данных о системах устойчивости штаммов *V. cholerae* к литическим фагам представляет как научный, так и практический интерес.

Цель работы – анализ литературных данных о системах устойчивости штаммов *V. cholerae* к литическим холерным фагам.

Предотвращение адсорбции фага. Первый этап взаимодействия фага с бактериальной клеткой включает специфическое связывание с рецептором на поверхности клетки-хозяина. В качестве рецепторов фаги используют различные поверхностные структуры: пили, белки внешней мембраны, O-антигены липополисахарида. При изучении рецепторов для типизирующих VP1 – VP5 холерных фагов выявлено, что фаг VP5 взаимодействует с белком внешней мембраны OmpW, VP4 – с O1-антигеном, VP2 использует в качестве рецепторов мембранные белки системы секреции II типа EpsD и EpsM, а рецепторами для фага VP3 являются несколько поверхностных структур (белок внешней мембраны TolC, коровые олигосахариды липополисахарида, O1-антиген) [6–10]. Долгое время не были выявлены рецепторы для фага VP1. В 2021 г. F. Fan *et al.* установили, что данный фаг взаимодействует с мембранным белком, обозначенным как VcpQ (*V. cholerae* polyQ protein). Штаммы, лизирующиеся фагом VP1, содержат белок VcpQ, включающий 46 аминокислотных остатков глутаминовой кислоты. Если происходила модификация белка VcpQ (количество глутамина уменьшалось), то адсорбция фага снижалась или полностью прекращалась [11].

Нами при изучении механизмов устойчивости штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор к холерному диагностическому фагу эльтор исследована структура гена *vcpQ* и аминокислотная последовательность белка VcpQ у 17 токсигенных штаммов, содержащих гены *ctxAB*, кодирующие биосинтез холерного токсина, завезенных в РФ в 1970–2014 гг., и 20 нетоксигенных (*ctxAB*⁻) штаммов, изолированных от больных и из воды открытых водоемов в 1981–2020 гг. В результате установлено, что 76,5 % токсигенных и 30 % нетоксигенных штаммов содержали в белке VcpQ 46 остатков глутамина, у остальных его количество варьировало от 12 до 44 (рис. 1). Однако присутствие глутамина в белке VcpQ не коррелировало с чувствительностью изученных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор к фагу эльтор. Устойчивые к данному фагу штаммы имели интактный белок VcpQ, содержащий 46 остатков глутамина, а у ряда лизирующихся данным фагом изолятов протеин VcpQ включал меньшее количество глута-

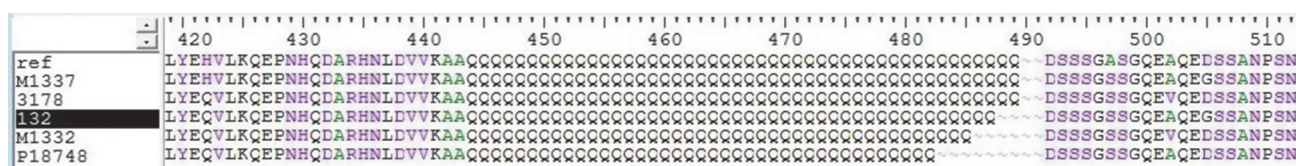


Рис. 1. Вариабельность аминокислотной последовательности белка VcpQ у некоторых нетоксигенных (*ctxAB*⁻) штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор (собственные данные)

Fig. 1. Variability of the amino acid sequence in the VcpQ protein in some non-toxicogenic (*ctxAB*⁻) strains of *V. cholerae* O1 biovar El Tor (own data)

мина. Полученные данные показывают, что данный белок не является рецептором для диагностического холерного фага эльтор.

Среди большого количества выявленных литических фагов *V. cholerae* хорошо изученными являются три фага: ICP1, ICP2 и ICP3. Фаг ICP1 впервые выделен в 1992 г. в Индии от больного. В дальнейшем установлено, что данный фаг очень часто изолируется из внешней среды, а также от больных в Бангладеш [12–15]. Установлено, что в качестве рецептора фаги ICP1 и ICP3 используют O1-антиген. Фаг ICP2 прикрепляется к белку внешней мембраны OmpU. Показано, что при модификации O1-антигена штаммы *V. cholerae* становятся устойчивыми к фагам ICP1 и ICP3. При этом у резистентных к фагам ICP штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор снижаются вирулентные свойства. Как известно, O1-антиген используется вибрионами в качестве адгезина при прикреплении к эпителиоцитам кишечника, а в результате его модификации колонизирующая способность вибрионов уменьшается и штаммы становятся менее вирулентными [16, 17].

Показано, что повышение устойчивости штаммов *V. cholerae* к фагам может происходить в результате функционирования системы quorum sensing (QS) – механизма, в котором экспрессия генов зависит от плотности бактериальной популяции и накопления в среде определенных химических сигнальных молекул – аутоиндукторов. У холерного вибриона хорошо изученными являются две системы QS. Первая включает аутоиндуктор CAI-1 и сенсорный белок CqsS, вторая – аутоиндуктор AI-2 и сенсорный белковый комплекс LuxPQ. Экспериментально доказано, что при добавлении CAI-1 и AI-2 в смешанные культуры с фагами выживаемость *V. cholerae* увеличивалась, а титр фага резко снижался. При этом наблюдаемый эффект влияния аутоиндукторов был опосредован QS-зависимой продукцией растворимой геагглютинин протеазы (HAP), а также изменением структуры фаговых рецепторов. Аутоиндукторы репрессируют экспрессию генов, необходимых для биосинтеза O1-антигена липополисахарида, который фаги используют в качестве рецептора, а продуцируемая во внешнюю среду HAP лизирует холерные фаги [18].

Еще одной стратегией защиты *V. cholerae* от фагов является продукция так называемых «ловушек», в роли которых выступают везикулы наружной мембраны (ВНМ). ВНМ имеют сферическую форму и включают периплазму клеток, окруженную мембраной, состав которой идентичен бактериальной клетке, в том числе в ней содержится O1-антиген, белки Omp внешней мембраны. Экспериментально доказано, что активная продукция ВНМ защищает популяцию *V. cholerae* от действия всех трех фагов ICP. Учитывая, что фаги ICP1, ICP2, ICP3 входят в состав препарата для фаготерапии, необходимо предусматривать возможность выработки ВНМ как бактериального механизма, который может повлиять на результат лечения фагами [19].

Помимо изменения поверхностных рецепторов, резистентность к фагу может быть также достигнута за счет продукции внеклеточного полисахаридного матрикса – ключевого компонента бактериальной биопленки, защищающей клетки от неблагоприятных факторов внешней среды. Стоит отметить, что формирование биопленки и продукция экзополисахарида также регулируется системой QS. Слой полисахаридов обеспечивает физический барьер между фагами и поверхностью клетки, маскируя фаговые рецепторы. Однако некоторые фаги приобрели способность разрушать полисахариды с помощью ферментов (полисахараз и лиаз). Так, экспериментально доказано, что лиаза, продуцируемая фагом JA1, нарушает структуру капсульного полисахарида штамма *V. cholerae* AI-1838 O139-серогруппы, чем и объясняется способность данного фага специфически лизировать штаммы указанной серогруппы [20].

Таким образом, адсорбция фага на поверхности клетки-хозяина является одним из наиболее важных этапов фаговой инфекции. В связи с этим для проведения эффективной фаготерапии необходимы знания о рецепторах, используемых фагами. Для сохранения рецепторов в интактном состоянии, а также исключения возможности патогена к продукции экзополисахарида, необходимо предварительно блокировать систему QS [21, 22].

Дегградация фаговых нуклеиновых кислот.

Если ДНК фага все-таки попала в клетку, она уничтожается с помощью ферментов рестрикции-модификации (RM) и с использованием адаптивной иммунной системы CRISPR-Cas (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats – CRISPR associated proteins). RM является наиболее распространенной формой активной защиты бактерий от фагов. Данные системы подразделяются на четыре класса (I–IV) и включают гены, кодирующие эндонуклеазу рестрикции и метилтрансферазу или только эндонуклеазу. Эндонуклеазы фрагментируют экзогенную ДНК. Для того чтобы предотвратить неизбежное действие ферментов на собственную ДНК, бактерии синтезируют метилтрансферазы для ее модификации. Системы рестрикции-модификации выявлены как в токсигенных штаммах *V. cholerae* серогрупп O1 и O139, так и в нетоксигенных изолятах данных серогрупп. Так, в геноме токсигенных штаммов в составе острова патогенности VPI-2 обнаружена система RM I типа, а в составе ICE SXT-элемента – RM I и II типов [1, 23]. Стоит отметить, что расположение систем рестрикции-модификации на мобильных генетических элементах способствует их передаче другим бактериям в результате горизонтального переноса.

CRISPR/Cas-система функционирует как бактериальная приобретенная иммунная система, запасающая вирусный генетический материал и предотвращающая последующее заражение бактерий фагами [24]. Данные системы делятся на два класса (1 и 2), шесть типов (I–VI), которые включают раз-

личное количество подтипов. CRISPR/Cas-локусы, как правило, состоят из прямых повторов длиной 21–48 п.н., разделенных неповторяющимися спейсерами (26–72 п.н.), и различного количества генов *cas* (от 4 до 20). Чем большее количество фагов заражают клетку-хозяина и чем разнообразнее приобретенные спейсеры, тем эффективнее бактерии защищаются от заражения разными фагами. Гены CRISPR/Cas-системы идентифицированы в штаммах *V. cholerae* O1 классического биовара, а также в геномах нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор и расположены преимущественно на геномных островах и транспозоноподобных элементах [25].

Ингибирование образования фаговых частиц.

Одним из механизмов устойчивости бактерий к фагам является наличие систем, блокирующих репликацию фагов. Так, у токсигенных штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы выявлены фагоиндуцируемые PLE-острова (Phage inducible chromosomal island-like elements) размером 19 kb, используемые для защиты от фага ICP1 [26]. Первоначально было выявлено 5 типов данных мобильных генетических элементов, в настоящее время описано 10. Показано, что каждый тип PLE доминировал в штаммах *V. cholerae*, выделенных в определенный период времени, при этом в одном штамме содержался только один тип PLE-острова. При этом в штаммах *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, выделенных после 2018 г., данные острова отсутствуют. Некоторые из PLE-островов выявлены в штаммах, циркулировавших короткое время, и больше затем не встречались. Так, PLE6 присутствовал только в одном штамме, выделенном в Бангладеш в 1987 г., а PLE10 – в четырех штаммах, изолированных от одного больного на данной территории в 2017 г. PLE5 обнаруживается в штаммах *V. cholerae* классического биовара. PLE8 был в штаммах *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, циркулировавших во Вьетнаме в 1995 и 2004 гг. Наиболее распространенным является остров PLE4, обнаруженный в штаммах *V. cholerae*, вызвавших осложнения в 1994–2005 гг. в разных странах мира [26, 27]. Данный тип PLE выявлен и нами при анализе штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор, завезенных в 1993–1999 гг. на территорию РФ и Украины [28].

PLE-острова включают гены, способствующие функционированию их как мобильных генетических элементов (*int* – интегразы, *repA* – фактор инициации репликации); консервативные гены, характерные для всех типов PLE-островов (*capR* – подавляет морфогенез капсида фага, *nixI* – кодирует никазу, препятствующую репликации фага, *lidI* – способствует лизису клеток холерного вибриона); гены с неизвестной функцией, а также вариабельные участки, характерные для определенного типа PLE-острова. При попадании фага ICP1 в клетки происходит активная экспрессия нуклеазы NixI, которая расщепляет генетический материал фага ICP1 [29]. Параллельно происходит вырезание PLE-элемента из хромосомы, образование его репликативной формы и формирова-

ние фаговых частиц, содержащих генетический PLE-материал. Зараженные клетки в итоге лизируются, но процесс распространения фага ICP1 на соседние бактерии останавливается, что способствует сохранению популяции штаммов *V. cholerae* [30–32].

В 2015 г. T. Goldfarb *et al.* сообщили об обнаружении у *Bacillus cereus* новой системы уничтожения фагов – BREX (Bacteriophage exclusion), придающей устойчивость к широкому кругу вирулентных и умеренных фагов [33]. Действие данной системы основано на блокировании репликации ДНК фага по невыясненному пока механизму. Гены BREX-системы обнаружены в геноме многих грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, в том числе и у холерного вибриона. Данная защитная система разделена на 6 основных типов, в каждом из которых содержится от 4 до 8 генов, при этом наиболее распространенным является 1-й тип. Гены *pglZ* (*brxZ*), кодирующий щелочную фосфатазу, и *pglY* (*brxC*), ответственный за продукцию АТФазы, являются консервативными и присутствуют в каждом из шести типов BREX-системы [34]. У токсигенных штаммов *V. cholerae* O1 биовара Эль Тор гены BREX-системы 1-го типа обнаружены в составе «пятой горячей точки» ICE SXT-элементов [1].

Абортивная иммунная инфекция Abi (abortive infection) – одна из стратегий борьбы с фагами, при которой инфицированная клетка вырабатывает вещества, которые способствуют ее гибели. Abi активируется на стадии образования фаговых частиц. Подавляя собственный метаболизм и останавливая рост, что в конечном итоге приводит к апоптозу, клетка блокирует процесс созревания и высвобождения фаговых частиц. Abi-инфекция происходит с использованием антифаговой сигнальной системы на основе циклических олигонуклеотидов CBASS (Cyclic oligonucleotide based anti-phage signaling system) и системы токсин-антитоксин (ТА). Гены, кодирующие CBASS-систему *V. cholerae*, расположены на острове пандемичности VSP-I и включают оперон из четырех генов: *capV* (*vc0178*), *dncV* (*vc0179*), *cap2* (*vc0180*), *cap3* (*vc0181*). При проникновении фага в клетку активируется транскрипция гена *dncV*, кодирующего олигонуклеотид циклазу DncV, и в клетке начинается синтез 3'3'-циклических олигонуклеотидов (сGAMP), которые стимулируют транскрипцию другого гена – *capV*. Продуктируемая фосфолипаза CapV разрушает клеточную оболочку собственной клетки, что способствует ее гибели. Белок Cap2 усиливает, а Cap3 подавляет синтез сGAMP, воздействуя на С-концевую участок белка DncV. Показано, что транскрипция *dncV* и *capV* происходит только при высокой плотности бактериальной популяции и активируется в ответ на нарушение биосинтеза фолата [2].

Системы токсин-антитоксин состоят из двух генов, кодирующих токсин и антитоксин, и по структуре последних классифицируются на три типа. Наиболее распространенными являются системы

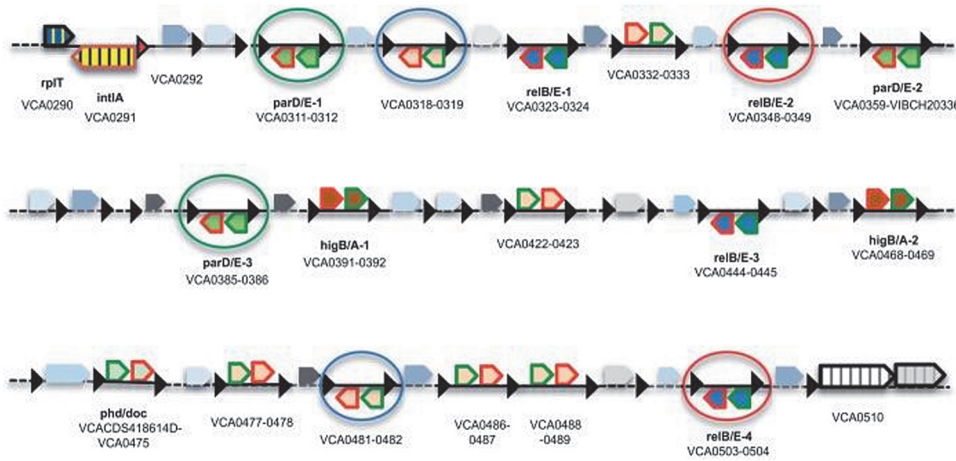


Рис. 2. Распределение различных кассет, кодирующих системы токсин-антитоксин, в суперинтегрене референс-штамма *V. cholerae* N16961 O1 биовара Эль Тор. Пятиугольниками, обрмленными зеленым цветом, обозначены анти-токсины, красным – токсины [36]

Fig. 2. Distribution of various cassettes encoding toxin-antitoxin systems in the superintegron of the reference strain *V. cholerae* N16961 O1 biovar El Tor. Pentagons framed in green indicate antitoxins, red – toxins [36]

2-го типа, в которой токсин и антитоксин являются белками. Данные системы не только участвуют в защите от фагов, но и выполняют множество других функций в клетках, в том числе контролируют рост бактерий, формирование биопленки, участвуют в поддержании стабильности генома. Когда фаги инфицируют бактерии, более нестабильный анти-токсин расщепляется раньше, чем токсин, который накапливается в клетке и фрагментирует не только генетический материал фагов, но и разрушает собственную ДНК бактерий, что приводит к остановке роста, лизису клеточных мембран и гибели клеток. Первоначально у *V. cholerae* было выявлено 13 систем ТА 2-го типа, в настоящее время описано 19 [35–37]. При этом только одна пара генов (*vc0814-0815*) расположена на первой (большой) хромосоме, другие присутствуют на второй (малой) хромосоме в составе суперинтегрона (рис. 2). Установлено, что большинство систем ТА активны и функции большинства кодируемых ими токсинов установлены, не функционирующей является система, кодируемая генами *vca0422-0423*. Так, показано, что ParE из кассеты ParDE, присутствующей на хромосоме в трех копиях (*vca0311-0312*, *vca0359-vibch20336*, *vca0385-0386*), вызывает деградацию ДНК. Токсин RelE из системы RelBE (*vca0323-0324*, *vca0348-0349*, *vca0444-0445*, *vca0503-0504*) расщепляет мРНК, что ингибирует трансляцию и является летальным для клеток.

Таким образом, холерные вибрионы используют многочисленные стратегии сопротивления инфекции литическими фагами, а последние, в свою очередь, приобретают механизмы для преодоления этой устойчивости, что способствует эволюции как бактерий, так и фагов. Молекулярные механизмы ряда антифаговых систем еще до конца не выяснены, что указывает на необходимость дальнейшего изучения взаимоотношений фаг – хозяин. Понимание механизмов взаимной адаптации между возбудителем и высокоспецифичным фагом может внести вклад в повышение эффективности назначаемой фаговой терапии и преодоление устойчивости бактерий к фагам.

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. LeGault K.N., Hays S.G., Angermeyer A., McKitterick A.C., Johura F.T., Sultana M., Ahmed T., Alam M., Seed K.D. Temporal shifts in antibiotic resistance elements govern phage-pathogen conflicts. *Science*. 2021; 373(6554):eabg2166. DOI: 10.1126/science.abg2166.
2. Severin G.B., Ramliden M.S., Ford K.C., Van Alst A.J., Sanath-Kumar R., Decker K.A., Hsueh B.Y., Chen G., Yoon S.H., Demey L.M., O’Hara B.J., Rhoades C.R., DiRita V.J., Ng W.-L., Waters C.M. Activation of a *Vibrio cholerae* CBASS anti-phage system by quorum sensing and folate depletion. *mBio*. 2023; 14(5):e0087523. DOI: 10.1128/mbio.00875-23.
3. Tumban E., editor. Bacteriophages. Methods and Protocols. New York: Humana Press; 2024. 429 p.
4. Yen M., Camilli A. Mechanisms of the evolutionary arms race between *Vibrio cholerae* and Vibriophage clinical isolates. *Int. Microbiol.* 2017; 20(3):116–20. DOI: 10.2436/20.1501.01.292.
5. Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Синельник Е.А., Иванова И.А., Филиппенко А.В., Омельченко Н.Д., Труфанова А.А., Погожова М.П., Аноприенко А.О., Пасюкова Н.И. Оценка безопасности смеси холерных бактериофагов на модели экспериментальных животных. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 4:160–2. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-160-162.
6. Zhang J., Li W., Zhang Q., Wang H., Xu X., Diao B., Zhang L., Kan B. The core oligosaccharide and thioredoxin of *Vibrio cholerae* are necessary for binding and propagation of its typing phage VP3. *J. Bacteriol.* 2009; 191(8):2622–9. DOI: 10.1128/JB.01370-08.
7. Xu J., Zhang J., Lu X., Liang W., Zhang L., Kan B. O antigen is the receptor of *Vibrio cholerae* serogroup O1 El Tor typing phage VP4. *J. Bacteriol.* 2013; 195(4):798–806. DOI: 10.1128/JB.01770-12.
8. Xu D., Zhang J., Liu J., Xu J., Zhou H., Zhang L., Zhu J., Kan B. Outer membrane protein OmpW is the receptor for typing phage VP5 in the *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype. *J. Virol.* 2014; 88(12):7109–11. DOI: 10.1128/JVI.03186-13.
9. Fan F., Li X., Pang B., Zhang C., Li Z., Zhang L., Li J., Zhang J., Yan M., Liang W., Kan B. The outer-membrane protein TolC of *Vibrio cholerae* serves as a second cell-surface receptor for the VP3 phage. *J. Biol. Chem.* 2018; 293(11):4000–13. DOI: 10.1074/jbc.M117.805689.
10. Sun H., Liu M., Fan F., Li Z., Fan Y., Zhang J., Huang Y., Li Z., Li J., Xu J., Kan B. The Type II secretory system mediates phage infection in *Vibrio cholerae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021; 11:662344. DOI: 10.3389/fcimb.2021.662344.
11. Fan F., Li Z., Wang J., Diao B., Liang W., Kan B. A PolyQ membrane protein of *Vibrio cholerae* acts as the receptor for phage infection. *J. Virol.* 2021; 95(6):e02245-20. DOI: 10.1128/JVI.02245-20.
12. Seed K.D., Bodi K.L., Kropinski A.M., Ackermann H.-W., Calderwood S.B., Qadri F., Camilli A. Evidence of a dominant lineage of *Vibrio cholerae*-specific lytic bacteriophages shed by cholera patients over a 10-year period in Dhaka, Bangladesh. *mBio*. 2011; 2(1):2:e00334-10. DOI: 10.1128/mBio.00334-10.

13. Angermeyer A., Das M.M., Singh D.V., Seed K.D. Analysis of 19 highly conserved *Vibrio cholerae* bacteriophages isolated from environmental and patient sources over a twelve-year period. *Viruses*. 2018; 10(6):299. DOI: 10.3390/v10060299.

14. McKitterick A.C., LeGault K.N., Angermeyer A., Alam M., Seed K.D. Competition between mobile genetic elements drives optimization of a phage-encoded CRISPR-Cas system: insights from a natural arms race. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2019; 374(1772):20180089. DOI: 10.1098/rstb.2018.0089.

15. Boyd C.M., Angermeyer A., Hays S.G., Barth Z.K., Patel K.M., Seed K.D. Bacteriophage ICP1: a persistent predator of *Vibrio cholerae*. *Annu. Rev. Virol.* 2021; 8(1):285–304. DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-072020.

16. Seed K.D., Faruque S.M., Mekalanos J.J., Calderwood S.B., Qadri F., Camilli A. Phase variable O antigen biosynthetic genes control expression of the major protective antigen and bacteriophage receptor in *Vibrio cholerae* O1. *PLoS Pathog.* 2012; 8(9):e1002917. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002917.

17. Beckman D.A., Waters C.M. *Vibrio cholerae* phage ICP3 requires O1 antigen for infection. *Infect. Immun.* 2023; 91(9):e0002623. DOI: 10.1128/iai.00026-23.

18. Hoque M.M., Naser I.B., Bari S.M.N., Zhu J., Mekalanos J.J., Faruque S.M. Quorum regulated resistance of *Vibrio cholerae* against environmental bacteriophages. *Sci. Rep.* 2016; 6:37956. DOI: 10.1038/srep37956.

19. Reyes-Robles T., Dillard R.S., Cairns L.S., Silva-Valenzuela C.A., Housman M., Ali A., Wright E.R., Camilli A. *Vibrio cholerae* outer membrane vesicles inhibit bacteriophage infection. *J. Bacteriol.* 2018; 200(15):e00792-17. DOI: 10.1128/JB.00792-17.

20. Linnerborg M., Weintraub A., Albert M.J., Widmalm G. Depolymerization of the capsular polysaccharide from *Vibrio cholerae* O139 by a lyase associated with the bacteriophage JA1. *Carbohydr. Res.* 2001; 333(4):263–9. DOI: 10.1016/S0008-6215(01)00159-8.

21. Laanto E. Overcoming bacteriophage resistance in phage therapy. *Methods Mol. Biol.* 2024; 2738:401–10. DOI: 10.1007/978-1-0716-3549-0_23.

22. Murugesan J., Mubarak S.J., Vedagiri H. Design of novel anti-quorum sensing peptides targeting LuxO to combat *Vibrio cholerae* pathogenesis. *In Silico Pharmacol.* 2023; 11(1):30. DOI: 10.1007/s40203-023-00172-2.

23. 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.

24. Labrie S.J., Samson J.E., Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8(5):317–27. DOI: 10.1038/nrmicro2315.

25. McDonald N.D., Regmi A., Morreale D.P., Borowski J.D., Boyd E.F. CRISPR-Cas systems are present predominantly on mobile genetic elements in *Vibrio* species. *BMC Genomics*. 2019; 20(1):105. DOI: 10.1186/s12864-019-5439-1.

26. O'Hara B.J., Barth Z.K., McKitterick A.C., Seed K.D. A highly specific phage defense system is a conserved feature of the *Vibrio cholerae* mobilome. *PLoS Genet.* 2017; 13(6):e1006838. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006838.

27. Angermeyer A., Hays S.G., Nguyen M.H.T., Johura F.T., Sultana M., Alam M., Seed K.D. Evolutionary sweeps of subviral parasites and their phage host bring unique parasite variants and disappearance of a phage CRISPR-Cas system. *mBio*. 2022; 13(1):e0308821. DOI: 10.1128/mbio.03088-21.

28. Zadnova S.P., Pleshchikov N.A., Spirina A.Yu., Швиденко И.Г., Савельев В.Н. Выявление фагоиндуцируемых мобильных генетических элементов в штаммах *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:112–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119.

29. LeGault K.N., Barth Z.K., DePaola P., Seed K.D. A phage parasite deploys a nicking nuclease effector to inhibit viral host replication. *Nucleic Acids Res.* 2022; 50(15):8401–17. DOI: 10.1093/nar/gkac002.

30. McKitterick A.C., Seed K.D. Anti-phage islands force their target phage to directly mediate island excision and spread. *Nat. Commun.* 2018; 9(1):2348. DOI: 10.1038/s41467-018-04786-5.

31. Barth Z.K., Silvas T.V., Angermeyer A., Seed K.D. Genome replication dynamics of a bacteriophage and its satellite reveal strategies for parasitism and viral restriction. *Nucleic Acids Res.* 2020; 48(1):249–63. DOI: 10.1093/nar/gkz1005.

32. Netter Z., Boyd C.M., Silvas T.V., Seed K.D. A phage satellite tunes inducing phage gene expression using a domesticated endonuclease to balance inhibition and virion hijacking. *Nucleic Acids Res.* 2021; 49(8):4386–401. DOI: 10.1093/nar/gkab207.

33. Goldfarb T., Sberro H., Weinstock E., Cohen O., Doron S., Charpak-Amikam Y., Afik S., Ofir G., Sorek R. BREX is a novel phage resistance system widespread in microbial genomes. *EMBO J.* 2015; 34(2):169–83. DOI: 10.15252/embj.201489455.

34. Zaworski J., Davaa O., Brandt J., Baum C., Ettwiller L., Fomenkov A., Raleigh E.A. Reassembling a cannon in the DNA defense arsenal: genetics of StySA, a BREX phage exclusion system

in *Salmonella* lab strains. *PLoS Genet.* 2022; 18(4):e1009943. DOI: 10.1371/journal.pgen.1009943.

35. Pandey D.P., Gerdes K. Toxin-antitoxin loci are highly abundant in free-living but lost from host-associated prokaryotes. *Nucleic Acids Res.* 2005; 33(3):966–76. DOI: 10.1093/nar/gki201.

36. Iqbal N., Guérout A.-M., Krin E., Le Roux F., Mazel D. Comprehensive functional analysis of the 18 *Vibrio cholerae* N16961 toxin-antitoxin systems substantiates their role in stabilizing the superintegron. *J. Bacteriol.* 2015; 197(13):2150–9. DOI: 10.1128/JB.00108-15.

37. Krin E., Baharoglu Z., Sismeiro O., Varet H., Coppée J.Y., Mazel D. Systematic transcriptome analysis allows the identification of new type I and type II toxin/antitoxin systems located in the superintegron of *Vibrio cholerae*. *Res. Microbiol.* 2023; 174(1-2):103997. DOI: 10.1016/j.resmic.2022.103997.

References

1. LeGault K.N., Hays S.G., Angermeyer A., McKitterick A.C., Johura F.T., Sultana M., Ahmed T., Alam M., Seed K.D. Temporal shifts in antibiotic resistance elements govern phage-pathogen conflicts. *Science*. 2021; 373(6554):eabg2166. DOI: 10.1126/science.abg2166.

2. Severin G.B., Ramliden M.S., Ford K.C., Van Alst A.J., Sanath-Kumar R., Decker K.A., Hsueh B.Y., Chen G., Yoon S.H., Demy L.M., O'Hara B.J., Rhoades C.R., DiRita V.J., Ng W.-L., Waters C.M. Activation of a *Vibrio cholerae* CBASS anti-phage system by quorum sensing and folate depletion. *mBio*. 2023; 14(5):e0087523. DOI: 10.1128/mbio.00875-23.

3. Tumban E., editor. Bacteriophages. Methods and Protocols. New York: Humana Press; 2024. 429 p.

4. Yen M., Camilli A. Mechanisms of the evolutionary arms race between *Vibrio cholerae* and Bacteriophage clinical isolates. *Int. Microbiol.* 2017; 20(3):116–20. DOI: 10.2436/20.1501.01.292.

5. Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Sinel'nik E.A., Ivanova I.A., Filippenko A.V., Omel'chenko N.D., Trufanova A.A., Pogozhova M.P., Anoprienko A.O., Pasyukova N.I. [Assessment of cholera bacteriophages mixture safety on an experimental animal model]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (4):160–2. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-160-162.

6. Zhang J., Li W., Zhang Q., Wang H., Xu X., Diao B., Zhang L., Kan B. The core oligosaccharide and thioredoxin of *Vibrio cholerae* are necessary for binding and propagation of its typing phage VP3. *J. Bacteriol.* 2009; 191(8):2622–9. DOI: 10.1128/JB.01370-08.

7. Xu J., Zhang J., Lu X., Liang W., Zhang L., Kan B. O antigen is the receptor of *Vibrio cholerae* serogroup O1 El Tor typing phage VP4. *J. Bacteriol.* 2013; 195(4):798–806. DOI: 10.1128/JB.01770-12.

8. Xu D., Zhang J., Liu J., Xu J., Zhou H., Zhang L., Zhu J., Kan B. Outer membrane protein OmpW is the receptor for typing phage VP5 in the *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype. *J. Virol.* 2014; 88(12):7109–11. DOI: 10.1128/JVI.03186-13.

9. Fan F., Li X., Pang B., Zhang C., Li Z., Zhang L., Li J., Zhang J., Yan M., Liang W., Kan B. The outer-membrane protein TolC of *Vibrio cholerae* serves as a second cell-surface receptor for the VP3 phage. *J. Biol. Chem.* 2018; 293(11):4000–13. DOI: 10.1074/jbc.M117.805689.

10. Sun H., Liu M., Fan F., Li Z., Fan Y., Zhang J., Huang Y., Li Z., Li J., Xu J., Kan B. The Type II secretory system mediates phage infection in *Vibrio cholerae*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021; 11:662344. DOI: 10.3389/fcimb.2021.662344.

11. Fan F., Li Z., Wang J., Diao B., Liang W., Kan B. A PolyQ membrane protein of *Vibrio cholerae* acts as the receptor for phage infection. *J. Virol.* 2021; 95(6):e02245-20. DOI: 10.1128/JVI.02245-20.

12. Seed K.D., Bodi K.L., Kropinski A.M., Ackermann H.-W., Calderwood S.B., Qadri F., Camilli A. Evidence of a dominant lineage of *Vibrio cholerae*-specific lytic bacteriophages shed by cholera patients over a 10-year period in Dhaka, Bangladesh. *mBio*. 2011; 2(1):2:e00334-10. DOI: 10.1128/mBio.00334-10.

13. Angermeyer A., Das M.M., Singh D.V., Seed K.D. Analysis of 19 highly conserved *Vibrio cholerae* bacteriophages isolated from environmental and patient sources over a twelve-year period. *Viruses*. 2018; 10(6):299. DOI: 10.3390/v10060299.

14. McKitterick A.C., LeGault K.N., Angermeyer A., Alam M., Seed K.D. Competition between mobile genetic elements drives optimization of a phage-encoded CRISPR-Cas system: insights from a natural arms race. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2019; 374(1772):20180089. DOI: 10.1098/rstb.2018.0089.

15. Boyd C.M., Angermeyer A., Hays S.G., Barth Z.K., Patel K.M., Seed K.D. Bacteriophage ICP1: a persistent predator of *Vibrio cholerae*. *Annu. Rev. Virol.* 2021; 8(1):285–304. DOI: 10.1146/annurev-virology-091919-072020.

16. Seed K.D., Faruque S.M., Mekalanos J.J., Calderwood S.B., Qadri F., Camilli A. Phase variable O antigen biosynthetic genes control expression of the major protective antigen and bacteriophage

- receptor in *Vibrio cholerae* O1. *PLoS Pathog.* 2012; 8(9):e1002917. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002917.
17. Beckman D.A., Waters C.M. *Vibrio cholerae* phage ICP3 requires O1 antigen for infection. *Infect. Immun.* 2023; 91(9):e0002623. DOI: 10.1128/iai.00026-23.
18. Hoque M.M., Naser I.B., Bari S.M.N., Zhu J., Mekalanos J.J., Faruque S.M. Quorum regulated resistance of *Vibrio cholerae* against environmental bacteriophages. *Sci. Rep.* 2016; 6:37956. DOI: 10.1038/srep37956.
19. Reyes-Robles T., Dillard R.S., Cairns L.S., Silva-Valenzuela C.A., Housman M., Ali A., Wright E.R., Camilli A. *Vibrio cholerae* outer membrane vesicles inhibit bacteriophage infection. *J. Bacteriol.* 2018; 200(15):e00792-17. DOI: 10.1128/JB.00792-17.
20. Linnerborg M., Weintraub A., Albert M.J., Widmalm G. Depolymerization of the capsular polysaccharide from *Vibrio cholerae* O139 by a lyase associated with the bacteriophage JA1. *Carbohydr. Res.* 2001; 333(4):263-9. DOI: 10.1016/S0008-6215(01)00159-8.
21. Laanto E. Overcoming bacteriophage resistance in phage therapy. *Methods Mol. Biol.* 2024; 2738:401-10. DOI: 10.1007/978-1-0716-3549-0_23.
22. Murugesan J., Mubarak S.J., Vedagiri H. Design of novel anti-quorum sensing peptides targeting LuxO to combat *Vibrio cholerae* pathogenesis. *In Silico Pharmacol.* 2023; 11(1):30. DOI: 10.1007/s40203-023-00172-2.
23. 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.
24. Labrie S.J., Samson J.E., Moineau S. Bacteriophage resistance mechanisms. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8(5):317-27. DOI: 10.1038/nrmicro2315.
25. McDonald N.D., Regmi A., Morreale D.P., Borowski J.D., Boyd E.F. CRISPR-Cas systems are present predominantly on mobile genetic elements in *Vibrio* species. *BMC Genomics.* 2019; 20(1):105. DOI: 10.1186/s12864-019-5439-1.
26. O'Hara B.J., Barth Z.K., McKitterick A.C., Seed K.D. A highly specific phage defense system is a conserved feature of the *Vibrio cholerae* mobilome. *PLoS Genet.* 2017; 13(6):e1006838. DOI: 10.1371/journal.pgen.1006838.
27. Angermeyer A., Hays S.G., Nguyen M.H.T., Johura F.T., Sultana M., Alam M., Seed K.D. Evolutionary sweeps of subviral parasites and their phage host bring unique parasite variants and disappearance of a phage CRISPR-Cas system. *mBio.* 2022; 13(1):e0308821. DOI: 10.1128/mbio.03088-21.
28. Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Spirina A.Yu., Shvidenko I.G., Savel'ev V.N. [Detection of phage-induced mobile genetic elements in strains of *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):112-9. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119.
29. LeGault K.N., Barth Z.K., DePaola P., Seed K.D. A phage parasite deploys a nicking nuclease effector to inhibit viral host replication. *Nucleic Acids Res.* 2022; 50(15):8401-17. DOI: 10.1093/nar/gkac002.
30. McKitterick A.C., Seed K.D. Anti-phage islands force their target phage to directly mediate island excision and spread. *Nat. Commun.* 2018; 9(1):2348. DOI: 10.1038/s41467-018-04786-5.
31. Barth Z.K., Silvas T.V., Angermeyer A., Seed K.D. Genome replication dynamics of a bacteriophage and its satellite reveal strategies for parasitism and viral restriction. *Nucleic Acids Res.* 2020; 48(1):249-63. DOI: 10.1093/nar/gkz1005.
32. Netter Z., Boyd C.M., Silvas T.V., Seed K.D. A phage satellite tunes inducing phage gene expression using a domesticated endonuclease to balance inhibition and virion hijacking. *Nucleic Acids Res.* 2021; 49(8):4386-401. DOI: 10.1093/nar/gkab207.
33. Goldfarb T., Sberro H., Weinstock E., Cohen O., Doron S., Charpak-Amikam Y., Afik S., Ofir G., Sorek R. BREX is a novel phage resistance system widespread in microbial genomes. *EMBO J.* 2015; 34(2):169-83. DOI: 10.15252/embj.201489455.
34. Zaworski J., Dagva O., Brandt J., Baum C., Ettwiller L., Fomenkov A., Raleigh E.A. Reassembling a cannon in the DNA defense arsenal: genetics of StySA, a BREX phage exclusion system in *Salmonella* lab strains. *PLoS Genet.* 2022; 18(4):e1009943. DOI: 10.1371/journal.pgen.1009943.
35. Pandey D.P., Gerdes K. Toxin-antitoxin loci are highly abundant in free-living but lost from host-associated prokaryotes. *Nucleic Acids Res.* 2005; 33(3):966-76. DOI: 10.1093/nar/gki201.
36. Iqbal N., Guéroult A.-M., Krin E., Le Roux F., Mazel D. Comprehensive functional analysis of the 18 *Vibrio cholerae* N16961 toxin-antitoxin systems substantiates their role in stabilizing the superintegron. *J. Bacteriol.* 2015; 197(13):2150-9. DOI: 10.1128/JB.00108-15.
37. Krin E., Baharoglu Z., Sismeiro O., Varet H., Coppée J.Y., Mazel D. Systematic transcriptome analysis allows the identification of new type I and type II toxin/antitoxin systems located in the superintegron of *Vibrio cholerae*. *Res. Microbiol.* 2023; 174(1-2):103997. DOI: 10.1016/j.resmic.2022.103997.

Authors:

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

Karpunina L.V. Saratov State University of Genetics, Biotechnology, and Engineering named after N.I. Vavilov. Bld. 3, 4, Petra Stolypina Avenue, Saratov, 410012, Russian Federation.

Об авторах:

Кураташвили А.Ю., Плекханов Н.А., Заднова С.П. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Карпунина Л.В. Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова. Российская Федерация, 410012, Саратов, пр-т им. Петра Столыпина, 4, стр. 3.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-27-35

УДК 614.4(470.61)

А.К. Носков, М.В. Полеева, О.Ф. Кретенчук, Е.И. Марковская, В.А. Коршенко,
Д.А. Осадчий, О.С. Чемисова

Деятельность ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в XXI веке (к 90-летию института)

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

Цель работы – краткий обзор данных о развитии, основных задачах ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора и вкладе в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации. Обзор подготовлен на основе анализа отчетов о научно-исследовательских работах, архивных материалов и литературных источников. В настоящее время приоритетными и перспективными направлениями исследований в институте являются: эпидемиологический мониторинг за возбудителями холеры и природно-очаговых инфекций с проведением оценки эпидемиологических рисков и угроз на основе современных методов выявления и идентификации возбудителей; разработка мероприятий, направленных на предотвращение распространения инфекций; проведение эпизоотологического мониторинга природных очагов особо опасных инфекций; разработка прогнозно-моделирующих систем оценки рисков, новых методик и подходов для совершенствования лабораторной диагностики и эпидемиологического надзора; развитие высокопроизводительного секвенирования; осуществление модернизации мониторинга, в том числе с использованием молекулярно-биологических методов, и контроля инфекционных болезней с использованием геоинформационных технологий; переход к геномному эпиднадзору; совершенствование единых онлайн-баз данных, создание технологически независимых, унифицированных отечественных программных платформ биоинформационного анализа результатов полногеномного секвенирования; исследование генетических маркеров антибиотикорезистентности, а также иммунопатогенетических аспектов особо опасных и других инфекций; обеспечение взаимодействия со всеми заинтересованными службами и ведомствами при организации и проведении мероприятий в рамках санитарной охраны территории. ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, основываясь на огромном опыте предшественников и современных знаниях, принимает активное участие в решении важных вопросов по научному и практическому обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия и биологической безопасности населения Российской Федерации.

Ключевые слова: санитарно-эпидемиологическая служба, противочумный институт, эпидемиологический надзор, особо опасные инфекции, холера, природно-очаговые инфекции.

Корреспондирующий автор: Полеева Марина Владимировна, e-mail: poleeva_mv@antiplague.ru.

Для цитирования: Носков А.К., Полеева М.В., Кретенчук О.Ф., Марковская Е.И., Коршенко В.А., Осадчий Д.А., Чемисова О.С. Деятельность ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора в XXI веке (к 90-летию института). *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 2:27–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-27-35

Поступила 29.02.2024. Принята к публ. 21.03.2024.

А.К. Noskov, M.V. Poleeva, O.F. Kretenchuk, E.I. Markovskaya, V.A. Korshenko, D.A. Osadchy,
O.S. Chemisova

The Activities of the Rostov-On-Don Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor in the XXIst Century (on the occasion of the 90th anniversary of the Institute)

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

Abstract. The aim of the work was to perform a brief overview of the data on the development, the main tasks of the Federal State Institution of Health “Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Federal Service for Surveillance on Consumers’ Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor) and its contribution to ensuring the sanitary and epidemiological welfare of the population of the Russian Federation. The review is based on the analysis of the reports on research work, archive materials and literature sources. Currently, priority and promising areas of research at the Institute are: epidemiological monitoring of cholera pathogens and natural-focal infections with an assessment of epidemiological risks and threats based on advanced methods of detection and identification of agents; development of measures aimed at preventing the spread of infections; epizootiological survey of natural foci of particularly dangerous infections; development of predictive modeling risk assessment systems, new techniques and approaches to improve laboratory diagnostics and epidemiological surveillance; development of sequencing; modernization of monitoring, including using molecular biological methods, and control of infectious diseases using geo-information technologies; transition to genomic epidemiological surveillance; improvement of unified online databases, creation of technologically independent, unified software platforms for bioinformatic analysis of the results of genome-wide sequencing; research of genetic markers of antibiotic resistance, as well as immunopathogenetic aspects of the course of particularly dangerous and other infections; ensuring interaction with all interested services and agencies in organizing and conducting events within the framework of sanitary protection of the territory. Relying on the vast experience of predecessors and state-of-the-art knowledge, the Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor actively takes part in

solving topical issues to scientifically and practically support the provision of sanitary-epidemiological well-being and biological safety of the population of the Russian Federation.

Key words: sanitary-epidemiological service, anti-plague institute, epidemiological surveillance, particularly dangerous infectious diseases, cholera, natural-focal infections.

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

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

Corresponding author: Marina V. Poleeva, e-mail: poleeva_mv@antiplague.ru.

Citation: Noskov A.K., Poleeva M.V., Kretenchuk O.F., Markovskaya E.I., Korshenko V.A., Osadchy D.A., Chemisova O.S. The Activities of the Rostov-On-Don Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor in the XXIst Century (on the occasion of the 90th anniversary of the Institute). *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:27–35. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-27-35

Received 29.02.2024. Accepted 21.03.2024.

Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>
Poleeva M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8086-376X>
Kretenchuk O.F., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5299-0243>
Markovskaya E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5360-951X>

Korshenko V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7126-4327>
Osadchy D.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-0650-4494>
Chemisova O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4059-2878>

Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора) был образован в результате реорганизации Ростовского городского бактериологического института и Ростовской Краевой противочумной станции в 1934 г. (приказ НКЗ РСФСР от 14.04.1934 № 152 и приказ Уполномоченного Совета Труда и Оборона от 05.06.1934 № 1). Целью создания института являлись планомерная разработка и осуществление мероприятий по ликвидации эпизоотий чумы на территории Азово-Черноморского края и Северного Кавказа. Основными задачами Ростовского-на-Дону противочумного института с момента его основания и до настоящего времени являются борьба с особо опасными и природно-очаговыми инфекционными болезнями, их диагностика и профилактика, а также обеспечение биологической безопасности и противодействие биотерроризму.

В 1952 г. институт был удостоен диплома лауреата Сталинской премии. За заслуги в организации борьбы с особо опасными инфекционными болезнями в 1984 г. Указом Президиума Верховного Совета СССР Ростовский-на-Дону противочумный институт награжден орденом Трудового Красного Знамени.

В 1971 г. приказом министра здравоохранения СССР от 08.09.1971 № 649 на Ростовский-на-Дону противочумный институт возложена функция координации работы по созданию эффективных средств и методов диагностики, лечения, специфической и неспецифической профилактики, а также обеспечения эпидемического надзора за холерой. С этого времени исследования, посвященные возбудителю холеры, стали приоритетными.

С 2008 г. на базе Ростовского-на-Дону противочумного института функционирует Референс-центр по мониторингу за холерой в соответствии с приказом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 17.03.2008 № 88 «О мерах по совершенствованию

мониторинга за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней».

В 2017 г. на основании приказа Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 01.12.2017 № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации» в Ростовском-на-Дону противочумном институте создан Центр индикации возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности и обеспечения противоэпидемической готовности, основными задачами которого являются индикация возбудителей опасных инфекционных болезней бактериальной и вирусной природы в целях предупреждения и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций (ЧС), предупреждения завоза и распространения опасных инфекционных болезней на территории Ростовской области, а также обеспечение противоэпидемической готовности по особо опасным инфекциям (ОИ).

XXI век – это век высокого риска возникновения пандемий, высокой скорости их распространения и масштабных последствий как для систем здравоохранения, так и для экономики страны в целом. В современный период распространению возбудителей способствуют такие факторы, как высокая плотность проживания населения, интенсивность международных связей, масштабное антропогенное воздействие на биоценозы, достижения биотехнологии и синтетической биологии. Вышеперечисленное приводит к быстрой эволюции микроорганизмов, появлению новых инфекций, повышает риски противоправного применения патогенов. Для противодействия биологической угрозе требуется системный подход, что диктует расстановку новых приоритетов в научно-исследовательской деятельности института. Приоритетными и перспективными направлениями исследований в настоящее время в институте являются:

– эпидемиологический мониторинг за возбудителями холеры и природно-очаговых инфекций с проведением оценки эпидемиологических рисков и угроз на основе современных методов выявления и идентификации возбудителей;

- разработка мероприятий, направленных на предотвращение распространения природно-очаговых инфекций;

- проведение эпизоотологического мониторинга природных очагов ООИ; подготовка прогнозов эпизоотической активности природных очагов ООИ на территории Ростовской области; разработка прогнозно-моделирующих систем оценки рисков;

- разработка новых методик и подходов для совершенствования лабораторной диагностики и эпидемиологического надзора за особо опасными и природно-очаговыми инфекциями;

- развитие высокопроизводительного секвенирования, перспективный переход на выявление многовидового спектра генетического материала (метагеном) с последующей его идентификацией по видам, субтипам, генетическим линиям;

- осуществление модернизации мониторинга, в том числе с использованием молекулярно-биологических методов, и контроля инфекционных болезней с использованием геоинформационных технологий;

- переход к геномному эпиднадзору;

- совершенствование единых онлайн-баз данных, создание технологически независимых, унифицированных отечественных программных платформ биоинформационного анализа результатов полногеномного секвенирования; разработка искусственных нейронных сетей для оценки большого объема данных;

- исследование генетических маркеров антибиотикорезистентности особо опасных и других инфекций;

- иммунопатогенетические аспекты течения особо опасных и природно-очаговых инфекций;

- обеспечение взаимодействия со всеми заинтересованными службами и ведомствами при организации и проведении мероприятий в рамках санитарной охраны территории;

- осуществление экстерриториального мониторинга инфекционных угроз на базе Центра ВОЗ по реагированию на эпидемии и сети центров за рубежом.

В связи с тем, что Ростовский-на-Дону противочумный институт является Референс-центром по мониторингу за холерой, исследования, посвященные этому возбудителю, носят приоритетный характер. Основными направлениями деятельности Референс-центра на сегодняшний день являются оценка эпидемиологической обстановки по холере в мире и в Российской Федерации; совершенствование системы эпидемиологического мониторинга за холерой; идентификация штаммов холерных вибрионов, выделенных на административных территориях нашей страны; научно-методическое обеспечение эпидемиологического надзора за холерой на основе разработки новых технологий и методов молекулярной диагностики, генотипирования возбудителя; совершенствование лабораторной диагностики холеры;

создание препаратов для экспресс-диагностики, использование новых методов идентификации, таких как MALDI-TOF масс-спектрометрия; разработка новых питательных сред для выделения и идентификации возбудителя. Кроме того, специалисты Референс-центра проводят анализ внешних и внутренних эпидемиологических рисков, ассоциированных с распространением возбудителя холеры, возникновением атипичных и новых штаммов.

Референс-центр оказывает консультативно-методическую и практическую помощь органам и учреждениям Роспотребнадзора и Министерства здравоохранения РФ, проводит научно-методическое обеспечение исследований, а также подготовку специалистов, осуществляющих лабораторную диагностику и эпидемиологический надзор за холерой в субъектах Российской Федерации. Организована системная работа от отдельных ежегодных семинаров для специалистов Минздрава России и Роспотребнадзора до проведения внешнего контроля качества лабораторных исследований на холеру и оценки готовности субъектов РФ к проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий в случае завоза и распространения холеры на территории страны. В рамках данных мероприятий в 2022–2023 гг. проведена оценка готовности всех 89 субъектов РФ, более 550 госпитальных и 640 лабораторных баз, обучено более 21 тыс. сотрудников.

В ходе мониторинга водных объектов окружающей среды на территории РФ ежегодно выделяются штаммы холерных вибрионов, которые в рамках выполнения научно-исследовательских работ углубленно изучаются специалистами Референс-центра. По результатам высокопроизводительного секвенирования формируются «геномные портреты» выделяющихся штаммов, что позволяет своевременно выявлять токсигенные штаммы с целью минимизации рисков водного пути распространения инфекции, а также расширяет возможности для более гибкой и быстрой корректировки диагностических тест-систем в случаях появления атипичных штаммов или вновь выявленных возбудителей (как это было с холерными вибрионами O139-серогруппы).

Анализ современного состояния научных исследований по холере и определение тенденции их развития; определение основных направлений развития научных исследований; проведение экспертизы профильных плановых и отчетных материалов; подготовка ежегодных итоговых аналитических отчетов по результатам научно-исследовательских работ входят в задачи функционирующей на базе института Проблемной комиссии 48.04 «Холера и патогенные для человека вибрионы» Координационного научного совета по санитарно-эпидемиологической охране территории Российской Федерации.

Научную деятельность Ростовский-на-Дону противочумный институт осуществляет в соответствии с отраслевой научно-исследовательской про-

граммой Роспотребнадзора «Научное обеспечение эпидемиологического надзора и санитарной охраны территорий Российской Федерации. Создание новых технологий, средств и методов контроля и профилактики инфекционных и паразитарных болезней». Проводятся научно-исследовательские работы по таким направлениям, как научно-методическое обеспечение эпидемиологического надзора за вирусными и бактериальными инфекциями на основе молекулярно-генетического мониторинга и современных технологий цифровой трансформации; решение актуальных проблем санитарной охраны территории РФ от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней.

В ходе реализации научных тем ведутся работы, направленные на выявление новых генетических маркеров, характерных для разных групп штаммов *Yersinia pestis* и *Francisella tularensis*. Продемонстрирована возможность использования набора праймеров, сконструированных на основе IS-маркеров, для эффективной внутривидовой генетической дифференциации штаммов *Y. pestis*; разработана программа для ЭВМ «*Yersinia pestis* Analyzer» – для анализа результатов секвенирования штаммов *Y. pestis*, определения наличия последовательностей различных генов и выявления INDEL-маркеров [1]. Предложены новые способы дифференциации штаммов *F. tularensis* путем молекулярно-генетического типирования [2] и определения подвидов *F. tularensis* методом мультилокусной ПЦР [3], а для изучения филогенетических связей между различными штаммами возбудителя туляремии – база данных «*Francisella tularensis* INDEL-маркеры» [4]. Новым объектом исследования стали полученные сотрудниками института препараты везикул *F. tularensis* и *V. cholerae*, перспективные для создания вакцин нового поколения [5, 6]. Кроме того, на базе отдела природно-очаговых и зоонозных инфекций проводится обязательная проверка напряженности противотуляремийного иммунитета у сотрудников для решения вопроса о целесообразности и сроках их ревакцинации против туляремии.

Институт активно участвует в государственной программе «Обеспечение химической и биологической безопасности Российской Федерации» и стратегии федерального проекта «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление и реагирование)» на 2022–2024 гг. В рамках данной программы ведутся научно-исследовательские работы, полногеномное секвенирование последовательностей возбудителей SARS-CoV-2, особо опасных и других инфекций, разрабатываются базы данных.

Сотрудники института совместно с представителями других учреждений Роспотребнадзора активно включились в масштабную работу по диагностике новой коронавирусной инфекции, определению популяционного иммунитета [7] и изучению генетики возбудителя [8]; провели полногеномное

и фрагментарное секвенирование более 10 700 образцов SARS-CoV-2 на территории пяти субъектов РФ; изучили особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19 [9]. Разработан ряд компьютерных программ, позволяющих оптимизировать проведение анализа результатов полногеномного секвенирования возбудителя новой коронавирусной инфекции (COVID-19): «SARS-CoV-2 Spike Analyzer», «CovAnalyser», «SARS-CoV-2 Genome Analyzer»).

Результаты проведенных исследований вошли в совместные опубликованные организациями Роспотребнадзора монографии [10, 11]. В 2022 г. директор ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора А.К. Носков совместно с учеными других организаций Роспотребнадзора и Минздрава России был удостоен главной премии страны в области медицины – премии лучшим врачам России «Призвание» в номинации «За создание нового метода диагностики». Было проведено уникальное научное исследование коллективного иммунитета жителей России к SARS-CoV-2, которое длилось два года и охватило 26 регионов России. Это исследование, проведенное впервые в истории России, стало основой для разработки принципов серологического мониторинга и прогноза развития любых инфекционных болезней.

Активное внедрение молекулярно-биологических методов в практическую работу лабораторий первичного звена Роспотребнадзора и Минздрава России для обеспечения индикации возбудителя на ранних этапах лабораторного исследования привело к развитию центров секвенирования на базе противочумных организаций и центров гигиены и эпидемиологии, в том числе и на базе Ростовского-на-Дону противочумного института.

Для оптимизации и сокращения времени проведения биоинформационного анализа нуклеотидных последовательностей сотрудниками института разработаны программы для поиска генов антибиотикорезистентности в данных полногеномного секвенирования («Resistance Analyzer»); для выявления и типирования ICE-элементов у штаммов *V. cholerae* («*V. cholerae* ICE genotyper»); для мультилокусного сиквенс-типирования («MLST typer»); для выявления генов, отвечающих за синтез сидерофоров, в полногеномных нуклеотидных последовательностях энтеробактерий («SiderophoreAnalyzer»); для анализа данных полногеномного секвенирования *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp.; а также ряд других программ, позволяющих проводить анализ данных полногеномного сиквенса бактерий и вирусов. Все программы доступны на сайте ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора (<http://antiplague.ru/>).

Современные методы изучения организации геномов возбудителей служат основой для разработки новых методов диагностики, совершенствования молекулярно-генетических систем для индикации

и идентификации возбудителей. На базе института разработан набор реагентов для идентификации *V. cholerae* и *V. parahaemolyticus* методом мультилокусной аллель-специфической ПЦР («Vibriоскрин FL»), который прошел процедуру государственной регистрации в качестве изделия медицинского назначения [12].

В настоящее время одним из приоритетных направлений является разработка быстрых молекулярных диагностических тестов на основе метода петлевой изотермической амплификации (LAMP), что позволит существенно упростить процедуру и сократить время исследования. Разработаны способ идентификации и определения патогенности штаммов *V. cholerae* и способ выявления гена холодового шока *csH1* у штаммов *V. cholerae* O1 и неO1/неO139 методом LAMP [13]. Разработан полимерный иммуноглобулиновый диагностикум для определения холерного токсина и уровня его продукции штаммами вибрионов [14, 15]. Для специфической детекции холерного токсина методом ИФА получены моно- и поликлональные пероксидазные конъюгаты [16]. Ведутся работы по созданию тест-систем на основе полиакролеиновых микросфер для детекции возбудителя сальмонеллеза и выявления антител в сыворотках крови больных.

В лаборатории питательных сред идет разработка новых и совершенствование имеющихся питательных сред, как для идентификации возбудителей инфекций, так и для определения факторов их патогенности. Разработан и зарегистрирован «Набор реагентов для приготовления питательной среды для выделения и первичной идентификации параземолитических вибрионов (Набор ПГВС)», позволяющий выделять возбудителя из объектов окружающей среды и клинического материала. Благодаря этому впервые отечественная бактериология получила возможность обследования людей с помощью специализированной питательной среды, позволяющей значительно повысить диагностическую эффективность и способствовать получению объективных результатов лабораторного контроля [17]. Получено свидетельство о государственной регистрации плотной питательной среды для идентификации холерного вибриона «Аргинин-железо-сахарозный агар (АЖС-АГАР)». Она предназначена для идентификации холерного вибриона по признакам ферментации сахарозы, отсутствия дегидролазы аргинина и продукции сероводорода и обеспечивает качественное определение *V. cholerae* и его дифференциацию от сопутствующей микрофлоры (аэромонад, кишечной палочки и протей) в пробах из объектов окружающей среды и клинического материала [18]. Создана питательная среда для дифференциации параземолитических вибрионов (Набор СГВ), которая обеспечивает определение их гемолитической активности (основного фактора патогенности), включая как вирулентные и авирулентные, так и слабовирулентные штаммы.

Продолжаются исследования по созданию коллекции бактериофагов, охарактеризованных по биологическим и молекулярно-генетическим свойствам, перспективных для использования в диагностических и лечебно-профилактических препаратах [19]. На сегодняшний день определены методы работы с бактериофагами, которые утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным санитарным врачом РФ А.Ю. Поповой (МР 4.2.0263-21).

Благодаря взаимодействию с учреждениями Роспотребнадзора в Ростовской области расширился спектр изучаемых инфекций за счет болезней краевой патологии: Крымской геморрагической лихорадки, клещевого боррелиоза, лихорадки Западного Нила, лихорадки Ку и др. [20–22]. В настоящее время проводится работа по оптимизации мониторинга природных и антропогенных очагов актуальных для Ростовской области трансмиссивных болезней с целью характеристики их современной пространственно-биоценотической структуры с оценкой и прогнозом эпизоотической и эпидемической активности.

С 2022 г. специалисты института совместно с другими организациями Роспотребнадзора принимают участие в реализации плана мероприятий Роспотребнадзора по оздоровлению Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы в Кош-Агачском районе Республики Алтай.

Обеспечение биологической безопасности всегда являлось важной задачей института. Впервые с целью быстрого реагирования в случае возникновения чрезвычайных ситуаций (эпидемические вспышки, техногенные или природные катастрофы) доктор медицинских наук, профессор Г.М. Мединский предложил идею создания (приказ Министерства здравоохранения СССР от 30.09.1963 № 466) и сформулировал основные задачи специализированных мобильных противэпидемических бригад (СПЭБ). В современных условиях в борьбе с новыми вызовами и угрозами работа СПЭБ не утратила своей актуальности.

В современный период специалисты СПЭБ принимали участие в обеспечении проведения массовых мероприятий, в том числе и международных. Так, группа специалистов СПЭБ принимала участие в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения, участников и гостей Игр Кубка конфедераций FIFA в Казани (2017 г.) и Чемпионата мира по футболу FIFA в Ростове-на-Дону (2018 г.).

В период пандемии новой коронавирусной инфекции специалисты СПЭБ Ростовского-на-Дону противочумного института оказывали научно-практическую помощь учреждениям Роспотребнадзора в Москве и Симферополе.

В 2020–2021 гг. специалистами СПЭБ института организовано и обеспечено выполнение комплекса противэпидемических (профилактических) ме-

роприятий, обусловленных пандемией COVID-19, в сочетании с ЧС природного характера, вызванной масштабными последствиями опасного метеорологического явления на территории Республики Крым и в городе федерального значения Севастополе [23].

В 2021–2022 гг. специалисты СПЭБ приняли участие в международных учениях мобильных команд быстрого реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера с использованием мобильных лабораторий в Казани, а также в Киргизской Республике.

Вхождение по результатам проведенных в 2022 г. референдумов новых регионов в состав Российской Федерации: Донецкой и Луганской народных республик (ДНР и ЛНР), Запорожской и Херсонской областей – определило необходимость скорейшей интеграции этих территорий, в том числе по направлению обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения. СПЭБ Ростовского-на-Дону противочумного института на базе мобильного комплекса второго поколения оказывает практическую и методическую помощь местным органам Роспотребнадзора и здравоохранения в целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в городах Мариуполь и Новоазовск ДНР и в г. Геническе Херсонской области [24]. Специалисты института также участвуют в проведении эпизоотологического обследования данных территорий.

В Ростовском-на-Дону противочумном институте активно развивается международное сотрудничество. В рамках осуществления мероприятий по укреплению международной сети по противодействию чрезвычайным ситуациям санитарно-эпидемиологического характера 7 декабря 2021 г. прошла передача мобильного комплекса СПЭБ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора Министерству здравоохранения и социального развития Киргизской Республики. Были проведены консультации и обучение работе в мобильных лабораториях сотрудников Республиканского центра карантинных и особо опасных инфекций Министерства здравоохранения и социального развития Киргизской Республики. Специалисты СПЭБ принимали участие в выездных курсах повышения квалификации по программе «Современные данные в микробиологии, диагностике и эпидемиологии чумы» на базе этого государственного учреждения в декабре 2021 г.

В ходе реализации федерального проекта «Санитарный щит – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)» состоялись рабочие командировки в г. Каракас (Боливарианская Республика Венесуэла) групп специалистов Роспотребнадзора, в состав которых вошли и специалисты института. Проведены исследования проб клинического материала в рамках работы Российско-Венесуэльского центра по изучению и профилактике инфекционных болезней

в Боливарианской Республике Венесуэла. Также проведены курсы повышения квалификации по программе «Биологическая безопасность и эпидемиологический надзор» на базе Венесуэльского института научных исследований (IVIC) (г. Каракас). По поручению Президента Российской Федерации В.В. Путина с целью содействия в проведении санитарно-противоэпидемических мероприятий на территории Республики Конго в 2023 г. в борьбе с распространением кишечной инфекции состоялась командировка группы специалистов Роспотребнадзора в Республику Конго (г. Долизи). В состав группы вошли сотрудники Ростовского-на-Дону противочумного института. Работа специалистов Роспотребнадзора проводилась параллельно в нескольких направлениях: оказание помощи в проведении эпидемиологического расследования; лабораторная диагностика клинического материала и объектов окружающей среды (ПЦР, бактериология, секвенирование); корректировка протоколов лечения, помощь врачам инфекционных отделений; организация межведомственного взаимодействия, консультативно-методическая помощь; с помощью технологии нанопорового секвенирования проведены исследования штаммов *Salmonella enterica* serovar Typhi. В результате работы группы число госпитализаций больных с острыми кишечными инфекциями уменьшилось до 1–3 в сутки, по сравнению с началом работы, когда регистрировалось до 32 случаев в день.

В институте успешно продолжается работа Испытательного лабораторного центра (ИЛЦ), Центра индикации возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности и обеспечения противоэпидемической готовности. ИЛЦ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора зарегистрирован в Едином реестре системы аккредитации лабораторий 30 июня 2010 г. и проводит отбор проб, бактериологические, серологические, молекулярно-биологические исследования в соответствии с заявленной областью аккредитации. Объектами испытаний являются объекты окружающей среды, биологические материалы и среды. В своей деятельности ИЛЦ руководствуется ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий».

Особое место в институте занимает Совет молодых ученых (СМУ), который не только перенимает бесценный опыт и лучшие традиции старшего поколения, но и укрепляет связи молодых сотрудников как внутри института, так и с другими научно-исследовательскими учреждениями [25]. СМУ, функционирующий уже почти 50 лет, является постоянно действующим коллегиальным совещательным органом, способствующим информационному обеспечению научных исследований, профессиональному росту молодых ученых и защищающим их права и интересы в сфере профессиональной дея-

тельности. Молодые ученые являются постоянными участниками и неоднократными победителями различных конференций, конкурсов, проектов, семинаров, в том числе с международным участием, что свидетельствует о высоком научно-методическом уровне, квалификации докладов и активном участии в выполнении научно-исследовательских работ.

На базе Ростовского-на-Дону противочумного института с момента его основания постоянно проводятся курсы профессиональной переподготовки и повышения квалификации специалистов по особо опасным, природно-очаговым инфекциям, биологической безопасности, генетическим, серологическим методам исследований, причем, учитывая современные реалии жизни общества, разрабатываются новые актуальные образовательные программы. Все образовательные программы зарегистрированы на Портале непрерывного медицинского и фармацевтического образования Минздрава России (НМО). Кроме того, осуществляется консультативная работа со специалистами учреждений Роспотребнадзора посредством семинаров различных форматов (очный, заочный и онлайн-режим) [26–28]. Взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора и Минздрава России происходит не только при обучении специалистов, но и в процессе выполнения общих научных и практических задач (сотрудничество с Российским научно-исследовательским противочумным институтом «Микроб», Иркутским, Ставропольским, Волгоградским научно-исследовательскими противочумными институтами, Противочумным центром, противочумными станциями и их отделениями, Государственным научным центром прикладной микробиологии и биотехнологии, Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологии, Омским НИИ природно-очаговых инфекций, Государственным научным центром вирусологии и биотехнологии «Вектор», управлениями Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации, центрами гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации).

В институте осуществляется процесс подготовки кадров высшей квалификации через систему соискательства и аспирантуры. Функционирует система целевого обучения по образовательным программам высшего профессионального образования.

Весомые результаты масштабной разноплановой научной деятельности института отражены более чем в 8,5 тыс. опубликованных научных работ, в различных инструктивно-методических и информационно-методических документах федерального и регионального уровней, в патентах и базах данных; программах для ЭВМ, в защищенных докторских и кандидатских диссертациях. Ростовский-на-Дону противочумный институт, являясь структурной единицей Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и имея огромный опыт предшественников с современными знаниями, готов и дальше прини-

мать активное участие в решении важных вопросов по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия и биологической безопасности населения Российской Федерации.

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. Трухачев А.Л., Водопьянов А.С., Ерошенко Г.А., Подладчикова О.Н., Мелоян М.Г., Кузнецова Д.А., Никифоров К.А., Балькова А.Н., Рыкова В.А., Арсеньева Т.Е. *Yersinia pestis* Analyzer – программа для анализа результатов секвенирования штаммов *Yersinia pestis*, определения наличия последовательностей различных генов и выявления INDEL-маркеров. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2021668184, опублик. 10.11.2021.
2. Сорокин В.М., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Водопьянов А.С. Способ дифференциации штаммов *Francisella tularensis* путем молекулярно-генетического типирования. Патент РФ № 2756854, опублик. 06.10.2021. Бюл. № 28.
3. Сорокин В.М., Водопьянов А.С., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В. Способ определения подвидов *Francisella tularensis* методом мультипраймерной ПЦР. Патент РФ № 2765495, опублик. 31.01.2022. Бюл. № 4.
4. Сорокин В.М., Водопьянов А.С., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Писанов Р.В. *Francisella tularensis* INDEL-маркеры. Свидетельство о государственной регистрации № 2022620153, опублик. 18.01.2022.
5. Аронова Н.В., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Головин С.Н., Анисимова А.С. Роль везикул наружных мембран возбудителей особо опасных инфекций в патогенезе и иммуногенезе инфекционного процесса. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 4:6–15. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-6-15.
6. Филиппенко А.В., Омельченко Н.Д., Дуванова О.В., Шипко Е.С., Труфанова А.А., Пасюкова Н.И., Иванова И.А., Евдокимова В.В. Профилактическая эффективность препаратов везикул наружных мембран атоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 серогруппы. *Медицинский вестник Юга России*. 2023; 14(3):66–72. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-3-66-72.
7. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Мельникова А.А., Носков А.К., Ковалев Е.В., Карпушенко Г.В., Лялина Л.В., Смирнов В.С., Чемисова О.С., Тришина А.В., Березняк Е.А., Воловикова С.В., Стенина С.И., Янович Е.Г., Мелоян М.Г., Асмолова Н.Ю., Усова А.А., Слись С.С., Тотолян А.А. Оценка популяционного иммунитета к SARS-CoV-2 на территории Ростовской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4:117–24. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-117-124.
8. Носков А.К., Подойницына О.А., Водопьянов А.С., Писанов Р.В., Ковалев Е.В., Пеньковская Н.А., Слись С.С., Янович Е.Г., Кузнецова Д.А., Водопьянов С.О., Чемисова О.С. Сравнительный анализ геномного разнообразия SARS-CoV-2, циркулирующих на территориях Ростовской области и Республики Крым в период с марта по июнь 2021 г. *Медицинский вестник Юга России*. 2021; 12(3):62–71. DOI: 10.21886/2219-8075-2021-12-3-62-71.
9. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Карпушенко Г.В., Чемисова О.С., Пичурина Н.Л., Павлович Н.В., Водопьянов С.О., Гудуева Е.Н., Слись С.С., Пшеничная Н.Ю., Литовко А.Р., Асмолова Н.Ю. Этиология внебольничных пневмоний в период эпидемического распространения Covid-19 и оценка риска возникновения пневмоний, связанных с оказанием медицинской помощи. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО*. 2021; (7):67–75. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-7-67-75.
10. Попова А.Ю., редактор. COVID-19: научно-практические аспекты борьбы с пандемией в Российской Федерации. Саратов: Амирит; 2021. 608 с.
11. Ковалев Е.В., редактор. COVID-19 в Ростовской области. Ростов н/Д.: Мини-Тайп; 2023. 360 с.
12. Чемисова О.С., Полеева М.В., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Трухачев А.Л., Писанов Р.В., Кругликов В.Д., Носков А.К. Разработка и изучение эффективности набора реагентов для идентификации *Vibrio cholerae* и *Vibrio parahaemolyticus* методом мультилокусной аллель-специфической полимеразной цепной реакции при проведении клинических испытаний. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2022; 27(3):175–83. DOI: 10.17816/EID111975.

13. Чемисова О.С., Цырулина О.А., Трухачёв А.Л., Носков А.К., Морозова И.В. Анализ специфичности праймеров для выявления генов *Vibrio cholerae* методом изотермической петлевой амплификации (LAMP) *in silico* и *in vitro*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68(3):178–84. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-3-178-184.

14. Наркевич А.Н., Ларионова Л.В., Симакова Д.И., Писанов Р.В. Способ получения монодисперсных полимерных микросфер с альдегидными группами. Патент РФ № 2751881, опубл. 19.07.2021. Бюл. № 20.

15. Ларионова Л.В., Писанов Р.В., Симакова Д.И., Наркевич А.Н., Архангельская И.В. Полимерный иммуноглобулиновый диагностикум для определения холерного токсина и оценки уровня его продукции вибрионами. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 4:84–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-84-89.

16. Якушева О.А., Алексеева Л.П., Зюзина В.П., Архангельская И.В., Яговкин М.Э. Характеристика и оценка диагностической значимости поли- и моноклональных пероксидазных конъюгатов к холерному токсину. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2020; 16(2):37–42.

17. Чемисова О.С., Мазрухо А.Б., Харабаджахан Г.Д., Савельева И.К., Санамянц Е.М., Сагакянц М.М., Каминский Д.И., Ульрих Е.П. Оценка диагностической эффективности новой питательной среды для выделения и первичной идентификации параземолитических вибрионов. *Астраханский медицинский журнал*. 2021; 16(2):62–70. DOI: 10.17021/2021.16.2.62.70.

18. Мазрухо А.Б., Каминский Д.И., Соков Д.В., Овсова Л.М., Сокиркина О.Н., Кругликов В.Д., Архангельская И.В., Левченко Д.А., Ежова М.И. Изучение эффективности питательной среды для идентификации холерного вибриона «Аргинин-железо-сахарозный агар» при проведении клинических испытаний. *Астраханский медицинский журнал*. 2021; 16(1):73–82. DOI: 10.17021/2021.16.1.73.82.

19. Погожова М.П., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Аноприенко А.О. Создание коллекции бактериофагов, перспективных для использования в диагностике и профилактике холеры. *Проблемы медицинской микологии*. 2023; 25(2):161.

20. Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Токарев Н.К., Носков А.К., Панферова Ю.А., Красоткина С.Ю., Пичурина Н.Л., Сокиркина Е.Н., Симакова Д.И., Чемисова О.С. Лабораторная диагностика лихорадки Ку: практическое руководство. Омск: Издат. центр «КАН»; 2023. 84 с.

21. Куличенко А.Н., Малецкая О.В., Прислегина Д.А., Махова В.В., Таран Т.В., Василенко Н.Ф., Манин Е.А., Ашибоков У.М. Эпидемиологическая обстановка по природно-очаговым инфекционным болезням в Южном и Северо-Кавказском федеральных округах в 2021 г. (Аналитический обзор). Ставрополь; 2022. 96 с.

22. Тришина А.В., Березняк Е.А., Пичурина Н.Л., Егизарян Л.А., Симонова И.Р., Добровольский О.П., Орехов И.В., Носков А.К. Современное состояние проблемы геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Ростовской области. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:160–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-160-166.

23. Соболева Е.Г., Кузнецова Д.А., Кругликов В.Д., Пичурина Н.Л., Добровольский О.П., Сокиркина Е.Н., Тихонов С.Н., Пеньковская Н.А., Носков А.К. Тактические особенности функционирования СПЭБ Роспотребнадзора на территории Республики Крым в условиях, характерных для чрезвычайной ситуации сочетанного характера. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:153–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-153-159.

24. Попова А.Ю., Носков А.К., Ежлова Е.Б., Кругликов В.Д., Миронова Л.В., Монахова Е.В., Чемисова О.С., Подойнищина О.А., Хунхеева Ж.Ю., Водопьянов А.С., Галачьянц Ю.П. Ретроспективный анализ эпидемиологической ситуации по холере в Донбасском регионе, Запорожской и Херсонской областях. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНСО*. 2023; 31(11):82–93. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-11-82-93.

25. Кретенчук О.Ф., Левченко Д.А., Щипелева И.А., Носков А.К. Совет молодых ученых Ростовского-на-Дону противочумного института: яркие моменты из прошлого, современный период и взгляд в будущее. *Бактериология*. 2019; 4(4):55–60. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-4-55-60.

26. Сизова Ю.В., Бурлакова О.С., Пичурина Н.Л. Опыт подготовки специалистов по биологической безопасности. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2021; 10(4):115–9. DOI: 10.33029/2305-3496-2021-10-4-115-119.

27. Кононенко А.А., Пичурина Н.Л., Водяничкая С.Ю., Логвин Ф.В., Баташев В.В., Тютюнькова Н.Г., Соболева Е.Г. Опыт внедрения в образовательный процесс новых технологий обучения медицинских работников в условиях пандемии COVID-19. *Медицинский вестник Юга России*. 2022; 13(4):122–6. DOI: 10.21886/2219-8075-2022-13-4-122-126.

28. Сизова Ю.В. Подготовка специалистов по лабораторной диагностике особо опасных инфекций с использованием тест-систем иммуноферментного анализа. *Инфекционные*

болезни: новости, мнения, обучение. 2023; 12(2):100–4. DOI: 10.33029/2305-3496-2023-12-2-100-104.

References

1. Trukhachev A.L., Vodop'yanov A.S., Eroshenko G.A., Podladchikova O.N., Meloyan M.G., Kuznetsova D.A., Nikiforov K.A., Balykova A.N., Rykova V.A., Arsen'eva T.E. [*Yersinia pestis* Analyzer is a program for analyzing the results of sequencing of *Yersinia pestis* strains, determining the presence of sequences of various genes and identifying INDEL markers]. Certificate of state registration of a computer program No. 2021668184, publ. 10 Nov 2021.

2. Sorokin V.M., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Vodop'yanov A.S. [Method for differentiation of *Francisella tularensis* strains applying molecular-genetic typing]. RF patent No. 2756854, publ. 06 Oct 2021. Bull. No. 28.

3. Sorokin V.M., Vodop'yanov A.S., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V. [Method for the determination of *Francisella tularensis* subspecies using multi-primer PCR]. RF patent No. 2765495, publ. 31 Jan 2022. Bull. No. 4.

4. Sorokin V.M., Vodop'yanov A.S., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Pisanov R.V. [*Francisella tularensis* INDEL-markers]. Certificate of state registration No. 2022620153, publ. 18 Jan 2022.

5. Aronova N.V., Pavlovich N.V., Tsimbalistova M.V., Golovin S.N., Anisimova A.S. [The role of outer membrane vesicles of agents of particularly dangerous infections in the pathogenesis and immunogenesis of infectious process]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (4):6–15. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-6-15.

6. Filippenko A.V., Omel'chenko N.D., Duvanova O.V., Shipko E.S., Trufanova A.A., Pasyukova N.I., Ivanova I.A., Evdokimova V.V. [Preventive efficacy of preparations of vesicles of external membranes of atoxygenic strains of *Vibrio cholerae* O1 serogroup]. *Meditsinsky Vestnik Yuga Rossii [Medical Herald of the South of Russia]*. 2023; 14(3):66–72. DOI: 10.21886/2219-8075-2023-14-3-66-72.

7. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Mel'nikova A.A., Noskov A.K., Kovalev E.V., Karpushchenko G.V., Lyalina L.V., Smirnov V.S., Chemisova O.S., Trishina A.V., Bereznyak E.A., Volovikova S.V., Stenina S.I., Yanovich E.G., Meloyan M.G., Asmolova N.Yu., Usova A.A., Slis' S.S., Totolian A.A. [Assessment of population immunity to SARS-CoV-2 virus in the Rostov Region]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (4):117–24. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-117-124.

8. Noskov A.K., Podoyntsinina O.A., Vodopianov A.S., Pisanov R.V., Kovalev E.V., Penkovskaya N.A., Slis S.S., Yanovich E.G., Kuznetsova D.A., Vodopianov S.O., Chemisova O.S. [Comparative analysis of the genomic diversity of SARS-CoV-2 circulating in the territories of the Rostov Region and the Republic of Crimea in the period from March to June 2021]. *Meditsinsky Vestnik Yuga Rossii [Medical Herald of the South of Russia]*. 2021; 12(3):62–71. DOI: 10.21886/2219-8075-2021-12-3-62-71.

9. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Noskov A.K., Kovalev E.V., Karpushchenko G.V., Chemisova O.S., Pichurina N.L., Pavlovich N.V., Vodopyanov S.O., Gudueva E.N., Slis S.S., Pshenichnaya N.Yu., Litovko A.R., Asmolova N.Yu. [Etiology of community-acquired pneumonia during the epidemic spread of COVID-19 and healthcare-associated pneumonia risk assessment]. *Zdorovie Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2021; (7):67–75. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-7-67-75.

10. Popova A.Yu., editor. [COVID-19: Scientific and Practical Aspects of Combating the Pandemic in the Russian Federation]. Saratov: "Amirit"; 2021. 608 p.

11. Kovalev E.V., editor. [COVID-19 in the Rostov Region]. Rostov-on-Don: "Mini-Tipe"; 2023. 360 p.

12. Chemisova O.S., Poleeva M.V., Vodopyanov S.O., Vodopyanov A.S., Trukhachev A.L., Pisanov R.V., Kругликов V.D., Noskov A.K. [Development and study of the performance of a reagent kit for the identification of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* by multilocus allele-specific polymerase chain reaction in clinical trials]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2022; 27(3):175–83. DOI: 10.17816/EID111975.

13. Chemisova O.S., Cyulina O.A., Trukhachev A.L., Noskov A.K., Morozova I.V. [Analysis of the specificity of primers for the detection of *Vibrio cholerae* genes by isothermal loop amplification (LAMP) *in silico* and *in vitro*]. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika [Russian Clinical Laboratory Diagnostics]*. 2023; 68(3):178–84. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-3-178-184.

14. Narkevich A.N., Larionova L.V., Simakova D.I., Pisanov R.V. [Method for producing monodisperse polymer microspheres with aldehyde groups]. RF patent No. 2751881, publ. 19 July 2021. Bull. No. 20.

15. Larionova L.V., Pisanov R.V., Simakova D.I., Narkevich A.N., Arkhangel'skaya I.V. [Polymeric immunoglobulin diagnosti-

cum for detection of cholera toxin and assessing the level of its production by vibrios]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (4):84–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-84-89.

16. Yakusheva O.A., Alekseeva L.P., Zyuzina V.P., Arkhangel'skaya I.V., Yagovkin M.E. [Characterization and evaluation of the diagnostic significance of poly- and monoclonal peroxidase conjugates to cholera toxin]. *Vestnik Biotekhnologii i Fiziko-Khimicheskoi Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova [Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2020; 16(2):37–42.

17. Chemisova O.S., Mazrukho A.B., Kharabajakhyan G.D., Savelyeva I.K., Sanamyants E.M., Sahakyants M.M., Kaminsky D.I., Ulrich E.P. [Estimation of diagnostic efficiency of a new nutrient medium for isolation and primary identification of parahemolytic vibrios]. *Astrakhanskij Meditsinskij Zhurnal [Astrakhan Medical Journal]*. 2021; 16(2):62–70. DOI: 10.17021/2021.16.2.62.70.

18. Mazrukho A.B., Kaminsky D.I., Sokov D.V., Ovsova L.M., Sokirkina O.N., Kruglikov V.D., Arkhangel'skaya I.V., Levchenko D.A., Ezhova M.I. [Study of the effectiveness of the nutrient medium for identification of the cholera vibrio "Arginine-iron-sucrose agar" during its clinical trials]. *Astrakhanskij Meditsinskij Zhurnal [Astrakhan Medical Journal]*. 2021; 16(1):73–82. DOI: 10.17021/2021.16.1.73.82.

19. Pogozhova M.P., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Anoprienko A.O. [Creation of a collection of bacteriophages promising for use in the diagnosis and prevention of cholera]. *Problemy Meditsinskoi Mikologii [Problems of Medical Mycology]*. 2023; 25(2):161.

20. Rudakov N.V., Shpynov S.N., Tokarevich N.K., Noskov A.K., Panferova Yu.A., Krasotkina S.Yu., Pichurina N.L., Sokirkina E.N., Simakova D.I., Chemisova O.S. [Laboratory Diagnosis of Q Fever: Practice Guidelines]. Omsk: "KAN"; 2023. 84 p.

21. Kulichenko A.N., Malet'skaya O.V., Prislegina D.A., Makhova V.V., Taran T.V., Vasilenko N.F., Manin E.A., Ashibokov U.M. [Epidemiological Situation on Natural-Focal Infectious Diseases in the Southern and North-Caucasian Federal Districts in 2021 (Analytical Review)]. Stavropol: 2022. 96 p.

22. Trishina A.V., Berezhnyak E.A., Pichurina N.L., Egiazyryan L.A., Simonova I.R., Dobrovol'sky O.P., Orekhov I.V., Noskov A.K. [Current state of the issue of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Rostov Region]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):160–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-160-166.

23. Soboleva E.G., Kuznetsova D.A., Kruglikov V.D., Pichurina N.L., Dobrovol'sky O.P., Sokirkina E.N., Tikhonov S.N., Pen'kovskaya N.A., Noskov A.K. [Tactical features of operation of the Specialized Anti-Epidemic Team of the Rospotrebnadzor on the

territory of the Republic of Crimea under conditions characteristic of a combined emergency]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):153–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-153-159.

24. Popova A. Yu., Noskov A.K., Ezhlova E.B., Kruglikov V.D., Mironova L.V., Monakhova E.V., Chemisova O.S., Podoynitsina O.A., Khunkheeva Zh.Yu., Vodopyanov A.S., Galachyants Yu.P. [Retrospective analysis of the cholera situation in the Donbass Region, Zaporozhye and Kherson Regions]. *Zdorovie Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2023; 31(11):82–93. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-11-82-93.

25. Kretenchuk O.F., Levchenko D.A., Shchipeleva I.A., Noskov A.K. [The council of young scientists of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute: bright moments from the past, our present and prospects]. *Bakteriologiya [Bacteriology]*. 2019; 4(4):55–60. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-4-55-60.

26. Sizova Yu.V., Burlakova O.S., Pichurina N.L. [Experience in training specialists in biological safety]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2021; 10(4):115–9. DOI: 10.33029/2305-3496-2021-10-4-115-119.

27. Kononenko A.A., Pichurina N.L., Vodyanitskaya S.Y., Logvin F.V., Batashev V.V., Tyutyunkova N.G., Soboleva E.G. [The experience of introducing new technologies for training medical workers in the educational process in the conditions of the COVID-19 pandemic]. *Meditsinsky Vestnik Yuga Rossii [Medical Herald of the South of Russia]*. 2022; 13(4):122–6. DOI: 10.21886/2219-8075-2022-13-4-122-126.

28. Sizova Yu.V. [Training of specialists in laboratory diagnostics of particularly dangerous infections using ELISA test systems]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2023; 12(2):100–4. DOI: 10.33029/2305-3496-2023-12-2-100-104.

Authors:

Noskov A.K., Poleeva M.V., Kretenchuk O.F., Markovskaya E.I., Korshenko V.A., Osadchyy D.A., Chemisova O.S. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40, M. Gor'kogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aanet.ru.

Об авторах:

Носков А.К., Полеева М.В., Кретенчук О.Ф., Марковская Е.И., Коршенко В.А., Осадчий Д.А., Чемисова О.С. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aanet.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-36-50

УДК 616.98:579.841.93

Д.Г. Пономаренко¹, А.Д. Матвиенко¹, А.А. Хачатурова¹, И.В. Жаринова¹, О.Н. Скударева²,
 Д.В. Транквилевский^{3,4}, О.В. Логвиненко¹, Е.Л. Ракитина¹, М.В. Костюченко¹, Ю.В. Кондратьева¹,
 О.В. Малецкая¹, А.Н. Куличенко¹

Анализ ситуации по бруцеллезу в мире и Российской Федерации

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

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

³ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии», Москва, Российская Федерация; ⁴ФБУН «Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана», Москва, Российская Федерация

Приведены сведения о заболеваемости бруцеллезом и основных тенденциях развития ситуации по этой инфекции в странах мира в современных условиях. Дан подробный анализ эпизоотологической и эпидемиологической обстановки по бруцеллезу в Российской Федерации в последнее десятилетие и прогноз заболеваемости людей на 2024 г. Установлено, что глобальная ситуация по бруцеллезу в регионах мира в последние 15–20 лет претерпела изменения, можно отметить почти двукратное увеличение числа неблагополучных по этой инфекции стран. Относительно высокая заболеваемость бруцеллезом регистрировалась в ряде стран Африки, Ближнего Востока, Центральной Азии, Южной и Юго-Восточной Азии, Центральной и Южной Америки. В странах Европейского союза наблюдается тенденция к увеличению количества случаев заболевания населения, связанных с поездками в энзоотичные по бруцеллезу страны. В Российской Федерации в последние 10 лет отмечается неустойчивая эпидемиологическая ситуация, выявлено 3537 случаев. В 2022–2023 гг. отмечена тенденция к увеличению заболеваемости людей бруцеллезом на 30–50 % относительно среднесуточных значений, связанная с возникновением эпизоотий крупного рогатого скота (КРС), в том числе на крупных животноводческих предприятиях, формированием групповых эпидемических очагов на ранее относительно благополучных по бруцеллезу территориях Центрального, Приволжского и Южного федеральных округов и ухудшением эпизоотической ситуации по бруцеллезу в Республике Дагестан, ряде субъектов Сибирского федерального округа. Требуется повышенного внимания ситуация по бруцеллезу, сложившаяся в Смоленской и Брянской областях, где отмечаются признаки укоренения (энзоотичности) и дальнейшего распространения в 2023 г. бруцеллеза среди КРС. В 2024 г. можно прогнозировать уровень заболеваемости на 35–40 % выше среднесуточных значений. Количество случаев заболеваний людей бруцеллезом может составить 480–530 (0,32–0,36 на 100 тыс. населения).

Ключевые слова: бруцеллез в мире, тенденции развития ситуации по бруцеллезу, эпизоотологическая ситуация, эпидемиологическая обстановка, групповые вспышки бруцеллеза.

Корреспондирующий автор: Пономаренко Дмитрий Григорьевич, e-mail: ponomarenko.dg@gmail.com.

Для цитирования: Пономаренко Д.Г., Матвиенко А.Д., Хачатурова А.А., Жаринова И.В., Скударева О.Н., Транквилевский Д.В., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Кондратьева Ю.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Анализ ситуации по бруцеллезу в мире и Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 2:36–50. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-36-50

Поступила 05.04.2024. Принята к публ. 06.05.2024.

D.G. Ponomarenko¹, A.D. Matvienko¹, A.A. Khachaturova¹, I.V. Zharinova¹, O.N. Skudareva²,
 D.V. Trankvilevsky^{3,4}, O.V. Logvinenko¹, E.L. Rakitina¹, M.V. Kostyuchenko¹, Yu.V. Kondrat'eva¹,
 O.V. Maletskaya¹, A.N. Kulichenko¹

Analysis of the Situation on Brucellosis around the World and in the Russian Federation

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

²Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being, Moscow, Russian Federation;

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

⁴Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman, Moscow, Russian Federation

Abstract. Data on the incidence of brucellosis and main trends in the development of situation on this infection in countries around the world under current conditions are provided in the review. A detailed analysis of epizootiological and epidemiological situation regarding brucellosis in the Russian Federation over the last decade and a forecast for human brucellosis incidence for 2024 are given. It is established that global situation on brucellosis in different regions of the world has undergone changes over the past 15–20 years. One can observe an almost twofold increase in the number of countries affected by brucellosis in the world. A relatively high brucellosis morbidity rates were recorded in some countries in Africa, Central Asia, South and South-East Asia, Central and South America. In countries of the European Union, there is a trend towards an increase in the number of human brucellosis cases associated with travel to enzootic countries. In the Russian Federation, an unstable epidemiological situation has been observed over the past 10 years. 3537 cases were identified. In 2022–2023, an emerging trend towards an increase in incidence of brucellosis among population by 30–50 % as compared to long-term average values was recorded, linked to occurrence of cattle epizooties, including at large livestock enterprises; formation of group epidemic foci in previously relatively brucellosis-free territories of the Central, Volga and Southern Federal Districts; and the deterioration of epizootic situation on brucellosis in the Republic of Dagestan and a number of constituent entities of Siberian Federal District. Situation on brucellosis in the Smolensk and Bryansk Regions requires closer attention. There are signs of rooting (enzooty) and further spread of brucellosis

among cattle there in 2023. In 2024, incidence rate can be predicted to be 35–40 % higher than the long-term average values. The number of human brucellosis cases may be approximately 480–530 (0.32–0.36 per 100 000 population).

Key words: brucellosis around the world, trends in the development of situation on brucellosis, epizootiological situation, epidemiological situation, group outbreaks of brucellosis.

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

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

Corresponding author: Dmitry G. Ponomarenko, e-mail: ponomarenko.dg@gmail.com.

Citation: Ponomarenko D.G., Matvienko A.D., Khachaturova A.A., Zharinova I.V., Skudareva O.N., Trankvilevsky D.V., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Kondrat'eva Yu.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Analysis of the Situation on Brucellosis around the World and in the Russian Federation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:36–50. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-36-50

Received 05.04.2024. Accepted 06.05.2024.

Ponomarenko D.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0422-6755>
Matvienko A.D., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-3278-4762>
Khachaturova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7459-7204>
Zharinova I.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9614-234X>
Trankvilevsky D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4896-9369>
Logvinenko O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1054-8937>

Rakitina E.L., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6073-6544>
Kostyuchenko M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6068-6655>
Kondrat'eva Yu.V., ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-6497-2420>
Maletskaya O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3003-4952>
Kulichenko A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Бруцеллез остается глобальной проблемой общественного здравоохранения в мире. За последние несколько десятилетий география распространения бруцеллезной инфекции постоянно расширялась. Вспышки бруцеллеза среди людей и животных все чаще регистрируются на территориях, относительно благополучных по этой инфекции, наблюдается тенденция к росту числа случаев бруцеллеза после путешествий, иммиграции в районы мира, эндемичные по этой инфекции. Заболевание по-прежнему распространено в странах Восточного Средиземноморья и Африке, Центральной и Юго-Восточной Азии. Заболеваемость бруцеллезом в этих регионах колеблется от 0,03 до более 200 на 100 тыс. человек. Вместе с тем, учитывая недостаточную эффективность систем эпидемиологического надзора в неблагополучных по бруцеллезу странах указанных регионов мира, фактическая заболеваемость может быть в 10–30 раз выше [1].

В большинстве развивающихся неблагополучных по бруцеллезу стран реализация мер контроля и искоренения этой инфекции – крайне затруднительная задача, особенно ввиду интенсивного ведения животноводства, зачастую являющегося единственной развитой экономической сферой деятельности или источником средств к существованию, религиозных убеждений в отношении к животным, низкого социально-экономического уровня и недостаточной грамотности населения. Сохраняющиеся десятилетиями традиционные методы ведения сельского хозяйства и образ жизни, а также потребление свежих (сырых) молочных продуктов способствуют высокой распространенности инфекции [2–4].

Глобальная ситуация по бруцеллезу в регионах мира в последние 15–20 лет претерпела изменения. С 2006 г. по настоящее время количество неблагополучных по бруцеллезу стран увеличилось с 50–55 до как минимум 95–100, в том числе 18 государств в Европе, 12 – на Американском континенте, 9 – в Азии и 4 – в Африке [5]. Нельзя исключать, что увеличение количества регистраций случаев бруцеллеза и числа стран, неблагополучных по этой инфекции, в определенной степени связано с улучшением диа-

гностики за счет широкого внедрения в лабораторную практику более чувствительных тестов (в первую очередь – ИФА, ПЦР), совершенствованием надзора, популяризацией знаний об эпизоотологии и эпидемиологии бруцеллеза.

К основным видам животных, от которых человек может заразиться бруцеллезной инфекцией, относят коз, овец, крупный рогатый скот (КРС), свиней, собак, реже другие виды. Чаще всего человек заражается возбудителем бруцеллеза при прямом или опосредованном контакте с животными или продуктами животного происхождения, употреблении необеззараженного молока (молочных продуктов) от больного скота. Работники ферм, персонал скотобоев и предприятий по переработке продукции животноводства, зооветеринарные специалисты, а также владельцы скота, непосредственно участвующие в обслуживании животных, подвергаются более высокому риску инфицирования бруцеллами [6]. Описаны единичные случаи, указывающие на возможность передачи инфекции людям от клещей, инфицированных бруцеллами (трансмиссивный путь) [7].

Отмечается, что в большинстве стран с высоким уровнем заболеваемости бруцеллезом за каждым периодом снижения напряженности эпизоотологической ситуации, как правило, следовал последующий рост количества случаев, что подчеркивает необходимость непрерывного контроля за инфекцией [5].

Цель обзора – оценить современную обстановку по бруцеллезу в мире, на основании экспертного анализа тенденций развития эпизоотической и эпидемической ситуаций в Российской Федерации дать прогноз заболеваемости людей бруцеллезом на 2024 г.

Анализ заболеваемости и случаев регистрации бруцеллеза в странах мира проведен по данным открытых информационных источников, а также предоставленным организациями Роспотребнадзора и Минсельхоза России.

Бруцеллез достаточно широко распространен в мире. Инфекция энзоотична (эндемична) для стран Восточного Средиземноморья, Африки, Центральной

и Юго-Восточной Азии, Южной Америки. На страны **Ближнего Востока** приходится основная доля случаев заболевания людей бруцеллезом в мире. Высокая заболеваемость на 100 тыс. человек (далее – интенсивный показатель заболеваемости, ИП) отмечается в Йемене (86,0–88,0), Сирии (>45,0), Палестине (>19,0), Саудовской Аравии (>12,0). Кроме того, в последнее десятилетие относительно высокая заболеваемость бруцеллезом отмечается в Кувейте (10,8), Омане (9,0), Турции (8,0), Иордании (4,5), Катаре (4,3), Ираке (2,6). В Иране в последние годы ИП составлял 18,0–19,0. Регистрируется высокая пораженность скота бруцеллезом в Иране: среди овец – в среднем 18 % (4–43 %), коз – 19 % (7–37 %), КРС – 16 % (5–34 %), верблюдов – 18 % (1–48 %) [8–10]. В последние несколько лет наметилась тенденция к ухудшению ситуации по бруцеллезу в Израиле. В начале 2023 г. в Хайфском округе Израиля среди жителей муниципалитета Ум-эль-Фахм было подтверждено семь новых случаев бруцеллеза. Ухудшение ситуации связано с возникновением эпизоотических вспышек бруцеллеза и высокой пораженностью молочного скота в очагах инфекции [11].

Сохраняется неблагополучие по бруцеллезу в странах **Африки**. В связи с недостаточной эффективностью систем надзора за инфекционной заболеваемостью, в том числе зоонозами, реальный масштаб проблемы бруцеллеза на Африканском континенте неизвестен. При этом высокие показатели заболеваемости бруцеллезом регистрируются в Кении (>200,0), Танзании (23,0–25,0), Эритрее (>20,0), Алжире (>8,0), Тунисе (7,5–9,0), Египте (3,0–4,0) [5]. В Алжире за первое полугодие 2023 г. зарегистрировано более 130 случаев бруцеллеза среди людей. За этот период только в одной провинции Алжира (провинция Беджая) установлено восемь эпизоотических вспышек бруцеллеза. Наиболее неблагополучные по бруцеллезу районы расположены в северной части страны, где случаи бруцеллеза чаще регистрируются среди животноводов, лиц, участвующих в кустарном производстве молочных продуктов. В Тунисе в г. Тебурсуке (район Беджа) на ферме КРС, где среди поголовья регистрировались аборт, был выявлен групповой эпидемический очаг бруцеллеза (12 человек) [12–17].

В последние годы отмечается стойкий тренд к увеличению заболеваемости бруцеллезом в южной части Африканского континента. По разным данным, в Южно-Африканской Республике (ЮАР) среди работников скотобойных пунктов серопревалентность к бруцеллезу регистрировалась в диапазоне от 12,7 до 29,3 %, при этом доля лиц, положительно реагирующих на бруцеллез, больше на скотобойнях с высокой пропускной способностью, что свидетельствует о наиболее существенных рисках прямого контакта с животными (тушами животных). За последние 10 лет в ЮАР распространенность бруцеллеза среди КРС (по данным серологического мониторинга) увеличилась с 3,74 до 9,18 %. По данным на ноябрь 2023 г.,

в ЮАР насчитывалось около 12,7 млн голов (гол.) КРС, 22,3 млн – овец и 1,4 млн – свиней [18–21].

К наиболее неблагополучным по бруцеллезу странам **Восточной Европы и Центральной Азии** относят Кыргызстан (ИП – 15,0–16,0), Казахстан (14,0–15,0), Таджикистан (8,0–9,0), Армению (8,5–9,0), Туркменистан (6,0–7,0), Грузию (3,5–5,0), Монголию (3,5–4,0), Азербайджан (3,0–4,0) и Узбекистан (2,5–3,0) [5, 22–25].

В Кыргызстане заболеваемость людей бруцеллезом выше, чем в других странах Центральной Азии, в последние десятилетия в среднем ежегодно регистрировалось до 900 случаев. Можно отметить, что с 2008 г. наблюдается постепенное снижение уровня заболеваемости населения бруцеллезом (более чем в 5 раз), что связано с реализацией программы массовой вакцинации мелкого рогатого скота (МРС) против бруцеллеза с использованием живой противобруцеллезной вакцины и снижением напряженности эпизоотической ситуации. По результатам разных оценок, серопревалентность к бруцеллезу в республике среди КРС составляет в среднем 0,35 %, МРС – 0,71 % [26].

В ряде областей Казахстана (Абайская, Жетысуская и Костанайская области) наблюдался рост количества случаев бруцеллеза на 10–40 %. Кроме того, в первом полугодии 2023 г. отмечается увеличение числа бруцеллеза среди несовершеннолетних: в Жетысуской области зарегистрировано 14 случаев, в Костанайской – 5, Мангистауской – 3. За первые пять месяцев 2023 г. в Кызылординской области республики отмечено увеличение не менее чем на 5 % количества случаев заболевания бруцеллезом среди подростков. Вместе с тем в первом полугодии 2023 г. отмечено снижение, в сравнении со среднемноголетними значениями, количества эпизоотий бруцеллеза в среднем на 59 %. Однако в целом в Казахстане всего за этот период было выявлено более 17,5 тыс. гол. больного бруцеллезом скота. В длительно неблагополучной по бруцеллезу Западно-Казахстанской области в период с января по март выявлен бруцеллез у более 5 тыс. гол. КРС и 790 гол. МРС [27–32].

В Таджикистане в последнее десятилетие отмечалась тенденция к снижению заболеваемости людей бруцеллезом (ИП – 8,0–9,0). С 2018 по 2022 г. в республике было зарегистрировано более 4 тыс. случаев, из которых более 19 % – среди несовершеннолетних. В последние годы наблюдалось увеличение количества случаев бруцеллеза среди лиц, имеющих скот в личных подсобных хозяйствах (ЛПХ, индивидуальные владельцы животных). Из особенностей ситуации можно отметить относительно высокую заболеваемость бруцеллезом среди женского населения, что связано с активным участием в обслуживании скота в ЛПХ. Активное вовлечение женщин в животноводство связано с оттоком мужского населения из страны (внешняя трудовая миграция) [33–35].

В *Китае* с 2005 г. отмечается тренд на ухудшение эпидемиологической обстановки по бруцеллезу. За последние 15–20 лет уровень заболеваемости людей бруцеллезом увеличился с 1,41 до 4,95 на 100 тыс. населения со среднегодовым приростом 7,5–33,3 %. В динамике роста заболеваемости можно выделить три хронологических этапа. В период с 2005 по 2014 г. наблюдался стабильный рост количества случаев бруцеллеза (ИП в среднем на уровне 2,5). В период 2015–2018 гг. можно отметить стабилизацию и некоторое снижение числа случаев бруцеллеза, хотя заболеваемость оставалась выше среднееголетних значений в сравнении с данными за 2005–2014 гг. Период с 2019 г. можно характеризовать как этап интенсивного роста уровня заболеваемости людей бруцеллезом. Наиболее выраженное увеличение заболеваемости отмечено в Южном, Центральном и Юго-Западном Китае («миграция» эпизоотических очагов с севера на юго-запад Китая). Динамика темпов производства говядины, баранины и молока в значительной степени коррелирует с более высокой заболеваемостью людей бруцеллезом. Штаммы *Brucella melitensis* доминируют в качестве циркулирующих (выделяемых от людей) видов бруцелл в большинстве неблагополучных регионов. Прослеживается тенденция к увеличению заболеваемости бруцеллезом среди городских жителей, что в том числе связано с продолжающейся активной урбанизацией животноводческой деятельности в Китае. Кроме того, в Тайване в 2023 г. впервые за последние более чем 30 лет зарегистрирован очаг бруцеллеза на овцеводческой ферме на юге провинции (уезд Пиндун) [5, 36–38].

В странах *Юго-Восточной Азии* спорадическая заболеваемость бруцеллезом регистрировалась в Малайзии, Вьетнаме и Таиланде. В Малайзии, несмотря на относительно низкий уровень распространенности бруцеллеза среди людей, это заболевание имеет серьезные последствия для общественного здравоохранения. В период с 2014 по 2019 г. в 5,8 % случаев среди лиц, госпитализированных с подозрением на бруцеллез, были выявлены антитела к возбудителю (подтверждена инфекция). В Центральном регионе Малайзии наблюдался самый высокий уровень серопревалентности среди людей, что связано с частым употреблением населением в пищу непастеризованного молока от КРС. На юге Вьетнама в период с 2016 по 2017 г. зарегистрировано около десяти случаев заражения людей бруцеллезом, вызванного *Brucella melitensis* (завоз инфекции из стран Ближнего Востока и Китая). На неблагополучных по бруцеллезу территориях Таиланда в 2019 г. установлено, что около 3,7 % беременных женщин были положительно реагирующими на антитела (IgG) к *Brucella* spp. Основной путь передачи инфекции был контактный (при обслуживании коз в домашних условиях) и/или пищевой – после употребления в пищу сырых продуктов из козьего молока [39–42].

В странах *Южной Азии* бруцеллез регистрируется преимущественно в Индии, Пакистане, Бангладеш, Афганистане и Непале. В Индии на территории южных штатов страны среди лиц, госпитализированных с лихорадкой неясного генеза, в среднем 8,3 % были положительно реагирующими на бруцеллез (каждый 12-й пациент). Доля серопозитивных на бруцеллез среди профессионального контингента составляла 7,5–31,2 %. Наибольшая серопревалентность к бруцеллезу среди населения выявлялась в районах Самбалпур (до 29,7 %), Мегхалае (до 11,4 %) и Маюрбхандж (4,44 %). В 2023 г. регистрировали заболевание людей бруцеллезом в г. Тривандрум штата Керала (семейный очаг), случаи заболевания среди владельцев животных в Мейенде округа Кожикоде и г. Кадаккала округа Коллам. Вместе с тем сообщалось, что в 2023 г. в Западной Бенгалии в д. Накашипара зарегистрирован случай летального исхода у заболевшего бруцеллезом, который занимался разведением скота в ЛПХ. На территории Индии насчитывается крупнейшая в мире популяция скота, которая составляет около 535 млн гол. (в том числе 303 млн гол. молочного скота). По разным оценкам, распространенность бруцеллеза среди КРС может составлять в среднем 15,1 % (12,0–21,1 %), эпизоотические очаги бруцеллеза регистрировались на территориях не менее чем 23 штатов Индии.

По результатам скрининговых исследований, проведенных на территории Бангладеш, установлено, что в районах с интенсивным разведением молочного скота (на примере подрайона Шахджадпур) среди владельцев животных, непосредственно участвующих в обслуживании поголовья, антитела к возбудителю бруцеллеза были обнаружены в среднем у 2,1 % (1,2–2,9 %) обследованных. Наибольшее количество случаев заболевания в Бангладеш выявляется в провинциях Пенджаб и Хайбер-Пахтунхва. Также бруцеллез регистрируется практически на всей территории Афганистана, с 2007 г. наблюдалось существенное снижение ИП – с 11,13 до 0,06. В провинции Герат среди заболевших существенную долю составляют женщины-домохозяйки (до 41 %) и студенты (18,2 %). Основной путь передачи инфекции – употребление молочных продуктов, контаминированных бруцеллами. На территории Пакистана бруцеллез широко распространен среди крупных жвачных животных. Так, например, в районе Мултан (провинция Пенджабе) серопревалентность к возбудителю бруцеллеза среди КРС составила в среднем 12,65 % (8,82–17,44 %) [43–48].

На территории государств *Европейского союза (ЕС)* в последние годы отмечается стойкая тенденция к улучшению эпидемиологической ситуации. За последние 10 лет подтверждалось от 130 до 530 случаев в год. Можно отметить стойкую тенденцию к увеличению среди населения государств ЕС количества случаев заболевания бруцеллезом, связанных с поездками в энзоотичные по бруцеллезу страны

(в разные годы от 23,3 до 57,4 %). Среди населения ЕС спорадическая заболеваемость бруцеллезом регистрировалась в Боснии и Герцеговине (ИП – 6,0–7,0), Греции (1,2–1,4), Македонии (1,0–1,1), Португалии (>0,4), Италии (0,35), Испании (0,15), Бельгии (0,07), Германии (0,05), Ирландии (0,04) и Хорватии (0,02).

Кроме того, с 2017 г. в ряде стран ЕС отмечен рост числа случаев заболевания бруцеллезом среди собак, включая Швейцарию, Нидерланды, Великобританию. В период с 2016 по 2022 г. в 20 странах ЕС (в основном Западной Европы) было выявлено около 3,7 % собак, положительных на наличие ДНК *Brucella* spp. Рост случаев заболевания бруцеллезом среди собак в Европе связывают с увеличением объемов их импорта из Восточной Европы.

В 2023 г. случаи заболевания людей бруцеллезом подтверждены в благополучной по бруцеллезу Болгарии (г. Кырджали). Люди заболели бруцеллезом после употребления молока и молочных продуктов от больного скота.

В Сербской Республике (Босния и Герцеговина) зарегистрировано 14 эпизоотических вспышек бруцеллеза, в том числе 6 – в окрестностях г. Невесине, 3 – в г. Баня-Лука, 3 – в г. Требине. Вспышки произошли из-за несоблюдения и невыполнения владельцами животных предписанных основных профилактических мер. Также эпизоотии бруцеллеза регистрировали на территории Косово (с. Микушница) [49–53].

К неблагополучным по бруцеллезу странам **Центральной и Южной Америки** относят Мексику (ИП – более 1,0), Перу (0,6–1,0), Коста-Рику (0,5–0,65), Кубу (0,35–0,4), Парагвай (0,27–0,31), Аргентину (до 0,5), Панаму (>0,10), Бразилию (0,1), Уругвай (до 0,1), Гондурас (0,08–0,1). В Мексике с 2005 по 2019 г. было зарегистрировано в общей сложности более 37 тыс. случаев (в среднем ежегодно 2,6–2,7 тыс. случаев). В 2023 г. в Мексике в период с января по июль в штате Гуанахуато зарегистрировано 96 случаев бруцеллеза, что в 3 раза выше в сравнении с аналогичным периодом предыдущего года (34 сл.). Бруцеллез среди людей регистрировали в Коста-Рике, преимущественно в Северном регионе Уэтар, Южно-Центральном и Восточно-Центральном регионах страны. Более 50 % национального производства молочных продуктов в Коста-Рике производится в муниципалитете Сан-Карлос, который, наряду с Сан-Хосе и Гойкоэча, относится к наиболее эпидемиологически неблагополучным по бруцеллезу.

Анализ эпизоотической ситуации показал, что распространенность бруцеллеза среди поголовья КРС в станах Центральной и Южной Америки, по разным оценкам, может достигать 15 % и более [5, 54–56].

Имеются сведения о выявлении на территории Южной Америки потенциально новых видов бруцелл. Штаммы выделены от летучих мышей *Desmodus rotundus* (*Brucella nosferati* sp. nov.), оби-

тающих в тропических лесах Коста-Рики, также от ошейникового пекари *Pecari tajacu* и белобородового пекари *Tayassu pecari* (*Brucella amazoniensis* sp. nov.), населяющих густые тропические леса Амазонской низменности, прилегающие к склонам Гвианского плоскогорья [57, 58].

Среднеголетние значения заболеваемости людей бруцеллезом в **Соединенных Штатах Америки (США)** находятся в диапазоне 100–200 случаев. В США сохраняется риск инфицирования людей в результате употребления пищевых продуктов животного происхождения (в основном молочные продукты), нелегально ввезенных из эндемичных по бруцеллезу стран (чаще из Мексики). В 2023 г. в штате Вайоминг обнаружили бруцеллез в популяции лося на западном склоне горы Бигхорн (Национальный лес Бигхорн, штат Вайоминг). Кроме того, в округе Суитутотер зарегистрирована эпизоотическая вспышка бруцеллеза среди КРС, при расследовании которой не исключался контакт скота с дикими животными. Такж, бруцеллез собак является эндемичным на юге США [5, 59, 60].

За последнее десятилетие в **Российской Федерации** отмечается неустойчивая эпидемиологическая ситуация. Согласно среднеголетним показателям за 10 лет (далее – СМП без учета 2020–2021 гг. – периода пандемии COVID-19) в среднем ежегодно регистрировалось 396 случаев бруцеллеза среди людей, ИП – 0,27. Более 70 % случаев бруцеллеза регистрировалось среди населения юга европейской части страны, в Северо-Кавказском (СКФО) и Южном (ЮФО) федеральных округах (рис. 1, 2).

В 2023 г. в России установлено 590 случаев бруцеллеза (ИП – 0,40), что превышает СМП на 33,1 %.

Наибольшее количество случаев бруцеллеза зарегистрировано на неблагополучных по бруцеллезу административных территориях **СКФО** – 2379 случаев (ИП – 2,41), что составляет 67,4 % от всех зарегистрированных случаев бруцеллеза среди людей в 2014–2023 гг. в России. Эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в округе характеризуется как неустойчивая, отмечается тренд на увеличение заболеваемости (ухудшение ситуации).

В 2023 г. в СКФО зарегистрировано 364 случая бруцеллеза (ИП – 3,57), что на 39,4 % выше СМП (261 сл.). Наибольшее количество заболевших регистрировали в **Республике Дагестан**. Эпидемиологическая ситуация в республике характеризуется как длительно неблагополучная, при этом в последние два года можно отметить тенденцию к увеличению заболеваемости (тренд возрастающий).

В период с 2014 по 2023 г. в Дагестане было установлено 1600 случаев. Согласно среднеголетним данным за 10 лет на территории республики в среднем ежегодно регистрировалось 168 заболевших бруцеллезом (ИП – 5,49). В 2023 г. установлено 266 случаев бруцеллеза среди людей (ИП – 8,32), что на 36,8 % выше СМП. Бруцеллез в республике преимущественно выявляли в весенне-летний

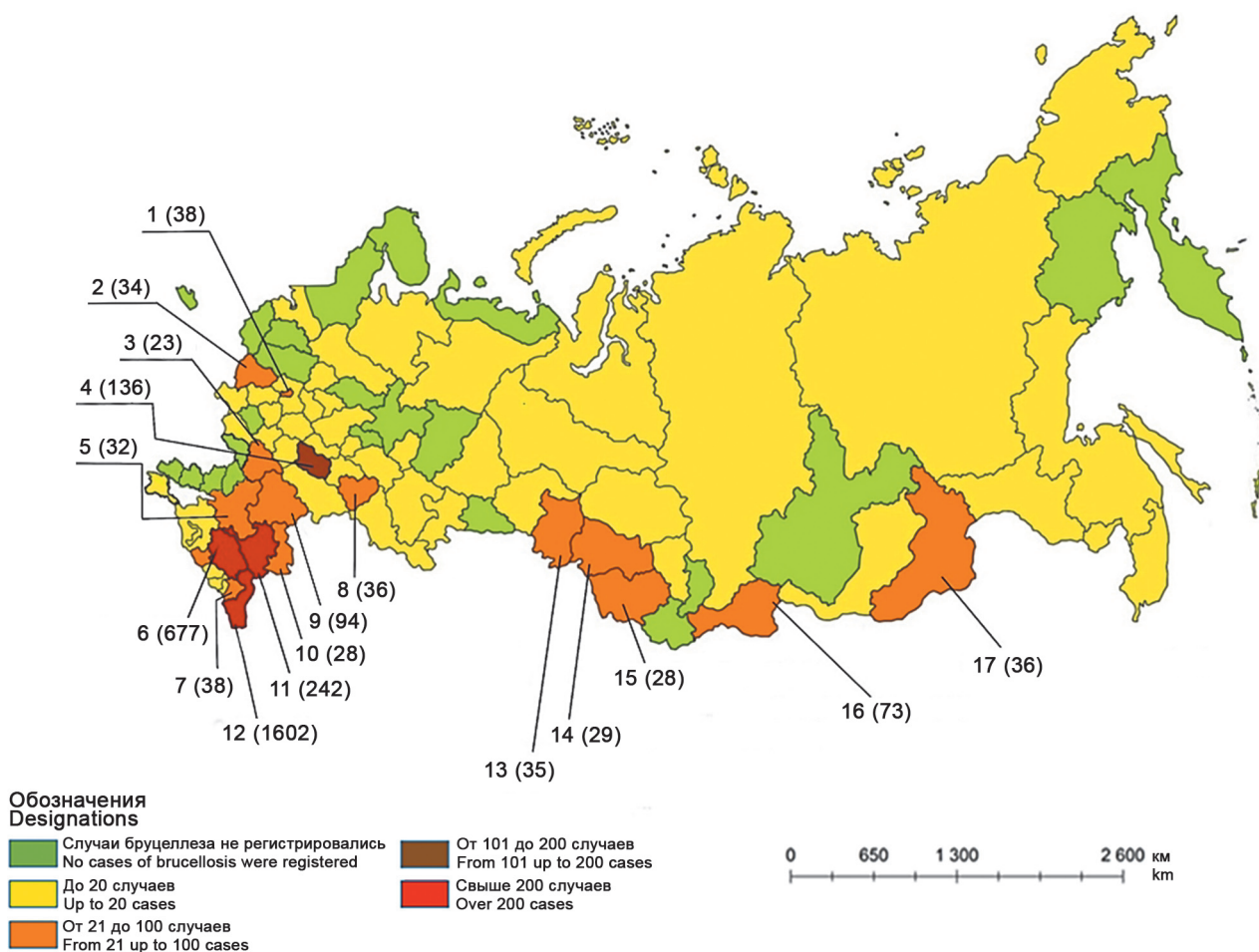


Рис. 1. Количество случаев заболевания людей бруцеллезом в Российской Федерации в 2014–2023 гг.:

1 – Москва; 2 – Смоленская область; 3 – Воронежская область; 4 – Пензенская область; 5 – Ростовская область; 6 – Ставропольский край; 7 – Чеченская Республика; 8 – Самарская область; 9 – Волгоградская область; 10 – Астраханская область; 11 – Республика Калмыкия; 12 – Республика Дагестан; 13 – Омская область; 14 – Новосибирская область; 15 – Алтайский край; 16 – Республика Тыва; 17 – Забайкальский край

Fig. 1. Number of human cases of brucellosis in the Russian Federation in 2014–2023:

1 – Moscow; 2 – Smolensk Region; 3 – Voronezh Region; 4 – Penza Region; 5 – Rostov Region; 6 – Stavropol Region; 7 – Chechen Republic; 8 – Samara Region; 9 – Volgograd Region; 10 – Astrakhan Region; 11 – Republic of Kalmykia; 12 – Republic of Dagestan; 13 – Omsk Region; 14 – Novosibirsk Region; 15 – Altai Territory; 16 – Republic of Tuva; 17 – Transbaikal Territory

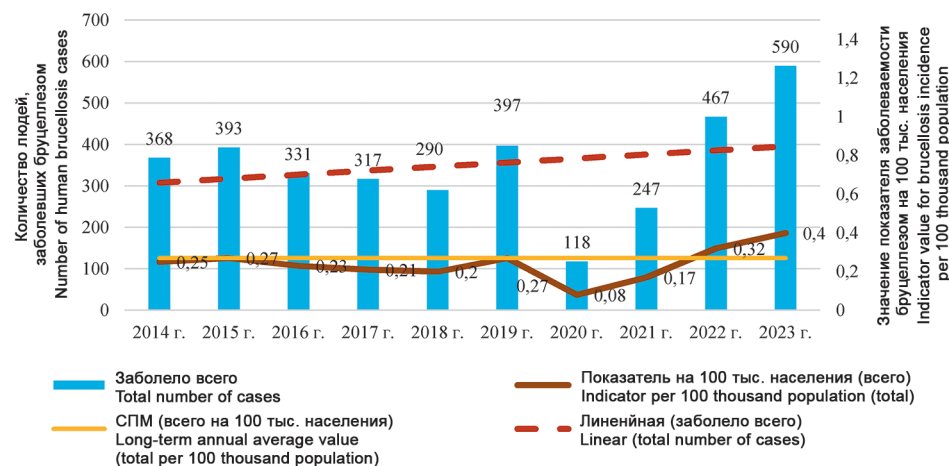


Рис. 2. Динамика заболеваемости и количества заболевших бруцеллезом людей в Российской Федерации в 2014–2023 гг.

Fig. 2. Dynamics of incidence and number of people affected by brucellosis in the Russian Federation in 2014–2023

(апрель – июнь, 31,9 %) и летне-осенний (август – ноябрь, 42,8 %) периоды. Доля городских жителей составила 19,2 %. КРС был источником инфекции в 58,3 % случаев заболевания людей бруцеллезом, МРС – в 32,3 %. Преобладал контактный механизм передачи инфекции (69,5 %), реже – алиментарный (21,0 %). К основному фактору передачи возбудителя можно отнести естественные выделения больного скота (более 70 %), реже – пищевые продукты от больных животных (20 %). Кроме того, в 2023 г. в Республике Дагестан зарегистрировано три групповых случая заболевания людей бруцеллезом (всего заболело 16 человек). Все групповые случаи «семейные» и были связаны с употреблением в пищу молочной продукции и мяса от КРС и МРС из ЛПХ. Бруцеллез в республике наиболее часто регистрировался среди населения, проживающего на территориях, расположенных в зоне развитого скотоводства, в том числе отгонного, где преимущественно расположены горно-луговые пастбища. Можно с большой долей вероятности считать эти административные территории республики энзоотичными по бруцеллезу, на которых локализуются активные антропоургические эпизоотические очаги инфекции, преимущественно в индивидуальном секторе животноводства.

Таким образом, неблагоприятная эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу в Республике Дагестан обусловлена возникновением эпизоотических очагов бруцеллеза среди КРС и в меньшей степени МРС в ЛПХ населения. Основные эпидемиологические риски по бруцеллезу обусловлены контактом людей с больным скотом и его выделениями при обслуживании, кормлении, участии в забое и разделке туш. Также инфицирование жителей Дагестана возбудителем бруцеллеза происходит при употреблении в пищу сырого молока и необеззараженных молочных продуктов, контаминированных бруцеллами.

Эпидемиологическая обстановка по бруцеллезу в *Ставропольском крае* характеризуется как неустойчивая, тренд убывающий. В последние два года можно отметить стабилизацию заболеваемости на уровне среднесрочных значений. За последнее десятилетие в крае выявлено 672 случая заболевания (ИП – 2,42). В 60–80 % случаев источником бруцеллезной инфекции для людей был КРС. В 2023 г. в крае выявлен 81 случай (ИП – 2,80), что сопоставимо с СМП (82 сл.). Случаи бруцеллеза регистрировали в течение всего года, но наиболее часто весной и летом (67,9 %). В структуре заболевших бруцеллезом лица из группы профессионального риска составили 29,6 % (24 сл.), доля городского населения – 28,4 % (23 сл.). Основным источником возбудителя бруцеллеза для людей, как и в предыдущие годы, был КРС (более 90 %). В 61,1 % случаев установлен пищевой путь передачи возбудителя, реже контактный (38,9 %). Факторы передачи инфекции (из установленных): продукты животноводства (63,9 %), естественные выведения и абортрованные плоды от больных животных (36,1 %).

Таким образом, эпидситуация по бруцеллезу в Ставропольском крае характеризуется как неустойчивая, тренд за 10 лет – убывающий. Основные эпидемиологические риски по бруцеллезу в крае связаны с длительным эпизоотическим неблагополучием по бруцеллезу хозяйств КРС индивидуального сектора, также высокие риски могут быть обусловлены употреблением населением продукции животноводства (фактор передачи до 75–80 % случаев бруцеллеза), приобретенной в местах неорганизованной торговли и с рук (от частных, имеющих ЛПХ). Кроме того, периодически выявляются случаи завоза больного бруцеллезом скота и продуктов, контаминированных бруцеллами, из энзоотичных по бруцеллезу территорий республик Северного Кавказа (Дагестан, Карачаево-Черкесия, Кабардино-Балкария) и Республики Калмыкия. Бруцеллез в Ставропольском крае наиболее часто регистрировался у населения, проживающего на территориях, имеющих общую границу с энзоотичными по бруцеллезу территориями Дагестана и Калмыкии.

Вместе с тем в 2023 г. бруцеллез у людей в субъектах СКФО регистрировался в Карачаево-Черкесской Республике – 6 случаев (ИП – 1,28), Чеченской Республике – 5 (0,33), Республике Ингушетия – 3 (0,58), Республике Северная Осетия – Алания – 2 (0,29), Кабардино-Балкарской Республике – 1 (0,11).

Эпидемиологическая обстановка по бруцеллезу на территории *ЮФО* за последние 10 лет неустойчивая. Согласно СМП ежегодно в округе регистрировалось около 50 случаев впервые выявленного бруцеллеза (ИП – 0,30). Тенденции к снижению заболеваемости не наблюдается. Всего установлено 427 случаев бруцеллеза (12,4 % от общего количества заболевших бруцеллезом в России за последние 10 лет), в том числе 20 случаев среди детей до 17 лет (ИП – 0,23). В 2023 г. в округе зарегистрировано 66 человек, заболевших бруцеллезом, что на 32 % выше среднесрочных значений (50 сл.).

Наибольшее количество заболевших бруцеллезом в округе регистрировали среди населения *Республики Калмыкия*. За последние 10 лет было выявлено 242 заболевших (56,7 % от общего количества заболевших бруцеллезом в ЮФО за последние 10 лет). Согласно СМП ежегодно в Калмыкии регистрировалось в среднем 28 случаев бруцеллеза среди людей (ИП – 10,2). В 2023 г. подтверждено 30 случаев впервые выявленного бруцеллеза (ИП – 11,2), что сопоставимо с СМП. Заболевших бруцеллезом в республике выявляли в течение календарного года (кроме января), но чаще – с мая по июль (52 %) и в сентябре (23,3 %). Поздневесенне-летняя сезонность характерна для случаев заболевания бруцеллезом людей, участвующих в сакманах и других мероприятиях, связанных с окотом овец и коз (в очагах бруцеллеза МРС). Чаще всего (в 70 % случаев) люди заражались бруцеллезом от МРС, реже – от КРС (26,6 %). В большинстве случаев (73,3 %) передача бруцеллезной инфекции происходила контакт-

ным путем (при контактах с выделениями больных животных).

Вызывает озабоченность возникновение в 2023 г. вспышки бруцеллеза в благополучной по этой инфекции *Республике Крым* (14 сл., ИП – 0,74). На территории Крыма выявлено несколько эпизоотических очагов бруцеллеза КРС. Эпизоотии были связаны с нелегальным завозом больного бруцеллезом скота. Среди заболевших 35,7 % составляет профессиональный контингент (работники предприятий по переработке животного сырья, зооветеринарные специалисты), а также индивидуальные владельцы животных. Предположительно, завоз больного бруцеллезом скота на территорию Крыма был осуществлен из Калмыкии (по данным геномного анализа выделенных штаммов бруцелл).

Также в ЮФО в 2023 г. бруцеллез регистрировали в Волгоградской области (11 сл., ИП – 0,45), Астраханской области (3 сл., 0,30), Краснодарском крае (3 сл., 0,05), Ростовской области (2 сл., 0,05) и Республике Адыгея (2 сл., 0,43).

Таким образом, на территории ЮФО за последние 10 лет продолжает сохраняться неустойчивая эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу без выраженного тренда на снижение заболеваемости. Напряженная ситуация обусловлена, преимущественно, наличием антропоургических эпизоотических очагов на территории Республики Калмыкия. Кроме того, в последние годы наблюдается сохранение СМП заболеваемости бруцеллезом в Волгоградской области. Бруцеллез в округе регистрируется среди индивидуальных владельцев животных, лиц, занятых в сфере животноводства, в том числе среди профессионального контингента.

В последние годы на территориях ряда субъектов *Приволжского федерального округа (ПФО)* эпидемиологическая ситуация по бруцеллезу неустойчивая, регистрируются спорадическая заболеваемость и групповые эпидемические вспышки. За последнее десятилетие в ПФО установлен 231 случай бруцеллеза у людей (ИП – 0,09), из которых более половины заболевших (58,8 %) зарегистрировано в Пензенской области (136 сл., 1,14). В 2023 г. в ПФО подтверждено 52 случая (0,19), что более чем в 2 раза выше СМП (26 сл.).

В 2023 г. в *Пензенской области* подтверждено 33 случая бруцеллеза среди людей (ИП – 2,27), что более чем в 2 раза выше СМП (15 сл.). Среди заболевших 28 человек – ветеринарные врачи и другие работники молочно-товарного комплекса. Предприятие, на котором выявлен групповой случай бруцеллеза, принадлежит крупному холдингу по производству молока КРС, где в 2021–2022 гг. выявлена эпизоотия бруцеллеза среди КРС. Кроме того, в 2023 г. в Пензенской области бруцеллез у людей (4 сл.) выявляли среди индивидуальных владельцев животных и работников (ЛПХ, ИП), где регистрировали эпизоотические очаги бруцеллеза КРС.

Территория *Республики Татарстан* относится к относительно благополучным по бруцеллезу. В период 2013–2022 гг. в республике не выявлялись эпизоотические очаги инфекции. Вместе с тем в этот период регистрировалась спорадическая заболеваемость бруцеллезом среди людей: в 2013 г. (3 сл.), 2014 г. (2), 2016 г. (1), 2019 г. (1), 2021 г. (2), 2022 г. (2), что может быть связано с наличием скрытых (невыявленных) эпизоотических очагов бруцеллеза на территории Татарстана. Также нельзя исключать инфицирование возбудителем бруцеллеза на неблагополучных по бруцеллезу территориях ПФО и Российской Федерации.

В 2023 г. на территории Республики Татарстан зарегистрировано 10 случаев заболевания людей бруцеллезом, в том числе 4 случая среди работников крестьянского (фермерского) хозяйства (КФХ) (очаг бруцеллеза КРС), 4 случая – среди персонала крупного молочного комплекса и 2 – у работников (забойщик, разнорабочий) убойной площадки. Все случаи заболевания людей обусловлены непосредственными контактами с больным бруцеллезом КРС, биоматериалом и продуктами убоя от больного поголовья.

Кроме того, в 2023 г. в ПФО заболевших бруцеллезом людей выявляли в Самарской (5 сл., ИП – 0,16), Саратовской (2 сл., 0,08), Оренбургской (1 сл., 0,05), Ульяновской (1 сл., 0,05) областях.

На территории *Сибирского федерального округа (СФО)* в последнее десятилетие отмечается неустойчивая эпидемиологическая ситуация с тенденцией к снижению заболеваемости (до 2023 г.). Всего за последние 10 лет зарегистрировано 189 случаев (ИП – 0,1). В 2023 г. в округе установлено 50 случаев заболевания людей бруцеллезом (ИП – 0,3), что более чем в 2 раза выше СМП (22 сл.).

Наибольшее количество заболевших выявлено на территории *Республики Тыва* – 17 случаев (ИП – 5,13), в том числе 3 случая среди несовершеннолетних (2,43), что в 2 раза выше СМП (8,5). Среди заболевших преобладали индивидуальные владельцы животных (70,6 %), также зарегистрированы случаи заболевания бруцеллезом среди профессионального контингента (11,7 %, зооветеринарные работники). В большинстве случаев люди заражались возбудителем бруцеллеза в результате контакта (70,6 %) с больным поголовьем КРС (64,7 %), реже (35,7 %) после употребления в пищу молочных продуктов, полученных от больных животных.

Кроме того, в 2023 г. в *Новосибирской области* отмечено увеличение относительно СМП (3,5 сл., ИП – 0,13) количества заболевших бруцеллезом. Всего в области выявлено 12 случаев (ИП – 0,43). В структуре заболевших 33,3 % составляет профессиональный контингент (зооветеринарные работники), 50 % – индивидуальные владельцы животных. В июле – августе в области зарегистрирован групповой случай бруцеллеза (5 человек), заболевание людей было связано с употреблением в пищу молочной продукции, полученной от больного поголовья КРС в ЛПХ.

Возникновение эпизоотических очагов КРС в Алтайском крае стало причиной заболевания бруцеллезом 11 человек, из которых 8 заболевших (72,7 %) – работники предприятий по переработке животного сырья и зооветеринарные работники. В большинстве случаев (90,9 %) инфицирование людей возбудителем бруцеллеза произошло в результате контакта с больными животными (с естественными выделениями больного скота).

Кроме того, в 2023 г. в СФО заболевших бруцеллезом людей выявляли в Омской области (9 сл., ИП – 0,48) и Красноярском крае (1 сл., 0,04).

В последние годы на территории ряда субъектов **Центрального федерального округа (ЦФО)** отмечается неустойчивая эпидемиологическая ситуация, регистрируется завоз (занос) инфекции, спорадическая заболеваемость и групповые вспышки, в том числе на территориях, относительно благополучных по бруцеллезу. Всего за последние 10 лет среди населения округа зарегистрировано 172 случая бруцеллеза (ИП – 0,04). В 2023 г. выявлено 45 случаев (0,11), что более чем в 2 раза превышает данные СМП (20 сл.).

Основное количество заболевших в округе выявлено в Смоленской и Брянской областях (75,5 % от общего количества случаев бруцеллеза в 2023 г.).

На территории *Смоленской области* в 2022–2023 гг. сложилась неблагоприятная ситуация по бруцеллезу, связанная с завозом и дальнейшим быстрым распространением инфекции среди КРС, возникновением групповых вспышек бруцеллеза среди работников подразделений крупных животноводческих комплексов и случаями заболевания среди индивидуальных владельцев животных (эпизоотические очаги в ЛПХ). В 2023 г. в области выявлен 21 заболевший (ИП – 2,29), что в 7 раз превышает значение СМП за 10 лет (3 сл.). Среди заболевших основное количество (20 человек, 95,2 %) составляет профессиональный контингент – работники животноводческих ферм, принадлежащих одному крупнейшему агрохолдингу ЦФО, где с 2022 г. регистрируются случаи заболевания поголовья КРС бруцеллезом. Заболевания людей связаны с контактами с больным скотом при уходе за ним при несоблюдении мер профилактики. Широкое распространение бруцеллеза среди ферм предприятия связано с несвоевременной изоляцией и ликвидацией больного поголовья.

Брянская область до 2022 г. (за последние 10 лет) была благополучна по бруцеллезу, случаи заболевания людей и животных не регистрировались. В 2022 г. в области был выявлен один неблагоприятный пункт по бруцеллезу КРС в ЛПХ (завоз больного скота), при этом случаев заболевания людей не было. В 2023 г. на территории области отмечалось существенное ухудшение эпизоотологической ситуации, с января по ноябрь выявлено 13 эпизоотических очагов бруцеллеза (КРС – 12, МРС – 1), в том числе 5 очагов бруцеллеза КРС на фермах животноводческого предприятия. Очаги бруцеллеза регистрировали на 8 административных территориях области.

При обследовании контактных лиц выявлено 13 случаев заболевания людей бруцеллезом, в том числе 11 (групповая вспышка) среди работников ферм (9 человек, ветеринар, операторы-животноводы, тракторист-машинист) и ветсанутилизационного завода (2 человека, оператор, слесарь) указанного животноводческого предприятия. Также двое заболевших – работники ЛПХ.

На базе Референс-центра по мониторингу за возбудителем бруцеллеза (ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора) проведено углубленное молекулярно-генетическое исследование культур бруцелл, выделенных из патологического материала от КРС из эпизоотических очагов в ЛПХ и на ферме агрохолдинга Брянской области. По результатам анализа установлена клональная филогенетическая связь исследуемых изолятов бруцелл со штаммами, вызвавшими вспышку бруцеллеза на фермах смоленского подразделения агрохолдинга в 2022 г. В свою очередь, установлено, что культуры бруцелл, выделенные из эпизоотических очагов в Смоленской области, имеют близкую генетическую связь со штаммом *Brucella abortus*, изолированным в 2021 г. из очага в Пензенской области. Полученные результаты свидетельствуют о наличии эпидемиологической связи между этими очагами бруцеллеза.

Кроме того, в 2023 г. единичные случаи заболевания людей бруцеллезом в ЦФО выявлены в Московской (3 сл., ИП – 0,02), Ярославской (2 сл., 0,16), Ивановской (1 сл., 0,1), Тамбовской (1 сл., 0,1), Курской (1 сл., 0,09), Тульской (1 сл., 0,07) областях и г. Москве (2 сл., 0,02).

Вместе с тем в 2023 г. спорадическая заболеваемость бруцеллезом регистрировалась на территории других федеральных округов: в **Северо-Западном федеральном округе (СЗФО)** (7 сл., ИП – 0,05): в г. Санкт-Петербурге (4 сл., 0,07), Ленинградской области (2 сл., 0,11) и Республике Коми (1 сл., 0,12); в **Дальневосточном федеральном округе (ДФО)** (4 сл., 0,05): в Республике Бурятия (2 сл., 0,2), Забайкальском крае (1 сл., 0,19), Амурской области (1 сл., 0,13); в **Уральском федеральном округе (УФО)** (2 сл., 0,02): в Тюменской области (1 сл., 0,06) и Ханты-Мансийском автономном округе (1 сл., 0,06).

В последние 20 лет, по данным Россельхознадзора, в России отмечается стойкое эпизоотическое неблагополучие по бруцеллезу КРС и МРС, более 90 % вспышек бруцеллеза среди животных регистрируется в индивидуальном секторе животноводства (КФХ, ЛПХ, ИП). Тренды неблагополучия по бруцеллезу КРС и МРС – возрастающие. В период с 2013 по 2022 г. в Российской Федерации было зарегистрировано 4345 неблагоприятных пунктов (н.п.) по бруцеллезу КРС, в которых выявлено 90 339 гол. больных животных, и 379 н.п. по бруцеллезу МРС, в них выявлено 13 760 гол. больных животных.

За 9 месяцев 2023 г. в России выявлен 241 н.п. по бруцеллезу животных, что на 6,1 % выше данных за аналогичный период предыдущего года

(227 н.п.). За указанный период 2023 г. установлено 197 н.п. по бруцеллезу КРС, что ниже на 41,2 % в сравнении со среднемноголетними значениями (335 н.п.). Вместе с тем зарегистрировано 44 н.п. по бруцеллезу МРС, что на 37,5 % выше СМП (32 н.п.). По данным Россельхознадзора, за 9 месяцев 2023 г. эпизоотологические пороги по заболеваемости бруцеллезом среди КРС и неблагополучию территории России по бруцеллезу МРС были преодолены (рис. 3, 4).

Наибольшее количество неблагополучных пунктов по бруцеллезу КРС в Российской Федерации регистрировали на длительно неблагополучных по бруцеллезу территориях. Так, в СКФО выявлено 113 н.п., 2024 гол. (57,4 % – от общего количества н.п. по бруцеллезу КРС в России). Вспышки бруцеллеза среди поголовья КРС в округе выявлены в Республике Дагестан – 43 н.п. (1077 гол.), Чеченской Республике – 23 н.п. (73 гол.), Кабардино-Балкарской Республике – 19 н.п. (117 гол.), Ставропольском крае – 13 н.п. (509 гол.), Республике Северная Осетия – Алания – 8 н.п. (230 гол.), Карачаево-Черкесской Республике – 7 н.п. (18 гол.).

Необходимо отметить, что в Республике Дагестан и Чеченской Республике в сравнении с аналогичным периодом прошлого года отмечается увеличение количества выявленных неблагополучных пунктов по бруцеллезу КРС на 86,9 и 53,3 % соответственно.

Также за 9 месяцев 2023 г. эпизоотические очаги бруцеллеза КРС зарегистрированы на административных территориях ЮФО. Всего в округе уста-

новлено 44 н.п. (22,2 % – от общего количества н.п. по бруцеллезу КРС в России), в которых заболело бруцеллезом 1799 гол. скота. Бруцеллез среди КРС в ЮФО выявляли в Астраханской области (9 н.п., 595 гол.), Краснодарском крае (7 н.п., 364 гол.), Волгоградской области (6 н.п., 481 гол.), Ростовской области (6 н.п., 184 гол.), а также в республиках Калмыкия (6 н.п., 40 гол.), Крым (5 н.п., 77 гол.), Адыгея (5 н.п., 58 гол.).

Ухудшение эпизоотологической обстановки в 2023 г. отмечено на территориях ЦФО. За январь – сентябрь выявлено 16 н.п., что на 77,7 % превышает данные за аналогичный период предыдущего года (9 н.п.). Вместе с тем за 9 месяцев 2023 г. в эпизоотических очагах выявлено 18 151 гол. заболевшего бруцеллезом скота, что в 7 раз превышает данные ЦФО и в 2 раза выше общероссийских значений относительно аналогичного периода предыдущего года. Большое количество заболевшего КРС связано с возникновением вспышек бруцеллеза на фермах крупнейшего в России агрохолдинга, расположенного в Смоленской (2 н.п., 17 807 гол.) и Брянской (5 н.п., 253 гол.) областях. На территории указанных областей отмечаются признаки укоренения инфекции и относительно быстрого распространения бруцеллеза среди КРС в хозяйствах общественного и индивидуального секторов. Кроме того, неблагополучие по бруцеллезу КРС в ЦФО зарегистрировано в Тульской (3 н.п., 78 гол.), Тамбовской (3 н.п., 6 гол.), Калужской (2 н.п., 5 гол.), Курской (1 н.п., 1 гол.) и Ивановской (1 гол.) областях.

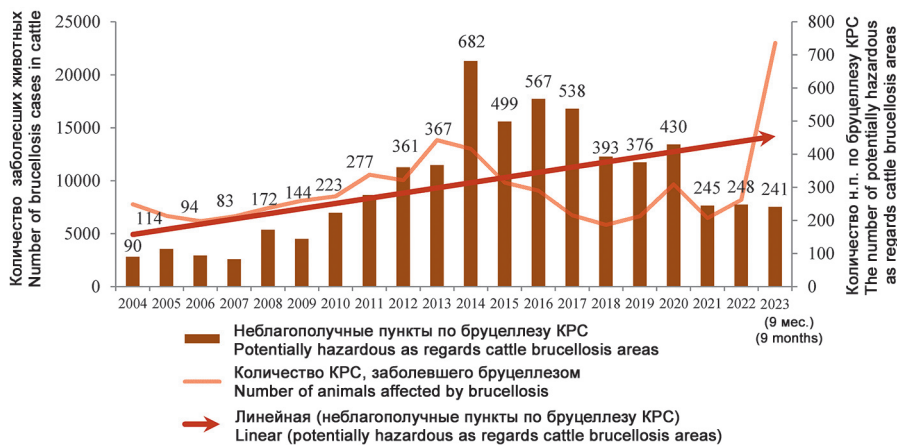


Рис. 3. Динамика регистрации количества заболевшего бруцеллезом КРС и первичных неблагополучных пунктов по бруцеллезу КРС в 2004–2023 (9 мес.) гг.

Fig. 3. Dynamics of registration of brucellosis incidence in cattle and primary potentially hazardous areas as regards brucellosis in cattle in 2004–2023 (9 months)

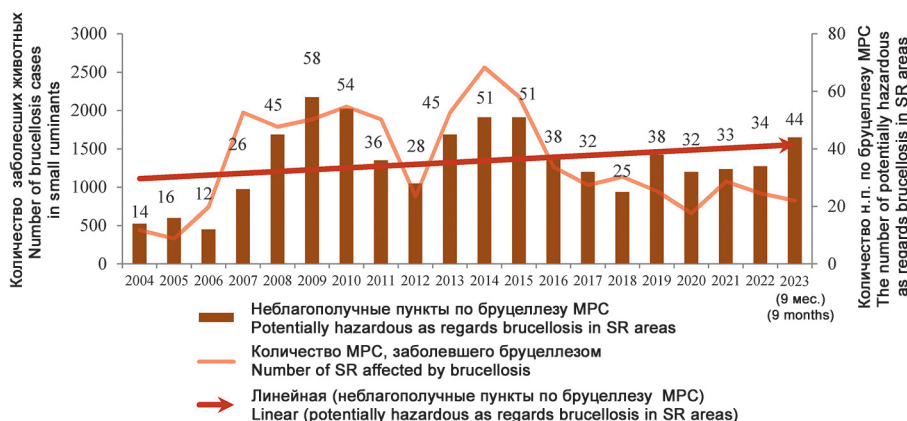


Рис. 4. Динамика регистрации количества заболевшего бруцеллезом МРС и первичных неблагополучных пунктов по бруцеллезу МРС в 2004–2023 (9 мес.) гг.

Fig. 4. Dynamics of registration of brucellosis cases in small ruminants (SR) and primary potentially hazardous areas as regards brucellosis in SR areas in 2004–2023 (9 months)

Сохранение в 2023 г. напряженности эпизоотической ситуации по бруцеллезу КРС отмечается и на территориях ПФО. Всего за 9 месяцев 2023 г. установлено 8 н.п., где выявлено 409 гол. больного бруцеллезом скота. Бруцеллез КРС регистрировали в Пензенской (2 н.п., 8 гол.), Самарской (2 н.п., 106 гол.), Саратовской (1 н.п., 123 гол.), Оренбургской (1 н.п., 12 гол.) областях, а также в республиках Татарстан (1 н.п., 148 гол.) и Мордовия (1 н.п., 12 гол.).

Эпизоотические вспышки бруцеллеза КРС выявлены в СФО (7 н.п., 137 гол.) на территориях Республики Тыва (3 н.п., 33 гол.), Новосибирской области (2 н.п., 84 гол.), Республики Хакасия (1 н.п., 16 гол.) и Алтайского края (1 н.п., 4 гол.); в ДФО (6 н.п., 476 гол.) на территориях Забайкальского края (4 н.п., 229 гол.), Республики Бурятия (1 н.п., 63 гол.), Приморского края (1 н.п., 1 гол.), Амурской области (183 гол.). Кроме того, в Республике Саха (Якутия) выявлена крупная вспышка бруцеллеза среди собак в питомнике для бездомных животных (г. Якутск), всего заболело более 500 животных, также бруцеллез в республике выявлялся среди северных оленей. Также бруцеллез КРС выявлен в УФО в Свердловской области (1 н.п., 12 гол.).

В январе – сентябре 2023 г. в Российской Федерации вспышки бруцеллеза среди поголовья МРС в хозяйствах различных форм собственности преимущественно регистрировались на территории СКФО, где было выявлено 13 н.п. (29,5 % от общего количества н.п. по бруцеллезу МРС в России), что на 85,7 % выше в сравнении с аналогичным периодом 2022 г. (7 н.п.). В эпизоотических очагах бруцеллеза МРС в округе установлено 373 гол. заболевших бруцеллезом овец и коз. Наибольшее количество эпизоотических очагов бруцеллеза МРС выявлено в Республике Дагестан (11 н.п., 371 гол.), что более чем в 2 раза выше в сравнении с предыдущим годом (5 н.п., 144 гол.). Также по одному неблагополучному пункту по бруцеллезу МРС в округе зарегистрировано в Ставропольском крае (1 гол.) и Карачаево-Черкесской Республике (1 гол.).

Существенное ухудшение эпизоотической ситуации по бруцеллезу МРС отмечено на территории СФО. Всего в округе установлено 11 н.п. (25,0 % от общего количества н.п. по бруцеллезу МРС в России), что более чем в 3 раза выше значений предыдущего года (3 н.п.), в очагах выявлено 114 гол. больных бруцеллезом овец и коз. Вспышки бруцеллеза среди МРС в СФО подтверждены в Новосибирской области (6 н.п., 56 гол.), республиках Хакасия (4 н.п., 20 гол.) и Тыва (1 н.п., 38 гол.).

Кроме того, за III квартал 2023 г. эпизоотические очаги бруцеллеза среди овец и коз выявлены в ЮФО (5 н.п., 139 гол.): в Республике Адыгея (2 н.п., 67 гол.), Астраханской области (1 н.п., 25 гол.), Краснодарском крае (1 н.п., 19 гол.), Республике Калмыкия (1 н.п., 13 гол.) и Ростовской области (15 гол.). Также больной бруцеллезом МРС реги-

стрировали в ЦФО (Курская область – 2 н.п., 71 гол., Брянская – 1 гол.), ПФО (Пензенская область – 1 н.п., 68 гол., Оренбургская – 2 гол.), СЗФО (Республика Коми – 1 н.п., 56 гол.), УФО (Свердловская область – 1 н.п., 1 гол.) и ДФО (Забайкальский край – 1 гол.).

Таким образом, в Российской Федерации в последние 10 лет отмечается неустойчивая эпизоотологическая ситуация на фоне сохраняющегося эпизоотологического неблагополучия по бруцеллезу среди сельскохозяйственных животных (КРС и МРС) в регионах интенсивного скотоводства. Всего за период 2014–2023 гг. было выявлено 3537 случаев впервые выявленного бруцеллеза (ИП – 0,24).

В 2022–2023 гг. можно отметить наметившуюся тенденцию к увеличению заболеваемости людей бруцеллезом на 30–50 % относительно среднепогодных значений, связанную с возникновением завозных эпизоотий КРС, в том числе на крупных животноводческих предприятиях, формированием групповых эпидемических очагов на ранее относительно благополучных по бруцеллезу территориях ЦФО, ПФО и ЮФО и ухудшением эпизоотической ситуации по бруцеллезу в Республике Дагестан, ряде субъектов СФО. Кроме того, отмечается ухудшение эпизоотологической ситуации по бруцеллезу МРС (увеличение количества неблагополучных пунктов по бруцеллезу МРС на 37,5 % относительно СМП).

Вызывает обеспокоенность ухудшение эпизоотологической эпизоотологической ситуации по бруцеллезу в Республике Дагестан, где на протяжении последних десяти лет бруцеллез регистрировался на территории 40 административных районов (практически повсеместно). Очевидно, что на территории Дагестана локализованы активные антропоургические эпизоотические очаги инфекции, преимущественно в индивидуальном секторе животноводства. Ухудшению эпизоотологической ситуации в Республике Дагестан также способствует низкая культура ведения животноводства, незаинтересованность владельцев животных в проведении профилактических противобруцеллезных мероприятий, что существенно осложняет и снижает эффективность ветеринарного контроля за бруцеллезом. Кроме того, наличие на территории республики объектов кустарного производства мясо-молочных продуктов с нарушением требований, установленных законодательством в области ветеринарии и СанПиН, и нелегальная реализация такой продукции населению способствуют сохранению эпизоотологического неблагополучия по бруцеллезу.

Требует повышенного внимания ситуация по бруцеллезу, сложившаяся в Смоленской и Брянской областях, где отмечаются признаки укоренения (энзоотичности) и дальнейшего распространения в 2023 г. бруцеллеза среди КРС, на что указывает возникновение вторичных эпизоотических очагов в крупных хозяйствах общественного сектора, в том

числе племенных сельхозпредприятий, и вспышек бруцеллеза в КФХ, ЛПХ.

Вместе с тем в 2023 г. отмечается увеличение относительно среднемноголетних значений количества случаев заболевания людей бруцеллезом, возникновения групповых вспышек (в том числе среди профессионального контингента) на территориях СФО (Республика Тыва, Новосибирская область, Алтайский край), что в основном связано с ухудшением эпизоотической ситуации по бруцеллезу КРС и МРС.

Возникновение эпизоотий бруцеллеза в 2023 г. на территории Республики Татарстан, вероятнее всего, связано с завозом больного скота из неблагополучных территорий ПФО и Российской Федерации. В последние годы на территории ряда субъектов ПФО (Пензенская, Самарская, Саратовская области) отмечается ухудшение эпизоотической ситуации по бруцеллезу, регистрируются групповые эпидемические вспышки (Пензенская, Самарская области).

Динамика развития эпизоотической ситуации по бруцеллезу в Российской Федерации во многом будет определяться активностью (масштабностью) эпизоотического процесса на неблагополучных по бруцеллезу территориях СКФО, ЮФО, ПФО и СФО (в хозяйствах индивидуального сектора). Однако в последние годы наблюдается тенденция к увеличению числа эпизоотических вспышек бруцеллеза среди поголовья КРС на крупных животноводческих комплексах по производству молока и говядины (Ставропольский край, Пензенская, Смоленская, Брянская области, Республика Татарстан).

С целью снижения эпизоотических рисков по бруцеллезу на территории большинства неблагополучных по бруцеллезу субъектов Российской Федерации утверждены (введены в действие) комплексные межведомственные планы по профилактике бруцеллеза (или в комплексе с другими нозологиями). При этом вызывает озабоченность, что в ряде субъектов, неблагополучных по бруцеллезу (республики Калмыкия, Ингушетия, Северная Осетия – Алания и Чеченская Республика) комплексные планы не разработаны или не введены в действие. Кроме того, в субъектах, где sporadически регистрируется заболеваемость бруцеллезом (республики Тыва, Татарстан, Башкортостан), а также в Республике Калмыкия в 2024 г. планируется утвердить и ввести в действие комплексные планы.

Стабилизирующее влияние на эпизоотическую ситуацию по бруцеллезу в Российской Федерации может оказать исполнение на местах Ветеринарных правил маркирования и учета животных (приказ Минсельхоза России от 03.11.2023 № 832). Маркирование и учет животных будут способствовать снижению рисков выноса инфекции из первичных эпизоотических очагов и возникновения рецидивов эпизоотий, а также более эффективному выявлению источников и путей распространения возбудителя.

С учетом особенностей эпизоотологической и эпидемиологической обстановки по бруцеллезу в 2024 г. можно прогнозировать уровень заболеваемости на 35–40 % выше среднемноголетних значений. Количество заболеваний людей бруцеллезом в Российской Федерации может находиться в диапазоне 480–530 случаев (ИП – 0,32–0,36).

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. European Food Safety Authority (EFSA); European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA J.* 2023; 21(12):e8442. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8442.
2. Пономаренко Д.Г., Скударева О.Н., Хачатурова А.А., Лукашевич Д.Е., Жаринова И.В., Даурова А.В., Германова А.Н., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Манин Е.А., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Бруцеллез: тенденции развития ситуации в мире и прогноз на 2022 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 2:36–45. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-36-45.
3. Samadi A., Amiri M., Hailat N. The reasons behind long-term endemicity of brucellosis in low and middle-income countries: challenges and future perspectives. *Curr. Microbiol.* 2024; 81(3):82. DOI: 10.1007/s00284-023-03605-5.
4. Montaseri Z., Mohebi Z., Masoumi R., Dehghan A., Bijani M. A study of rural populations' knowledge, attitude, and practice about brucellosis: a descriptive, cross-sectional, multicenter study. *BMC Res. Notes.* 2024; 17(1):34. DOI: 10.1186/s13104-024-06691-1.
5. Liu Z., Gao L., Wang M., Yuan M., Li Z. Long ignored but making a comeback: a worldwide epidemiological evolution of human brucellosis. *Emerg. Microbes Infect.* 2024; 13(1):2290839. DOI: 10.1080/22221751.2023.2290839.
6. Онищенко Г.Г., Куличенко А.Н., редакторы. Бруцеллез. Современное состояние проблемы. Изд. 2-е, доп. Н. Новгород: Союзполиграф: Кириллица; 2021. 356 с.
7. Ma R., Li C., Gao A., Jiang N., Feng X., Li J., Hu W. Evidence-practice gap analysis in the role of tick in brucellosis transmission: a scoping review. *Infect. Dis. Poverty.* 2024; 13(1):3. DOI: 10.1186/s40249-023-01170-4.
8. Meletis E., Sakhaee E., Kostoulas P. Bayesian true prevalence estimation of brucellosis in sheep, goats, cattle and camels in southeast regions of Iran. *Zoonoses Public Health.* 2024; 71(2):170–7. DOI: 10.1111/zph.13095.
9. Moslehi S., Jahangiry L., Narimani S., Maleki A., Zarehoseinzade E., Shaker H. Risk perception and preventive behaviors related to brucellosis among Iranian livestock farmers. *Health Sci. Rep.* 2023; 6(12):e1763. DOI: 10.1002/hsr2.1763.
10. Fedaa Alwehda: Brucellosis – Syria: (HM) people, number of cases. [Электронный ресурс]. URL: <https://fedaa.alwehda.gov.sy/?p=78105>.
11. Get personalized advice on vaccines and travel (2023): Human cases of brucellosis in Israel. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.mesvaccins.net/web/news/20610-cas-humains-de-brucellose-en-israel>.
12. Khabar management: Medea: The emergence of brucellosis in Sedaria. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.elkhabar.com/press/article/228310>.
13. Outbreak News Today: Tunisia: Brucellosis in Teboursouk, Beja Governorate. [Электронный ресурс]. URL: <https://outbreaknewstoday.com/tunisia-brucellosis-in-teboursouk-beja-governorate-31536/>.
14. El Watan-dz. Tizi Ouzou: Six cases of human brucellosis in Bouzeguène. [Электронный ресурс]. URL: <https://elwatan-dz.com/tizi-ouzou-six-cas-de-brucellose-humaine-a-bouzeguene>.
15. El Watan-dz. Bejaia: Caprine brucellosis alert. [Электронный ресурс]. URL: <https://elwatan-dz.com/bejaia-alerte-a-la-brucellose-caprine>.
16. Spa Oran-presse: La lutte contre la brucellose mobilise. [Электронный ресурс]. URL: https://www.lequotidien-oran.com/index.php?news=5321424&archive_date=2023-05-28.
17. El Watan-dz. Bouira: More than 60 cases of human brucellosis recorded. [Электронный ресурс]. URL: <https://elwatan-dz.com/bouira-plus-de-60-cas-de-brucellose-humaine-enregistres>.

18. Kolo F.B., Adesiyun A.A., Fasina F.O., Harris B.N., Rossouw J., Byaruhanga C., Geyer H.W., Blumberg L., Freaun J., van Heerden H. Brucellosis seropositivity using three serological tests and associated risk factors in abattoir workers in Gauteng Province, South Africa. *Pathogens*. 2024; 13(1):64. DOI: 10.3390/pathogens13010064.
19. Mazwi K.D., Kolo F.B., Jaja I.F., Byaruhanga C., Hassim A., van Heerden H. Polyphasic characterization of *Brucella* spp. in livestock slaughtered from abattoirs in Eastern Cape, South Africa. *Microorganisms*. 2024; 12(1):223. DOI: 10.3390/microorganisms12010223.
20. Marumo B., Hlokwé T.M., Kayoka-Kabongo P.N. Seroprevalence of brucellosis in communal and smallholder cattle farming in North West Province, South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2023; 90(1):e1-e8. DOI: 10.4102/ojvr.v90i1.2114.
21. Li L.M., Wang Q., Shi J.F., Li T., Zhao B., Ma Q.X., Liu H.Y., Su N., Cai R.P., Zeng F.L., Gong Q.L., Shi K., Li J.M., Liu F., Du R. Seroprevalence and potential risk factors of brucellosis in sheep from America, Africa and Asia regions: A systematic review and meta-analysis. *Res. Vet. Sci.* 2023; 165:105048. DOI: 10.1016/j.rvsc.2023.105048.
22. Sargsyan L., Davtyan K., Hann K., Gasparyan S., Davidyants V., Shekoyan V., Poghosyan G., Petrosyan D. Acute and chronic brucellosis eleven-year audit from a tertiary hospital in Armenia. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2019; 13(5.1):42S-50S. DOI: 10.3855/jidc.10934.
23. Rivas A.L., Smith S.D., Basiladze V., Chaligava T., Malania L., Burjanadze I., Chichinadze T., Suknidze N., Bolashvili N., Hoogesteijn A.L., Gilbertson K., Bertram J.H., Fair J.M., Webb C.T., Imnadze P., Kosoy M. Geo-temporal patterns to design cost-effective interventions for zoonotic diseases – the case of brucellosis in the country of Georgia. *Front. Vet. Sci.* 2023; 10:1270505. DOI: 10.3389/fvets.2023.1270505.
24. Arede M., Beltran-Alcrudo D., Aliyev J., Chaligava T., Keskin I., Markosyan T., Morozov D., Oste S., Pavlenko A., Ponea M., Starciuc N., Zdravkova A., Raizman E., Casal J., Allepuz A. Examination of critical factors influencing ruminant disease dynamics in the Black Sea Basin. *Front. Vet. Sci.* 2023; 10:1174560. DOI: 10.3389/fvets.2023.1174560.
25. Shevtsov A., Cloeckaert A., Berdimuratova K., Shevtsova E., Shustov A.V., Amirgazin A., Karibayev T., Kamalova D., Zygmunt M.S., Ramanculov Y., Vergnaud G. *Brucella abortus* in Kazakhstan, population structure and comparison with worldwide genetic diversity. *Front. Microbiol.* 2023; 14:1106994. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1106994.
26. Казыбаева Ж.С., Нурматов З.Ш. Эпидемическая и эпизоотическая ситуация по бруцеллезу в Кыргызской Республике. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:173–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-173-176.
27. Международное информационное агентство «Казинформ»: В Костанайской области растет число заболевших бруцеллезом. [Электронный ресурс]. URL: https://www.inform.kz/ru/v-kostanayskoj-oblasti-rastet-chislo-zabolevshih-brucellezom_a4084682.
28. InAktau.kz: Случаи бруцеллеза выявили в Мангистау. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.inaktauz.kz/news/3622527/sluciai-brucelleza-vyavili-v-mangistau>.
29. КазТАГ: 58 человек заболели бруцеллезом с начала года в области Жетысу. [Электронный ресурс]. URL: <https://kaztag.kz/ru/news/58-chelovek-zaboleli-brutsellezom-s-nachalagoda-v-oblasti-zhetysu>.
30. Azattyq Ryhy: Свыше 20 случаев бруцеллеза зафиксировали в ЗКО. [Электронный ресурс]. URL: <https://rus.azattyq-ryhy.kz/society/53117-svyshe-20-sluchaev-brutselleza-zafiksirovani-v-zko>.
31. Регистр ТВ Казахстан: Обстановка по бруцеллезу в Карагандинской области нестабильная. [Электронный ресурс]. URL: <https://regtv.kz/2023/08/02/ent-obstanovka-po-brucellezu-v-karagandi.html>.
32. International news agency “Kazinform”: Restrictions will be imposed on a village in Kostanay region where brucellosis was detected in cattle. [Электронный ресурс]. URL: https://kaz.inform.kz/news/iri-karadan-brucellez-anyktalgan-kostanay-oblysyndagya-ayylga-shekteu-engizilmek_a4103478/.
33. Ahuja V., Ward D., Rajabov R., McLeod A., Jackson R. Preferences of livestock owners for sharing the cost of brucellosis control in Tajikistan. *Res. Vet. Sci.* 2020; 130:103–9. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.02.015.
34. Lindahl-Rajala E., Hoffman T., Fretin D., Godfroid J., Sattorov N., Boqvist S., Lundkvist Å., Magnusson U. Detection and characterization of *Brucella* spp. in bovine milk in small-scale urban and peri-urban farming in Tajikistan. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(3):e0005367. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005367.
35. Курбонов К.М., Сагаров С.С., Симонова Е.Г., Филатов Н.Н. Современные эпизоотолого-эпидемиологические особенности бруцеллеза в Республике Таджикистан. *Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунологии*. 2016; 93(3):31–7.
36. Zhang M., Chen X., Bu Q., Tan B., Yang T., Qing L., Wang Y., Deng D. Spatiotemporal dynamics and influencing factors of human brucellosis in Mainland China from 2005–2021. *BMC Infect. Dis.* 2024; 24(1):76. DOI: 10.1186/s12879-023-08858-w.
37. Shi Q.N., Qin H.J., Lu Q.S., Li S., Tao Z.F., Fan M.G., Aishan M.H., Kou Z.Q., Chen Q.L., Yin W.W., Zhang Y.P. Incidence and warning signs for complications of human brucellosis: a multi-center observational study from China. *Infect. Dis. Poverty*. 2024; 13(1):18. DOI: 10.1186/s40249-024-01186-4.
38. MesVaccins. Taiwan: first case of sheep brucellosis in 30 years. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.mesvaccins.net/web/news/21494-taiwan-premier-cas-de-brucellos-ovine-depuis-30-ans>.
39. Nik Mazlan S.A., Abdul Hadi Sabri F.S., Mohamed Zahidi J., Seman Z., Ahmad N., Ramli S.R. Human brucellosis: Six years retrospective study on seropositivity in Malaysia. *Malays. J. Pathol.* 2022; 44(2):269–76.
40. Campbell J.I., Lan N.P.H., Phuong P.M., Chau L.B., Trung Pham Duc, Guzmán-Verri C., Ruiz-Villalobos N., Minh T.P.T., Muñoz Alvaro P.M., Moreno E., Thwaites G.E., Rabaa M.A., Chau N.V.V., Baker S. Human *Brucella meliitensis* infections in southern Vietnam. *Clin. Microbiol. Infect.* 2017; 23(11):788–90. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.06.028.
41. Lapphral K., Leelaporn A., Vanprapar N., Cheerskul P., Sawawiboon N., Wittawatmongkol O., Chokephaibulkit K. First case report of brucellosis in a child in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 2014; 45(4):890–6.
42. Kledmanee K., Liabsuetrakul T., Sretrirutchai S. Risk of adverse pregnancy outcomes and seroprevalence for brucellosis in pregnant women exposed to goats or raw goat products in southern Thailand: a prospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019; 19(1):118. DOI: 10.1186/s12884-019-2267-x.
43. Jaismon P.A., Sushmitha A.P., Verma M.R., Singh Y.P., Borthakur U., Kumar S., Sharun K., Dhama K. Prevalence of bovine brucellosis in India: a meta-analysis. *Vet. Q.* 2023; 43(1):1–9. DOI: 10.1080/01652176.2023.2228355.
44. Mohd G., Muthu G., Sankarraj S.S., Thyagarajan K., Ganesan S.T., Kalyanaraman S., Ponnaiah M., Chethrapilly Purushothaman G.K. Brucellosis among fever patients attending a primary health centre in rural South India. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2023; 17(11):1628–30. DOI: 10.3855/jidc.17692.
45. Jamil T., Khan A.U., Saqib M., Hussain M.H., Melzer F., Rehman A., Shabbir M.Z., Khan M.A., Ali S., Shahzad A., Khan I., Iqbal M., Ullah Q., Ahmad W., Mansoor M.K., Neubauer H., Schwarz S. Animal and human brucellosis in Pakistan. *Front. Public Health.* 2021; 9:660508. DOI: 10.3389/fpubh.2021.660508.
46. Zeeshan Akram M., Ullah Khan A., Shaikat Ali B., Shahid S., Batool A. Epidemiological surveillance of *Brucella* infection in humans, non-ruminants and wildlife from Pakistan perspective (2000–2020). *J. Hell. Vet. Medical Soc.* 2021; 72(3):3117–26. DOI: 10.12681/jhvms.28501.
47. Abedi F., Salguqie F., Alemzadeh E. Brucellosis in Herat province, Afghanistan: epidemiological status and risk factors. *Shiraz E-Med. J.* 2021; 23(4):e115810. DOI: 10.5812/semj.115810.
48. European Food Safety Authority (EFSA); European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. *EFSA J.* 2022; 20(12):e07666. DOI: 10.2903/j.efsa.2022.7666.
49. European Food Safety Authority (EFSA); European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA J.* 2023; 21(12):e8442. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8442.
50. ECDC. Surveillance Atlas of Infectious Diseases. Brucellosis. Confirmed cases. [Электронный ресурс]. URL: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=8>.
51. Пономаренко Д.Г., Хачагурова А.А., Ковалёв Д.А., Скударева О.Н., Лукашевич Д.Е., Жаринова И.В., Даурова А.В., Германова А.Н., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Кузнецова И.В., Шапаков Н.А., Бобрышева О.В., Писаренко С.В., Манин Е.А., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Анализ заболеваемости бруцеллезом и молекулярно-генетическая характеристика популяции бруцелл на территории Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:61–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-61-74.
52. Facciola A., Palamara M.A.R., D’Andrea G., Marano F., Magliarditi D., Puglisi G., Picerno I., Di Pietro A., Visalli G. Brucellosis is a public health problem in southern Italy: Burden and epidemiological trend of human and animal disease. *J. Infect. Public Health.* 2018; 11(6):861–6. DOI: 10.1016/j.jiph.2018.07.007.
53. News18: Rare Canine Disease *Brucella canis* Spreads from Dogs to Humans in UK; Three Cases Reported. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.news18.com/world/rare-canine-disease-brucella-canis-spreads-from-dogs-to-humans-in-uk-three-cases-reported-8588499.html>.
54. Jorge Ron-Roman, Lenin Ron-Garrido, Emmanuel Abatih, Maritza Celi-Erazo, Laura Vizcaino-Ordóñez, Jaime Calva-Pacheco, Pablo Gonzalez-Andrade, Dirk Berkvens, Washington Benitez-Ortiz, Jef Brandt, David Fretin, and Claude Saegerman. Human brucellosis

in northwest Ecuador: typifying *Brucella* spp., seroprevalence, and associated risk factors. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014; 14(2):124–33. DOI: 10.1089/vbz.2012.1191.

55. Periodico Correo: SSG warns about cheese contaminated with brucellosis; Guanajuato adds almost 100 cases of the disease. [Электронный ресурс]. URL: <https://periodicocorreo.com.mx/vida-publica/ssg-alerta-por-quesos-contaminados-con-brucelosis-guanajuato-suma-casi-100-casos-de-la-enfermedad-20230727-78481.html>.

56. Gobierno de Mexico: Situación actual del control de la brucelosis en México. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.gob.mx/senasica/documentos/situacion-actual-del-control-de-la-brucelosis-en-mexico>.

57. About F., Pastre T., Boutrou M., Martínez A.Y., Melzani A., Peugny S., Michaud C., Zouaoui S., Carage T., Rose V.S., Demar M., Lavigne J.P., Djossou F., O’Callaghan D., Epelboin L., Keriel A. Novel species of brucella causing human brucellosis, French Guiana. *Emerg. Infect. Dis.* 2023; 29(2):333–40. DOI: 10.3201/eid2902.220725.

58. Hernández-Mora G., Chacón-Díaz C., Moreira-Soto A., Barrantes-Granados O., Suárez-Esquivel M., Viquez-Ruiz E., Barquero-Calvo E., Ruiz-Villalobos N., Hidalgo-Montealegre D., González-Barrientos R., Demeter E.A., Estrella-Morales J., Zúñiga-Pereira A.M., Quesada-Gómez C., Chaves-Olarte E., Lomonte B., Guzmán-Verri C., Drexler J.F., Moreno E. Virulent *Brucella nosferati* infecting *Desmodus rotundus* has emerging potential due to the broad foraging range of its bat host for humans and wild and domestic animals. *mSphere.* 2023; 8(4):e0006123. DOI: 10.1128/msphere.00061-23.

59. Northern AG Network: Brucellosis confirmed in Wyoming cattle herd. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.northernag.net/brucellosis-confirmed-in-wyoming-cattle-herd/>.

60. Outbreak News Today: Wyoming: Brucellosis confirmed in 7 cattle in Sweetwater County. [Электронный ресурс]. URL: <https://outbreaknewstoday.com/wyoming-brucellosis-confirmed-in-7-cattle-in-sweetwater-county-99144/>.

References

1. European Food Safety Authority (EFSA); European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA J.* 2023; 21(12):e8442. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8442.

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

3. Samadi A., Amiri M., Hailat N. The reasons behind long-term endemicity of brucellosis in low and middle-income countries: challenges and future perspectives. *Curr. Microbiol.* 2024; 81(3):82. DOI: 10.1007/s00284-023-03605-5.

4. Montaseri Z., Mohebi Z., Masoumi R., Dehghan A., Bijani M. A study of rural populations’ knowledge, attitude, and practice about brucellosis: a descriptive, cross-sectional, multicenter study. *BMC Res. Notes.* 2024; 17(1):34. DOI: 10.1186/s13104-024-06691-1.

5. Liu Z., Gao L., Wang M., Yuan M., Li Z. Long ignored but making a comeback: a worldwide epidemiological evolution of human brucellosis. *Emerg. Microbes Infect.* 2024; 13(1):2290839. DOI: 10.1080/22221751.2023.2290839.

6. Onishchenko G.G., Kulichenko A.N., editors. [Brucellosis. Current State of the Problem]. 2nd edition updated and revised. Nizhny Novgorod; 2021. 356 p.

7. Ma R., Li C., Gao A., Jiang N., Feng X., Li J., Hu W. Evidence-practice gap analysis in the role of tick in brucellosis transmission: a scoping review. *Infect. Dis. Poverty.* 2024; 13(1):3. DOI: 10.1186/s40249-023-01170-4.

8. Meletis E., Sakhaee E., Kostoulas P. Bayesian true prevalence estimation of brucellosis in sheep, goats, cattle and camels in southeast regions of Iran. *Zoonoses Public Health.* 2024; 71(2):170–7. DOI: 10.1111/zph.13095.

9. Moslehi S., Jahangiry L., Narimani S., Maleki A., Zarehoseinzade E., Shaker H. Risk perception and preventive behaviors related to brucellosis among Iranian livestock farmers. *Health Sci. Rep.* 2023; 6(12):e1763. DOI: 10.1002/hsr2.1763.

10. Fedaa Alwehda: Brucellosis – Syria: (HM) people, number of cases. [Internet]. Available from: <https://fedaa.alwehda.gov.sy/?p=78105>.

11. Get personalized advice on vaccines and travel (2023): Human cases of brucellosis in Israel. [Internet]. Available from: <https://www.mesvaccins.net/web/news/20610-cas-humains-de-brucellose-en-israel>.

12. Khabar management: Medea: The emergence of brucellosis in Sedaria. [Internet]. Available from: <https://www.elkhabar.com/press/article/228310>.

13. Outbreak News Today: Tunisia: Brucellosis in Teboursouk, Beja Governorate. [Internet]. Available from: <https://outbreaknewstoday.com/tunisia-brucellosis-in-teboursouk-beja-governorate-31536/>.

14. El Watan-dz. Tizi Ouzou: Six cases of human brucellosis in Bouzeguene. [Internet]. Available from: <https://elwatan-dz.com/tizi-ouzou-six-cas-de-brucellose-humaine-a-bouzeguene>.

15. El Watan-dz. Bejaia: Caprine brucellosis alert. [Internet]. Available from: <https://elwatan-dz.com/bejaia-alerte-a-la-brucellose-caprine>.

16. Spa Oran-press: La lutte contre la brucellose mobilise. [Internet]. Available from: https://www.lequotidien-oran.com/index.php?news=5321424&archive_date=2023-05-28.

17. El Watan-dz. Bouira: More than 60 cases of human brucellosis recorded. [Internet]. Available from: <https://elwatan-dz.com/bouira-plus-de-60-cas-de-brucellose-humaine-enregistres>.

18. Kolo F.B., Adesiyun A.A., Fasina F.O., Harris B.N., Rossouw J., Byaruhanga C., Geyer H.W., Blumberg L., Freaun J., van Heerden H. Brucellosis seropositivity using three serological tests and associated risk factors in abattoir workers in Gauteng Province, South Africa. *Pathogens.* 2024; 13(1):64. DOI: 10.3390/pathogens13010064.

19. Mazwi K.D., Kolo F.B., Jaja I.F., Byaruhanga C., Hassim A., van Heerden H. Polyphasic characterization of *Brucella* spp. in livestock slaughtered from abattoirs in Eastern Cape, South Africa. *Microorganisms.* 2024; 12(1):223. DOI: 10.3390/microorganisms12010223.

20. Marumo B., Hlokwé T.M., Kayoka-Kabongo P.N. Seroprevalence of brucellosis in communal and smallholder cattle farming in North West Province, South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2023; 90(1):e1–e8. DOI: 10.4102/ojvr.v90i1.2114.

21. Li L.M., Wang Q., Shi J.F., Li T., Zhao B., Ma Q.X., Liu H.Y., Su N., Cai R.P., Zeng F.L., Gong Q.L., Shi K., Li J.M., Liu F., Du R. Seroprevalence and potential risk factors of brucellosis in sheep from America, Africa and Asia regions: A systematic review and meta-analysis. *Res. Vet. Sci.* 2023; 165:105048. DOI: 10.1016/j.rvsc.2023.105048.

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

23. Rivas A.L., Smith S.D., Basiladze V., Chaligava T., Malania L., Burjanadze I., Chichinadze T., Suknidze N., Bolashvili N., Hoogesteijn A.L., Gilbertson K., Bertram J.H., Fair J.M., Webb C.T., Immadze P., Kosoy M. Geo-temporal patterns to design cost-effective interventions for zoonotic diseases – the case of brucellosis in the country of Georgia. *Front. Vet. Sci.* 2023; 10:1270505. DOI: 10.3389/fvets.2023.1270505.

24. Arede M., Beltran-Alcrudo D., Aliyev J., Chaligava T., Keskin I., Markosyan T., Morozov D., Oste S., Pavlenko A., Ponea M., Starciuc N., Zdravkova A., Raizman E., Casal J., Allepuz A. Examination of critical factors influencing ruminant disease dynamics in the Black Sea Basin. *Front. Vet. Sci.* 2023; 10:1174560. DOI: 10.3389/fvets.2023.1174560.

25. Shevtsov A., Cloeckaert A., Berdimuratova K., Shevtsova E., Shustov A.V., Amirgazin A., Karibayev T., Kamalova D., Zygmunt M.S., Ramanculov Y., Vergnaud G. *Brucella abortus* in Kazakhstan, population structure and comparison with worldwide genetic diversity. *Front. Microbiol.* 2023; 14:1106994. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1106994.

26. Kazybaeva Zh.S., Nurmatov Z.Sh. [Epidemic and epizootic situation on brucellosis in the Kyrgyz Republic]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):173–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-173-176.

27. [International news agency “Kazinform”: The number of brucellosis cases is growing in the Kostanay Region]. [Internet]. Available from: <https://www.inform.kz/ru/v-kostanayskoy-oblasti-rastet-chislo-zabolevshih-brucellezom-a4084682>.

28. InAktau.kz: [Cases of brucellosis were detected in Mangistau]. [Internet]. Available from: <https://www.inaktau.kz/news/3622527/slucal-brucelleza-vyavili-v-mangistau>.

29. KazTAG: [58 people have fallen ill with brucellosis since the beginning of the year in the Zhetysu Region]. [Internet]. Available from: <https://kaztag.kz/ru/news/58-chelovek-zaboleli-brucellezom-s-nachala-goda-v-oblasti-zhetysu>.

30. Azattyq Ryhy: [Over 20 cases of brucellosis were recorded in West Kazakhstan region]. [Internet]. Available from: <https://rus.azattyq-ruhy.kz/society/53117-svyshe-20-sluchaev-brucelleza-zafiksirovali-v-zko>.

31. [Register TV Kazakhstan: The situation on brucellosis in the Karaganda Region is unstable]. [Internet]. Available from: <https://regtv.kz/2023/08/02/ent-obstanovka-po-brucellezu-v-karagandi.html>.

32. International news agency “Kazinform”: Restrictions will be imposed on a village in Kostanay region where brucellosis was detected in cattle. [Internet]. Available from: https://kaz.inform.kz/news/iri-karadan-brucellez-anyktal-gan-kostanay-oblysyndagy-aulyga-shekteu-engizilmek_a4103478/.

33. Ahuja V., Ward D., Rajabov R., McLeod A., Jackson R. Preferences of livestock owners for sharing the cost of brucellosis control in Tajikistan. *Res. Vet. Sci.* 2020; 130:103–9. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.02.015.
34. Lindahl-Rajala E., Hoffman T., Fretin D., Godfroid J., Sattorov N., Boqvist S., Lundkvist Å., Magnusson U. Detection and characterization of *Brucella* spp. in bovine milk in small-scale urban and peri-urban farming in Tajikistan. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(3):e0005367. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005367.
35. Kurbonov K.M., Satarov S.S., Simonova E.G., Filatov N.N. [Modern epizootiological and epidemiological features of brucellosis in the Republic of Tajikistan]. *Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology Epidemiology and Immunobiology]*. 2016; 93(3):31–7.
36. Zhang M., Chen X., Bu Q., Tan B., Yang T., Qing L., Wang Y., Deng D. Spatiotemporal dynamics and influencing factors of human brucellosis in Mainland China from 2005–2021. *BMC Infect. Dis.* 2024; 24(1):76. DOI: 10.1186/s12879-023-08858-w.
37. Shi Q.N., Qin H.J., Lu Q.S., Li S., Tao Z.F., Fan M.G., Aishan M.H., Kou Z.Q., Chen Q.L., Yin W.W., Zhang Y.P. Incidence and warning signs for complications of human brucellosis: a multi-center observational study from China. *Infect. Dis. Poverty.* 2024; 13(1):18. DOI: 10.1186/s40249-024-01186-4.
38. MesVaccins. Taiwan: first case of sheep brucellosis in 30 years. [Internet]. Available from: <https://www.mesvaccins.net/web/news/21494-taiwan-premier-cas-de-brucellos-ovine-depuis-30-ans>.
39. Nik Mazlan S.A., Abdul Hadi Sabri F.S., Mohamed Zahidi J., Seman Z., Ahmad N., Ramli S.R. Human brucellosis: Six years retrospective study on seropositivity in Malaysia. *Malays. J. Pathol.* 2022; 44(2):269–76.
40. Campbell J.I., Lan N.P.H., Phuong P.M., Chau L.B., Trung Pham Duc, Guzmán-Verri C., Ruiz-Villalobos N., Minh T.P.T., Muñoz Alvaro P.M., Moreno E., Thwaites G.E., Rabaa M.A., Chau N.V.V., Baker S. Human *Brucella melitensis* infections in southern Vietnam. *Clin. Microbiol. Infect.* 2017; 23(11):788–90. DOI: 10.1016/j.cmi.2017.06.028.
41. Lapphral K., Leelaporn A., Vanprapar N., Chearskul P., Sawawiboon N., Wittawatmongkol O., Chokephaibulkit K. First case report of brucellosis in a child in Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 2014; 45(4):890–6.
42. Kledmanee K., Liabsuetrakul T., Sretrirutchai S. Risk of adverse pregnancy outcomes and seroprevalence for brucellosis in pregnant women exposed to goats or raw goat products in southern Thailand: a prospective cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019; 19(1):118. DOI: 10.1186/s12884-019-2267-x.
43. Jaismon P.A., Sushmitha A.P., Verma M.R., Singh Y.P., Borthakur U., Kumar S., Sharun K., Dhama K. Prevalence of bovine brucellosis in India: a meta-analysis. *Vet. Q.* 2023; 43(1):1–9. DOI: 10.1080/01652176.2023.2228355.
44. Mohd G., Muthu G., Sankarraj S.S., Thiyagarajan K., Ganesan S.T., Kalyanaraman S., Ponnaiah M., Chethrapilly Purushothaman G.K. Brucellosis among fever patients attending a primary health centre in rural South India. *J. Infect. Dev. Ctries.* 2023; 17(11):1628–30. DOI: 10.3855/jidc.17692.
45. Jamil T., Khan A.U., Saqib M., Hussain M.H., Melzer F., Rehman A., Shabbir M.Z., Khan M.A., Ali S., Shahzad A., Khan I., Iqbal M., Ullah Q., Ahmad W., Mansoor M.K., Neubauer H., Schwarz S. Animal and human brucellosis in Pakistan. *Front. Public Health.* 2021; 9:660508. DOI: 10.3389/fpubh.2021.660508.
46. Zeeshan Akram M., Ullah Khan A., Shaikat Ali B., Shahid S., Batool A. Epidemiological surveillance of Brucella infection in humans, non-ruminants and wildlife from Pakistan perspective (2000–2020). *J. Hell. Vet. Medical Soc.* 2021; 72(3):3117–26. DOI: 10.12681/jhvms.28501.
47. Abedi F., Salguqie F., Alemzadeh E. Brucellosis in Herat province, Afghanistan: epidemiological status and risk factors. *Shiraz E-Med. J.* 2021; 23(4):e115810. DOI: 10.5812/semj.115810.
48. European Food Safety Authority (EFSA); European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. *EFSA J.* 2022; 20(12):e07666. DOI: 10.2903/j.efsa.2022.7666.
49. European Food Safety Authority (EFSA); European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. *EFSA J.* 2023; 21(12):e8442. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8442.
50. ECDC. Surveillance Atlas of Infectious Diseases. Brucellosis. Confirmed cases. [Internet]. Available from: <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=8>.
51. Ponomarenko D.G., Khachaturova A.A., Kovalev D.A., Skudareva O.N., Lukashovich D.E., Zharinova I.V., Daurova A.V., Germanova A.N., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Kuznetsova I.V., Shapakov N.A., Bobrysheva O.V., Pisarenko S.V., Manin E.A., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. [Analysis of brucellosis incidence and molecular-genetic characteristics of Brucella population in the territory of the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):61–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-61-74.
52. Facciola A., Palamara M.A.R., D'Andrea G., Marano F., Magliarditi D., Puglisi G., Picerno I., Di Pietro A., Visalli G. Brucellosis is a public health problem in southern Italy: Burden and epidemiological trend of human and animal disease. *J. Infect. Public Health.* 2018; 11(6):861–6. DOI: 10.1016/j.jiph.2018.07.007.
53. News18: Rare Canine Disease Brucella canis Spreads from Dogs to Humans in UK; Three Cases Reported. [Internet]. Available from: <https://www.news18.com/world/rare-canine-disease-brucella-canis-spreads-from-dogs-to-humans-in-uk-three-cases-reported-8588499.html>.
54. Jorge Ron-Roman, Lenin Ron-Garrido, Emmanuel Abatih, Maritza Celi-Eraza, Laura Vizcaino-Ordóñez, Jaime Calva-Pacheco, Pablo Gonzalez-Andrade, Dirk Berkvens, Washington Benítez-Ortiz, Jef Brandt, David Fretin, and Claude Saegerman. Human brucellosis in northwest Ecuador: typifying *Brucella* spp., seroprevalence, and associated risk factors. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014; 14(2):124–33. DOI: 10.1089/vbz.2012.1191.
55. Periodico Correo: SSG warns about cheese contaminated with brucellosis; Guanajuato adds almost 100 cases of the disease. [Internet]. Available from: <https://periodicocorreo.com.mx/vida-publica/ssg-alerta-por-quesos-contaminados-con-brucellosis-guanajuato-suma-casi-100-casos-de-la-enfermedad-20230727-78481.html>.
56. Gobierno de Mexico: Situation actual del control de la brucellosis en Mexico. [Internet]. Available from: <https://www.gob.mx/senasa/documentos/situacion-actual-del-control-de-la-brucellosis-en-mexico>.
57. About F., Pastre T., Boutrou M., Martinez A.Y., Melzani A., Peugny S., Michaud C., Zouaoui S., Carage T., Rose V.S., Demar M., Lavigne J.P., Djossou F., O'Callaghan D., Epelboin L., Keriel A. Novel species of brucella causing human brucellosis, French Guiana. *Emerg. Infect. Dis.* 2023; 29(2):333–40. DOI: 10.3201/eid2902.220725.
58. Hernández-Mora G., Chacón-Díaz C., Moreira-Soto A., Barrantes-Granados O., Suárez-Esquivel M., Viquez-Ruiz E., Barquero-Calvo E., Ruiz-Villalobos N., Hidalgo-Montealegre D., González-Barrientos R., Demeter E.A., Estrella-Morales J., Zúñiga-Pereira A.M., Quesada-Gómez C., Chaves-Olarte E., Lomonte B., Guzmán-Verri C., Drexler J.F., Moreno E. Virulent *Brucella nosiferati* infecting *Desmodus rotundus* has emerging potential due to the broad foraging range of its bat host for humans and wild and domestic animals. *mSphere.* 2023; 8(4):e0006123. DOI: 10.1128/msphere.00061-23.
59. Northern AG Network: Brucellosis confirmed in Wyoming cattle herd. [Internet]. Available from: <https://www.northernag.net/brucellosis-confirmed-in-wyoming-cattle-herd/>.
60. Outbreak News Today: Wyoming: Brucellosis confirmed in 7 cattle in Sweetwater County. [Internet]. Available from: <https://outbreaknewstoday.com/wyoming-brucellosis-confirmed-in-7-cattle-in-sweetwater-county-99144/>.

Authors:

Ponomarenko D.G., Matvienko A.D., Khachaturova A.A., Zharinova I.V., Logvinenko O.V., Rakitina E.L., Kostyuchenko M.V., Kondrat'eva Yu.V., Maletskaya O.V., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: anthraxlab.stv@mail.ru.

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

Trankvilevsky D.V. Federal Center of Hygiene and Epidemiology; 19a, Varshavskoe Highway, Moscow, 117105, Russian Federation. Federal Scientific Center of Hygiene named after F.F. Erisman; Moscow, Russian Federation.

Об авторах:

Пономаренко Д.Г., Матвиенко А.Д., Хачатурова А.А., Жаринова И.В., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Кондратьева Ю.В., Малецкая О.В., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: anthraxlab.stv@mail.ru.

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

Транквилевский Д.В. Федеральный центр гигиены и эпидемиологии; Российская Федерация, 117105, Москва, Варшавское шоссе, 19а. Федеральный научный центр гигиены имени Ф.Ф. Эрисмана; Российская Федерация, Москва.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-51-61

УДК 616.9:615.371

Т.Э. Светоч, А.С. Трунякова, С.В. Дентовская

Оральные вакцины для профилактики бактериальных инфекций: стратегии и перспективы разработок

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболensk, Российская Федерация

Оральные вакцины привлекают все больше внимания из-за простоты введения, меньшей инвазивности и большей безопасности в целом. В обзоре обсуждаются преимущества перорального способа вакцинации, позволяющего стимулировать гуморальные и клеточные иммунные реакции на системном уровне и слизистых оболочках для обеспечения более широкой и долговременной защиты. Проанализированы аспекты, связанные со строением кишечника и иммунологическим распознаванием антигена в ходе процесса трансформации после проникновения в кишечник. Рассмотрены подходы, применяемые для повышения эффективности оральных вакцин. Обсуждаются такие проблемы, как нестабильность и недостаточная эффективность оральных вакцин, а также недавние разработки адъювантов и систем доставки на основе минеральных солей, веществ микробного происхождения, сапонинов, полимеров, микро- и наночастиц, липосом, обладающих потенциалом для повышения эффективности оральных вакцин. Дан краткий анализ лицензированных оральных вакцин и обобщены данные по разработке прототипов вакцинных препаратов с использованием современных методов генетики, молекулярной биологии и иммунологии, а также механизмов индуцирования иммунного ответа.

Ключевые слова: оральные вакцины, адъюванты, оральная доставка, белковая доставка, мукозальный иммунитет.

Корреспондирующий автор: Светоч Татьяна Эдуардовна, e-mail: tanyasvetoch@yandex.ru.

Для цитирования: Светоч Т.Э., Трунякова А.С., Дентовская С.В. Оральные вакцины для профилактики бактериальных инфекций: стратегии и перспективы разработок. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 2:51–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-51-61

Поступила 02.06.2023. Отправлена на доработку 29.11.2023. Принята к публ. 08.12.2023.

T.E. Svetoch, A.S. Trunyakova, S.V. Dentovskaya

Oral Vaccines for Prevention of Bacterial Infections: Development Strategies and Prospects

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

Abstract. Oral vaccines are drawing more attention due to their ease of administration, lesser invasiveness, and greater safety in general. The review discusses the benefits of oral vaccination in stimulating humoral and cellular immune responses at the systemic and mucosal level to provide expanded and longer-lasting protection. Aspects related to the structure of the intestine and immunological recognition of the antigen during the transformation process after penetration into the intestine are analyzed. Approaches used to improve the effectiveness of oral vaccines are considered. Problems such as instability and lack of effectiveness of oral vaccines are discussed, as well as recent developments of adjuvants and delivery systems based on mineral salts, substances of microbial origin, saponins, polymers, micro- and nanoparticles, liposomes, which have the potential to increase the effectiveness of oral vaccines. A brief analysis of licensed oral vaccines is given and the data on the development of prototype vaccine preparations using modern methods of genetics, molecular biology and immunology, as well as the mechanisms of inducing an immune response are summarized.

Key words: oral vaccines, adjuvants, oral delivery, protein delivery, mucosal immunity.

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

Funding: The work was carried out within the framework of the industrial research program of the Rospotrebnadzor for 2021–2025: “Scientific support of epidemiological surveillance and sanitary protection of the territory of the Russian Federation. Creation of new technologies, means and methods for the control and prevention of infectious and parasitic diseases”.

Corresponding author: Tatiana E. Svetoch, e-mail: tanyasvetoch@yandex.ru.

Citation: Svetoch T.E., Trunyakova A.S., Dentovskaya S.V. Oral Vaccines for Prevention of Bacterial Infections: Development Strategies and Prospects. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:51–61. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-51-61

Received 02.06.2023. Revised 29.11.2023. Accepted 08.12.2023.

Svetoch T.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3540-1176>

Trunyakova A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9223-2105>

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

Инфекционные болезни по-прежнему остаются одной из ведущих причин смертности во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения, ежегодно в мире от инфекционных болезней страдают 2 млрд человек, для 17 млн из них инфекции становятся причиной смерти. Именно поэтому потребность в разработке эффективных вакцин и но-

вых безопасных способов их доставки остается актуальной. Большинство лицензированных вакцинных препаратов вводятся подкожно или внутримышечно, что сопровождается формированием гуморального, клеточного и слабого мукозального иммунного ответа. Пероральная вакцинация, о возможности которой еще в 1880 г. говорил Пастер [1], успешно стимулирует

ет все звенья иммунного ответа, в том числе продукцию секреторных IgA [2]. Вакцины, вводимые *per os*, индуцируют первую линию защиты от возбудителей инфекционных заболеваний на слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта. Секреторные антитела IgA связывают антигены, ингибируя их адгезию и проникновение в слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта, индуцируют фагоцитоз через связывание CD89 и активируют каскад комплемента через лектиновый и альтернативный пути, способны мигрировать в слизистые оболочки респираторного и урогенитального трактов, обеспечивая защиту от патогенов [3].

В обзоре рассматриваются подходы, используемые для повышения эффективности оральных вакцин, описаны системы доставки, дан краткий анализ лицензированных антибактериальных вакцин с пероральным способом введения и направления разработок прототипов вакцинных штаммов.

Преимущества и недостатки оральных вакцин. Пероральный способ введения вакцин имеет свои преимущества и недостатки. Оральные вакцины характеризуются повышенной безопасностью, легкостью введения, менее сложным процессом производства по сравнению с инъекционными формами. К недостаткам перорального введения относят необходимость повышения дозы (по сравнению с парентеральным введением) и использования систем доставки антигенов для защиты от негативного влияния значительного изменения величины pH на протяжении желудочно-кишечного тракта и действия протеолитических ферментов. Чтобы избежать деградации молекул белков, полисахаридов и других компонентов при транзите через желудочно-кишечный тракт, выбранные кандидатные вакцинные составы заключают в капсулы, получая микрочастицы или наночастицы. Капсулы по химической природе могут быть синтетическими полимерами (полисахариды), природными полимерами, а также липидсодержащими (липосомы, билосомы) и липосомами «второго поколения», совмещающими функции носителя и иммуностимулятора (иммуностимулирующие комплексы – ISCOMs, immune-stimulatory complexes).

Возможность возникновения иммунологической толерантности – состояния ареактивности к определенному антигену – является еще одной проблемой, ограничивающей использование перорального способа доставки вакцин. Исследования, проведенные на моделях лабораторных животных, показали, что пероральная толерантность проявляется в индуцированной активацией гибели клеток, анергии и индукции регуляторных Т-клеток. Известно, что иммунологическая толерантность может возникать после введения либо большого количества растворимых белков, либо массивных доз антигена [4]. Установлено, что индуцировать или расширять антиген-опосредованную толерантность могут четыре основных типа регуляторных Т-клеток: 1) антиген-индуцированные клетки CD4⁺ T_H2 [5],

2) CD4⁺CD45R^{Blow} Tr1 [6], 3) CD4⁺ или CD8⁺ Т-клетки, продуцирующие TGF-β (клетки T_H3) [7] и 4) регуляторные Т-клетки CD4⁺CD25⁺ (клетки T_{reg}) [8]. Современные подходы к преодолению пероральной толерантности основаны на предотвращении анергии или делеции Т-клеток путем применения технологии контролируемого высвобождения антигена, использования антигенов в форме частиц и совершенствования вводимых в состав препарата адъювантов [9].

Подходы, используемые для повышения эффективности оральных вакцин. Несмотря на многочисленные преимущества, связанные с пероральным введением вакцин, в настоящее время их использование ограничено [10]. Повышение эффективности оральных вакцин открывает возможность для более широкого их применения. Проследивая процессы трансформации антигена после проникновения в кишечник, рассмотрим некоторые аспекты, связанные со строением кишечника и иммунологическим распознаванием антигена.

Слизистая оболочка желудочно-кишечного тракта состоит из гетерогенной популяции клеток с различными функциями. Наиболее многочисленными клетками желудочно-кишечного тракта являются энтероциты, обеспечивающие первичную барьерную функцию. Энтероциты, бокаловидные клетки и М-клетки участвуют в транспорте антигенов, их поглощении и активации иммунных клеток [11]. Стенка полых органов желудочно-кишечного тракта состоит из четырех слоев: слизистая оболочка, подслизистая оболочка, мышечная оболочка и серозная оболочка (адвентиция). Первым барьером для оральных вакцин является слизистая оболочка. В ее составе три различных слоя: эпителий, собственный слой (LP – lamina propria) и мышечная пластинка.

Слизь образуют муцины, продуцируемые бокаловидными клетками. Она представляет собой гидрогель (95 % воды), состоящий из смеси белков, углеводов, липидов, солей и антител [12]. Кишечник содержит множественные индукторные участки, которые в совокупности называются лимфоидной тканью, ассоциированной с кишечником (GALT – gut associated lymphoid tissue).

Пейеровы бляшки считаются одними из крупнейших лимфоидных образований в GALT. Они образованы организованными иммунными клетками и включают фолликулы, богатые В-клетками, защищенные сетчатым образованием, известным как межфолликулярная область, образованная Т-клетками. Фолликул-ассоциированный эпителий содержит М-клетки, экспрессирующие разнообразные рецепторы к чужеродным антигенам и осуществляющие транспортировку антигенных фрагментов из просвета кишечника в пейеровы бляшки [13]. Основными эффекторными участками желудочно-кишечного тракта являются подслизистый слой и поверхностный эпителий. Далее антигены попадают в дендритные клетки – специализированные иммунные клетки,

которые процессируют и представляют антигенные фрагменты В- и Т-клеткам слизистой оболочки, чтобы инициировать антигенспецифический иммунный ответ. Участие этих антигенпрезентирующих клеток имеет решающее значение для развития местного и системного иммунитета, следовательно, важна разработка носителей для доставки вакцин с механизмами нацеливания на эти клеточные популяции.

М-клетки как мишень. Показано, что специфическое нацеливание на эпителиальные клетки кишечника, М-клетки, повышает биодоступность вакцины, а также индукцию иммунных реакций Th1- и Th2-типа. Рецепторы М-клеток могут быть мишенью для компонентов доставки оральных вакцин, включающих различные лиганды (бактериальные фрагменты, лектины, антитела и др.) [14]. Лектины – структурно разнообразная группа белков и гликопротеинов растительного и бактериального происхождения, многие из которых устойчивы к деградации ферментами кишечника [15]. Установлено, что лектины обратимо связываются с карбогидратными рецепторами М-клеток. Пероральная иммунизация частицами, нагруженными лектинами, приводила к значительному увеличению выработки сывороточных SIgA по сравнению с частицами без лектинов [16]. Однако некоторые лектины токсичны и иммуногенны по своей природе, и это ограничивает их использование.

Гликопротеин 2 (GP2), рецептор М-клеток человека и мыши, взаимодействует с FimH, компонентом наружной мембраны, ассоциированным с бактериальными пиллями I типа (*Escherichia coli*, *Yersinia*, *Salmonella*) [17]. С β_1 -интегрином М-клеток связывается инвазин, поверхностный белок *Yersinia*. Инвазин, конъюгированный с поверхностью латексных наночастиц, улучшает их поглощение М-клетками [18]. P. Tyreg *et al.* [19] продемонстрировали значимость β_1 -интегрин М-клеток мыши и человека в поглощении и транслокации бактерий.

Примером использования стратегии «нацеливания» для разработки оральной вакцины является исследование T. Nochi *et al.* [20], в котором они получили моноклональные антитела к М-клеткам (mAb НКМ 16-2-4) и конъюгировали их со столбнячным и ботулиническим токсинами. Пероральная вакцинация конъюгатом ВТ (botulinum toxoid) НКМ 16-2-4 защищала мышей от гибели после заражения ботулотоксином; mAb НКМ16-2-4 специфически связывались с α [1,2]-фукозилированными М-клетками.

Установлено, что по сравнению с растворимыми формами антигены в виде частиц лучше поглощаются М-клетками, и, следовательно, препараты в форме частиц более эффективно стимулируют иммунный ответ, что учитывают при разработке оральных вакцин [13].

Хотя использование рецепторов М-клеток в качестве мишеней при доставке компонентов оральных вакцин показало свою эффективность на модели животных, остаются нерешенными проблемы, связанные с идентификацией мишеней, функцио-

нально идентичных у мышей и человека, а также с обеспечением индукции иммунного ответа, а не толерантности. Экстраполяция на человека данных, полученных на мышинной модели, требует пристального внимания из-за различий в биологии животных и человека, в частности связанных с онтогенезом, тканевым происхождением и потенциальными ограничениями анализа *in vitro* и *in vivo* [21].

Для идентификации новых пептидных лигандов, специфичных для М-клеток человека, *in vitro* используют разработанную модель фолликул-ассоциированного эпителия пейеровых бляшек кишечника человека и метод фагового дисплея, являющегося многообещающим подходом для выявления пептидных последовательностей без знания их молекулярных свойств [22].

Адьюванты и системы доставки для оральных вакцин. Поскольку органы желудочно-кишечного тракта постоянно подвергаются воздействию широкого спектра патогенных микроорганизмов, для распознавания иммунной системой хозяина оральные вакцины должны индуцировать сигналы соответствующей силы. В противном случае может возникнуть иммунная толерантность. Именно поэтому в состав вакцин вводят носители, включающие безопасные адьюванты, стимулирующие мукозальный иммунитет [23]. Рецепторы распознавания образов (PRR – pattern recognition receptors) экспрессируются различными типами клеток, в том числе эпителиальными, антигенпрезентирующими, и взаимодействуют с патоген-ассоциированными молекулярными структурами (PAMPs – pathogen-associated molecular patterns), стимулируя фагоцитоз.

Адьюванты нового поколения повышают иммуногенность антигенов, в том числе при их применении в низких дозах, обладают низкой токсичностью или нетоксичны, используются с различными по химической природе антигенами, обеспечивают длительный гуморальный, клеточный и мукозальный иммунитет. В качестве адьювантов используют минеральные соли, вещества микробного происхождения, сапонины, полимеры, наночастицы, микрокапсулы, липосомы.

Бактериальный белок флагеллин узнается толл-подобным рецептором 5 (TLR5), который экспрессируется эпителиальными, дендритными и В-клетками [24]. Было показано, что частицы, нагруженные флагеллином, *in vivo* индуцируют гуморальный иммунный ответ, стимулируют созревание дендритных клеток кишечника, активируют Т-хелперы [25]. CpG – олигодезоксинуклеотид, содержащийся в бактериальной и вирусной ДНК, – узнается толл-подобным рецептором 9 (TLR9) и обладает иммуномодулирующими и адьювантными свойствами [26]. Модифицированный термолабильный энтеротоксин (dmLT – double mutant heat-labile toxin) энтеротоксигенных *E. coli* и нетоксичная часть холерного токсина (СТ-В) *Vibrio cholerae* также обладают выраженными адьювантными свойствами [27].

А-субъединицу токсина модифицируют с целью детоксикации [28].

Все большее распространение в качестве системы доставки антигена получают нано- и микрочастицы. Наночастицы имеют размер от 1 до 1000 нм. Антигены могут быть инкапсулированы, адсорбированы на поверхности наночастиц или химически конъюгированы с ними. Наночастицы показали свою безопасность, эффективность и иммуностимулирующую способность [29]. Вакцинные составы на основе наночастиц могут продлевать иммунную стимуляцию за счет устойчивого и контролируемого высвобождения инкапсулированных молекул антигена. Это пролонгирует рост титра антител и способствует индукции большего количества эффекторных клеток памяти. Заданный разработчиком уровень плотности эпитопов, антигенная нагрузка и адъювантные свойства носителя являются важными характеристиками нановакцин. Частицы нанометрового размера лучше поглощаются М-клетками и энтероцитами. Кроме того, М-клетки и энтероциты обладают способностью транспортировать микрочастицы (размером от 1 до 1000 мкм). Однако микрочастицы индуцируют преимущественно гуморальный иммунный ответ, а наночастицы более эффективно стимулируют клеточное звено иммунитета [30].

В качестве системы доставки антигенов также используют липосомы. Такую систему доставки, например, применили D. Wang *et al.* [31], получив

ДНК-вакцину, кодирующую микобактериальный антиген Ag85A, инкапсулированный в липосомы. После трехкратного перорального введения белок Ag85A обнаруживали в эпителиальных, дендритных и М-клетках кишечника мышей. Вакцина индуцировала мукозальный, гуморальный и клеточный иммунный ответ.

Ряд полимерных материалов используют для оболочек нано- и микрочастиц. К синтетическим полимерам относят полилактид и PLGA – биоразлагаемый полимер, который состоит из сложных полиэфиров молочной и гликолевой кислот. Примером природных полимеров является полисахарид хитозан, N-ацетил-D-глюкозамин которого узнается маннозой в составе рецепторов дендритных клеток. По данным F. Poorhassan *et al.* [32], у мышей, иммунизированных *per os* наночастицами хитозана, нагруженными рекомбинантным эpsilon-токсином (rETX) типа D *Clostridium perfringens*, детектировали значительные титры защитных IgA и IgG. Адъюванты и системы доставки вакцин подробно рассмотрены в многочисленных обзорах [33].

Лицензированные оральные вакцины и прототипы препаратов против бактериальных патогенов. Большинство одобренных оральных вакцин (таблица) защищают от инфекций, поражающих желудочно-кишечный тракт, или от патогенов, которые проходят в нем решающую стадию жизненного цикла. Все одобренные оральные вакцины содержат

Клинически одобренные оральные вакцины
Clinically approved oral vaccines

Заболевание (патоген) Disease (pathogen)	Вакцина Vaccine	Тип вакцины Vaccine type	Адъювант Adjuvant	Форма выпуска Formulation
Холера (<i>V. cholerae</i>) Cholera (<i>V. cholerae</i>)	Ducoral [35]	Вакцина на основе инактивированного рекомбинантного холерного токсина В <i>V. cholerae</i> Inactivated <i>V. cholerae</i> recombinant CTB	Нет (холерный токсин В) No (cholera toxin B)	Жидкая Liquid
	Vaxchora [36]	Живая аттенуированная вакцина на основе штамма <i>V. cholerae</i> O1 Inaba (569B) Live-attenuated <i>V. cholerae</i> O1 Inaba 569B strain	Нет No	Жидкая Liquid
	Вакцина холерная бивалентная химическая Bivalent chemical cholera vaccine [38]	Смесь холерогена-анатоксина и О-антигенов <i>V. cholerae</i> O1, серовара Inaba и серовара Ogawa Mix of cholero-gen-anatoxin and O-antigens of <i>V. cholerae</i> O1, Inaba serovar and Ogawa serovar	Нет No	Таблетированная Tableted
	Shanchol Desai Shaikh [39]	Убитая двухвалентная вакцина на основе штаммов / A killed bivalent (O1 and O139), whole cell cholera vaccine based on the strains: <i>V. cholerae</i> O1 Inaba El Tor Phil 6973, <i>V. cholerae</i> O1 Ogawa classical Cairo 50, <i>V. cholerae</i> O1 Inaba classical Cairo 48, <i>V. cholerae</i> O139 4260B	Нет No	Жидкая Liquid
Брюшной тиф (<i>S. Typhi</i>) Typhoid fever (<i>S. Typhi</i>)	Vivotif [40]	Живая аттенуированная вакцина на основе штамма <i>S. Typhi</i> Live attenuated vaccine based on <i>S. Typhi</i>	Нет No	Жидкая суспензия, кишечнорастворимая капсула Liquid suspension, enteric capsule
Чума (<i>Y. pestis</i>) Plague (<i>Y. pestis</i>)	Вакцина чумная живая Live plague vaccine [34]	На основе лиофилизированной живой культуры вакцинного штамма <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ Lyophilized live culture of the vaccine strain <i>Y. pestis</i> EV NIIEG	Нет No	Таблетированная Tableted

ослабленные живые или инактивированные патогены. Как и в случае с формами этих патогенов дикого типа, аттенуированные и инактивированные формы могут подвергаться деградации или оставаться в достаточной степени интактными при транспортировке в желудке и кишечнике и вызывать более сильный иммунный ответ в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, чем другие типы вакцин (например, субъединичные и ДНК-вакцины). Кроме того, пероральный способ иммунизации может быть эффективен для профилактики бактериальных системных инфекций, что было показано на примере использования таблетированной формы вакцины чумной живой при иммунизации против чумы [34].

В настоящее время число лицензированных антибактериальных вакцин для перорального введения невелико. Это холерные, тифозная и чумная вакцины.

Вакцины против холеры. *V. cholerae* – высоковирулентный возбудитель острой кишечной инфекции, передающийся через контаминированную воду и пищу. За рубежом наиболее широко применяют вакцину В-WC (В subunit-whole cell vaccine) – убитую цельноклеточную обогащенную рекомбинантной В-субъединицей (СТВ) холерного энтеротоксина (Dukoral® SBL, Нидерланды) на основе убитых холерных вибрионов серотипов Inaba и Ogawa, а также биотипов El Tor и классического. Вакцина эффективна в отношении различных серотипов возбудителя, безопасна, стабильна и обеспечивает 65 % защиту от холеры в течение двух лет [35]. Протективная активность обеспечивается продукцией антител к СТ, антибактериальных антител и IgA в кишечнике. Вакцина активна также в отношении ЕТЭС вследствие большой степени идентичности термолабильного токсина рассматриваемых патогенов. Предназначена для применения главным образом у путешественников.

Вторая лицензированная оральная вакцина представляет собой живую аттенуированную вакцину CVD-10-HgR, содержащую генетически измененный штамм *V. cholerae* O1 Inaba (инсерция в гене гемолизина А [*hlyA*], кодирующего устойчивость к ртути) (Vaxchora, PaxVax, USA) [36]. Это переформулированная вакцина CVD 103-HgR, ранее ушедшая с рынка [37].

В Российской Федерации на базе ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора лицензировано производство вакцины холерной бивалентной химической, в состав которой входят холероген-анатоксин и О-антигены, полученные из инактивированных формалином бульонных культур *V. cholerae* O1 классического биовара штаммов 569 В или KM-76 (569 pCO107-2), серовара Inaba и M-41 серовара Ogawa путем выделения, очистки и концентрирования сернокислым аммонием. Препарат представляет собой таблетки, покрытые кишечнорастворимой оболочкой. Вакцинацию проводят перорально однократно [38, 39].

Вакцины против брюшного тифа. Оральная живая аттенуированная вакцина Ty21a получена путем мутагенеза штамма Ty2 *Salmonella enterica* серовар Typhi (*S. Typhi*), в котором инактивирован ген *galE*, кодирующий эпимеразу, один из ферментов биосинтеза ЛПС [40]. Эффективность Ty21a варьирует в зависимости от состава и схемы введения. В настоящее время препарат доступен либо в виде жидкой суспензии, либо в виде капсул, покрытых кишечнорастворимой оболочкой, и вводится в виде трех или четырех доз в течение нескольких дней. Через семь дней после приема последней дозы вакцина обеспечивает 62 % защиту от заболевания в течение семилетнего периода. Вакцина Ty21a индуцирует как гуморальный (системный и мукозальный), так и клеточно-опосредованный иммунный ответ. Однако доминирующий иммунный механизм, обеспечивающий долгосрочную защиту, еще не определен.

Вакцины против шигеллеза. Шигеллы – внутриклеточные патогены, подразделяемые на четыре вида (серогруппы), объединяющие более 50 серотипов и субтипов. Оптимально вакцина против шигеллеза должна защищать от наиболее часто встречающихся серотипов возбудителя: *Shigella dysenteriae* серотипа 1, *Shigella flexneri* серотипов 1–14 и *Shigella sonnei*. Основные факторы патогенности шигелл включают белки системы секреции III типа (Т3SS), антигены А, В, С, D плазмиды инвазивности (Ipa – invasion plasmid antigens A, B, C, D), белки внутриклеточного распространения (Ics – intracellular spreading proteins), липополисахарид и Шигатоксин. Антитела (сывороточные и секреторные) против О-полисахаридной цепи ЛПС играют основную роль в защите от шигеллеза [41]. Показан также вклад клеточного звена иммунитета в защиту от патогена. Получены прототипы вакцинных аттенуированных штаммов шигелл для введения *per os* – делеционные мутанты по генам, кодирующим ферменты метаболизма гуанидиновых нуклеотидов (*guaBA*), фактора колонизации (*virG*), энтеротоксинов (*sen*, *set*, *stxA*) [42]. Инактивация генов шигеллезных энтеротоксинов ShETs в комбинации с мутацией Δ *guaBA* позволила значительно аттенуировать прототип вакцинного штамма CVD1208, что было показано в клинических испытаниях на волонтерах. Вакцина индуцировала анти-ЛПС IgA и IgG. K.L. Kotloff *et al.* [42] предложили получить мутанты Δ *guaBA*, Δ *sen*, Δ *set* других штаммов *Shigella* для конструирования мультивалентной вакцины против шигеллеза, вызванного эпидемиологически и клинически значимыми штаммами. При конструировании живой аттенуированной оральной вакцины важно достичь оптимального баланса между реактогенностью и иммуногенностью прототипа вакцинного штамма.

R. McKenzie *et al.* [43] сообщили о разработке оральной инактивированной цельно-клеточной вакцины против шигеллеза на основе клинического штамма *Shigella sonnei* LB и показали ее протективную и иммуногенность на модели морских свинок

и потенциальный иммунный ответ у человека (клинические испытания, фаза I).

S. Sagi *et al.* [44] провели гетерологичную экспрессию слитого белка – иммунодоминантной области интимина (Int) *E. coli* O157:H7 и инвазина (IpaB – invasive plasmid antigen B) *Shigella flexneri* – в *Lactococcus lactis* (LL-E3), использованных как живой вектор для доставки вакцины. У иммунизированных перорально LL-EI мышей на шестые сутки после заражения штаммом *E. coli* O157:H7 отмечали уменьшение количества выделяемого с калом патогена вплоть до полного исчезновения. Выжили 93 % мышей, зараженных штаммом *S. flexneri*. Полученные результаты позволяют рассматривать рекомбинантный штамм *L. lactis* в качестве кандидата в вакцинные против инфекций, вызываемых *E. coli* O157:H7 и *Shigella* spp.

S. Narutyunyan *et al.* [45] конструировали вакцину ShigETEC на основе живого аттенуированного штамма *S. flexneri* 2a 2457T с делециями гена *rfb* (О-полисахаридная цепь ЛПС), генов *ipaB*, *ipaC* (белки системы секреции типа III) и *setBA* (ShET 1 энтеротоксин). В плазмиду инвазивности ввели химерную генетическую конструкцию LTB-ST_{N12S}, состоящую из нетоксичной в отсутствие LTA (heat-labile A – субъединица А термолabile токсина) субъединицы LTB ETEC и детоксицированного ST (heat-stable toxin – термолabile токсин) ETEC, с мутацией замены Asp на Ser в положении 12. Для повышения уровня экспрессии взяли три копии LTB-ST_{N12S} в комбинации с геном *infA* из хромосомы для стабилизации плазмиды инвазивности. Иммунизация мышей обеспечила защиту от гибели 100 % животных после заражения летальными дозами *S. flexneri* или *S. sonnei*. Результатом вакцинации ShigETEC явилась серотипнезависимая защита животных и высокий уровень IgG и IgA против бактериальных лизатов, а также продукция антитоксических антител (анти-ETEC) с нейтрализующей активностью. В настоящее время продолжаются клинические испытания (фаза 1) ShigETEC – вакцины для перорального применения против шигеллеза и эшерихиоза, особенно актуальной для вакцинации населения в странах с низким уровнем жизни.

Вакцины против диареегенных *E. coli*. Энтеротоксины, адгезины и белки T3SS являются ключевыми факторами вирулентности ETEC. Известно более 25 адгезинов и 2 вида токсинов ETEC, нарушающих нормальный гомеостаз в тонком кишечнике и вызывающих тяжелую диарею. Лицензированные вакцины против ETEC отсутствуют. Идеальная вакцина против ETEC должна защищать тонкий кишечник хозяина от колонизации штаммами всех вирулентных серотипов и нейтрализовать оба типа энтеротоксинов. Гетерогенность антигенов ETEC определяет необходимость разработки вакцины против преобладающих клинически значимых серотипов возбудителя [46]. В настоящее время разработаны и находятся в процессе разработки прото-

типы вакцин против ETEC, представляющие собой как убитые цельноклеточные препараты, так и живые аттенуированные штаммы [47]. Эффективность их варьирует, некоторые вызывают побочные эффекты. Для разработки прототипов субъединичных вакцин против ETEC используют технологию MEFA (multi-epitope-fusion-antigen – мультиэпитопные слитые антигены), когда на основе общего для целевых серотипов возбудителя иммуногенного белка конструируют поливалентный антиген для прецизионной вакцины, обеспечивающей перекрестную защиту против гетерогенных серотипов и патотипов [48].

N. Arshadi *et al.* [49] при пероральной вакцинации мышей комбинированным препаратом из инактивированных клеток вирулентного штамма *E. coli* O157:H7 и рекомбинантного белка Stx2B, покрытого хитозаном, показали появление системного и мукозального иммунного ответа, а также защиту животных от гибели после орального заражения животных штаммом *E. coli* O157:H7 (10^{10} CFU).

Вакцины против хеликобактериоза. Для создания пероральных вакцин могут использоваться аттенуированные рекомбинантные штаммы *Helicobacter pylori*, синтезирующие *in situ* или доставляющие антигены, ДНК-вакцины и адъюванты к антигенпрезентирующим клеткам слизистой оболочки желудка. Данный микроорганизм эффективно колонизирует желудок человека, может проникать в лимфатические узлы желудка и пейеровы бляшки тонкого кишечника. Накоплены обширные данные о факторах патогенности *H. pylori*, к которым относятся уреазу, жгутиковую субъединицу, каталазу, белки CagA, VacA, NapA, HpaA, белки иммунного ускользания OipA и GGT, белки адгезии BabA, SabA и Omp, и, следовательно, кодирующие их синтез гены могут быть делетированы для конструирования полностью аттенуированных рекомбинантных штаммов, способных к колонизации и размножению в слизистой оболочке желудка. В настоящее время несколько хеликобактериозных вакцин для перорального применения находятся в стадии доклинических и клинических испытаний [50].

Вакцины против чумы. В ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Министерства обороны РФ создана вакцина чумная живая в форме таблеток на основе лиофилизированной живой культуры вакцинного штамма *Y. pestis* EV линии НИИЭГ (40 млрд живых микробных клеток в таблетке). Вакцина вызывает формирование иммунного ответа к возбудителю чумы через 14–20 суток после однократного применения длительностью до одного года, обладает высокой иммуногенностью и низкой реактогенностью. В случае чрезвычайных ситуаций при необходимости проведения массовой вакцинации данная вакцина позволяет быстро иммунизировать большое количество людей [34].

Кроме того, ведутся разработки оральных вакцин против чумы на основе живых аттенуированных

штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, возможность использования которых обусловлена высокой степенью идентичности генома *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, меньшей патогенностью и большей генетической стабильностью *Y. pseudotuberculosis* по сравнению с *Y. pestis* [51].

Результатом пероральной вакцинации *dam*⁻ (DNA, adenine methylase) мутантом *Y. pseudotuberculosis* IP32953, утратившим плазмиду кальцийзависимости, была эффективная защита Balb/c мышей от бубонной формы чумы [52]. По данным M. Simonet *et al.* [53], полученным ранее, внутривенное введение штамма *Y. pseudotuberculosis* с элиминированной плазмидой кальцийзависимости также обеспечивало защиту 50 % лабораторных животных от бубонной формы чумы.

V. Quintard *et al.* [54] сравнили протективные свойства живого аттенуированного штамма *Y. pseudotuberculosis* 32680 (*hpi*⁻) с применяемой в зоопарках и природных парках Европы убитой цельноклеточной вакциной Pseudovac (Нидерланды). Кандидатный аттенуированный штамм *Y. pseudotuberculosis* 32680 (*hpi*⁻) индуцировал высокие защитные титры IgG у перорально вакцинированных морских свинок и защищал животных от гибели после заражения 2200 LD₅₀ высоковирулентного штамма *Y. pseudotuberculosis* IP32953. Убитая цельноклеточная вакцина Pseudovac в аналогичных условиях не защищала морских свинок от гибели.

Группа французских исследователей [55] отобрали штамм *Y. pseudotuberculosis*, у которого отсутствовал суперантиген YPM, но присутствовала плаزمида кальцийзависимости pYV. Данный штамм после интрагастрального введения персистировал в кишечнике мышей в течение двух месяцев. У вакцинированных животных обнаруживали антитела, эффективно нейтрализующие антигены вирулентных штаммов *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* CO92. Однократная пероральная вакцинация защищала от гибели 75 % мышей, двукратная вакцинация – 88 % животных. Однако отобранный штамм не имел перспективы применения для вакцинации человека, так как причина его аттенуации осталась неизвестна, что не исключало возможности реверсии к дикому типу.

A. Derbise *et al.* [56] получили инкапсулированный F1⁺ вариант аттенуированного делеционного мутанта *Y. pseudotuberculosis* (*hpi*⁻, *psaA*⁻, *yopK*⁻). При этом *caf*-оперон вводили в составе плазмидного вектора. В связи с нестабильной продукцией F1-антигена позднее исследователи получили штамм *Y. pseudotuberculosis* VTnF1 с хромосомной локализацией *caf*-оперона, характеризующийся стабильной продукцией F1-антигена и обеспечивающий защиту лабораторных животных от легочной и бубонной форм чумы [57]. Позднее С.Е. Demeure *et al.* [58] экспериментально показали, что для протективной активности полученного штамма одинаково важна стимуляция и гуморального, и клеточного звеньев иммунитета.

Параллельно разработка оральных вакцин против бубонной и легочной формы чумы на основе живых аттенуированных штаммов *Y. pseudotuberculosis* ведется группой исследователей под руководством профессора Wei Sun (США). По данным авторов, пероральная вакцинация аттенуированным штаммом *Y. pseudotuberculosis* χ10068 с делециями *ΔyopK ΔyopJ* и хромосомной инсерцией *caf1R-caf1M-caf1A-caf1* оперона *Y. pestis* для доставки F1-антигена защищала от гибели 70 % мышей при подкожном введении ~2,6·10⁵ LD₅₀ штамма *Y. pestis* KIM6+ и обеспечивала 90 % защиты против интраназального заражения ~500 LD₅₀ KIM6+ [59]. Затем авторы использовали сконструированный штамм *Y. pseudotuberculosis* χ10069(pYA5199) с тройной делецией *Δasd ΔyopK ΔyopJ* для доставки слитого белка YopE_{N138}-LcrV чумного микроба посредством системы секреции III типа. Однократная пероральная вакцинация штаммом *Y. pseudotuberculosis* χ10069(pYA5199) индуцировала антигенспецифичный гуморальный и клеточный иммунный ответ у иммунизированных мышей, ведущий к значимому уровню защиты от интраназального заражения средними инфицирующими дозами *Y. pestis*. При использовании высоких заражающих доз уровень защиты был недостаточным. Для повышения протекции против легочной чумы исследователи совместили две предварительно использованные стратегии мутагенеза и сконструировали новый штамм *Y. pseudotuberculosis* Yptb1(pYA5199) с тройной мутацией *Δasd ΔyopK ΔyopJ*, хромосомной инсерцией *caf1R-caf1M-caf1A-caf1* оперона, также несущий *Asd*⁺ плазмиду pYA5199, кодирующую LcrV *Y. pestis*. Двукратная оральная иммунизация штаммом Yptb1(pYA5199) индуцировала более сильный антигенспецифичный гуморальный и клеточный иммунный ответ по сравнению с однократным введением и обеспечивала полноценную защиту мышей от гибели после интраназального заражения высокой дозой *Y. pestis*. Кроме того, двукратная иммунизация обеспечивала существенную защиту от гибели крыс после аэрозольного заражения, что свидетельствует о высоком потенциале рассматриваемого штамма для использования в качестве вакцинного с оральной доставкой против легочной формы чумы [60].

Вакцина против бруцеллеза. S. Zhang *et al.* [61] разрабатывают бруцеллезную S2-Ag85A ДНК-вакцину с использованием CRISPR/CAS-технологии. В качестве носителя авторы использовали антиген 85A (Ag85A) – иммуногенный внеклеточно секретируемый белок *Mycobacterium tuberculosis*. Доставляемая перорально S2-Ag85A ДНК-вакцина индуцировала гуморальный и Th1-клеточный иммунный ответ, а также секрецию sIgA в кишечнике мышей и оказалась более эффективной и безопасной, чем живая аттенуированная бруцеллезная вакцина на основе штамма *Brucella suis* S2.

Вакцина против сибирской язвы. Показано, что пероральное введение рекомбинантного штамма

Lactobacillus gasseri, экспрессирующего протективный антиген *Bacillus anthracis*, слитый с коротким пептидом, связывающимся с рецепторами дендритных клеток, полностью защищало от гибели животных, зараженных летальной дозой штамма *B. anthracis* Sterne. Известно, что липотейхоевая кислота и неметилированная ДНК *L. gasseri* активируют дендритные клетки слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и стимулируют продукцию провоспалительных цитокинов (IL-12), что смещает иммунный ответ по направлению Th1. Таким образом, пробиотические молочнокислые бактерии являются еще и безопасными адьювантами [62].

Несомненно, пероральный способ введения вакцин удобен, особенно для массовой вакцинации. Среди лицензированных и разрабатываемых оральных вакцин есть живые аттенуированные, убитые цельноклеточные и субъединичные. Аттенуированные вакцины иммуногенны, но их разработка – многоэтапный процесс, который зачастую влияет на безопасность и стабильность препарата. Субъединичные вакцины менее иммуногенны и требуют добавления адьювантов. Выбор адьюванта – важнейшая задача после выбора антигена, от которой зависит качество иммунного ответа. В настоящее время получены и разрабатываются новые системы доставки антигенов для оральных вакцин, обладающие одновременно и свойствами адьювантов. Оральные вакцины, в которых антигены заключены в капсулу и представляют собой микро- или наночастицы, более эффективно стимулируют иммунный ответ, чем растворимые формы антигенов. Системы доставки оральных вакцин, например, на основе липосом и полимеров обеспечивают стабильность препарата и эффективную доставку в кишечник, но не всегда – индукцию сильного иммунного ответа. Повышение биодоступности вакцин, индукция напряженного иммунитета без индукции иммунологической толерантности – основные задачи, решаемые исследователями в процессе разработки оральных вакцин. М-клетки являются крайне привлекательной мишенью для связывания с системой доставки вакцин, поэтому разработанная *in vitro* модель М-клеток человека необходима и уже используется для идентификации их рецепторов. Использование живых непатогенных бактерий, например лактобактерий, в качестве вектора для доставки антигенов – перспективное направление разработки оральных вакцин.

На сегодняшний день кроме уже лицензированных оральных вакцин в мире имеется большое количество разработок и технологий, направленных на получение новых эффективных и безопасных оральных вакцин. Учитывая вышесказанное, несмотря на трудности, возникающие при разработке вакцин с пероральным способом введения, данное направление вакцинологии развивается и является перспективным.

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

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

Список литературы

1. Медуницын Н.В., Катлинский А.В., Ворслов Л.О. Вакцинология. М.: Практическая медицина; 2022. 480 с.
2. Lycke N., Bemark M. Mucosal adjuvants and long-term memory development with special focus on CTA1-DD and other ADP-ribosylating toxins. *Mucosal Immunol.* 2010; 3(6):556–66. DOI: 10.1038/mi.2010.54.
3. Pietrzak B., Tomela K., Olejnik-Schmidt A., Mackiewicz A., Schmidt M. Secretory IgA in intestinal mucosal secretions as an adaptive barrier against microbial cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(23):9254. DOI: 10.3390/ijms21239254.
4. Mowat A.M. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3(4):331–41. DOI: 10.1038/nri1057.
5. Chen Y., Kuchroo V.K., Inobe J., Hafler D.A., Weiner H.L. Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science.* 1994; 265(5176):1237–40. DOI: 10.1126/science.7520605.
6. Groux H., O'Garra A., Bigler M., Rouleau M., Antonenko S., de Vries J.E., Roncarolo M.G. A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature.* 1997; 389(6652):737–42. DOI: 10.1038/39614.
7. Polanski M., Melican N.S., Zhang J., Weiner H.L. Oral administration of the immunodominant B-chain of insulin reduces diabetes in a co-transfer model of diabetes in the NOD mouse and is associated with a switch from Th1 to Th2 cytokines. *J. Autoimmun.* 1997; 10(4):339–46. DOI: 10.1006/jaut.1997.0148.
8. Thornton A.M., Shevach E.M. CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation *in vitro* by inhibiting interleukin 2 production. *J. Exp. Med.* 1998; 188(2):287–96. DOI: 10.1084/jem.188.2.287.
9. Kang S.H., Hong S.J., Lee Y.K., Cho S. Oral vaccine delivery for intestinal immunity-biological basis, barriers, delivery system, and M cell targeting. *Polymers (Basel).* 2018; 10(9):948. DOI: 10.3390/polym10090948.
10. Marasini N., Skwarczynski M., Toth I. Oral delivery of nanoparticle-based vaccines. *Expert Rev. Vaccines.* 2014; 13(11):1361–76. DOI: 10.1586/14760584.2014.936852.
11. Kunisawa J., Kurashima Y., Kiyono H. Gut-associated lymphoid tissues for the development of oral vaccines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64(6):523–30. DOI: 10.1016/j.addr.2011.07.003.
12. Ensign L.M., Cone R., Hanes J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64(6):557–70. DOI: 10.1016/j.addr.2011.12.009.
13. Mowat A.M., Agace W.W. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2014; 14(10):667–85. DOI: 10.1038/nri3738.
14. Cruz L.J., Tacke P.J., Rueda F., Domingo J.C., Albericio F., Figdor C.G. Targeting nanoparticles to dendritic cells for immunotherapy. *Methods Enzymol.* 2012; 509:143–63. DOI: 10.1016/B978-0-12-391858-1.00008-3.
15. Jepson M.A., Clark M.A., Hirst B.H. M cell targeting by lectins: a strategy for mucosal vaccination and drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56(4):511–25. DOI: 10.1016/j.addr.2003.10.018.
16. Roth-Walter F., Bohle B., Schöll I., Untermayr E., Scheiner O., Boltz-Nitulescu G., Gabor F., Brayden D.J., Jensen-Jarolim E. Targeting antigens to murine and human M-cells with *Aleuria aurantia* lectin-functionalized microparticles. *Immunol. Lett.* 2005; 100(2):182–8. DOI: 10.1016/j.imlet.2005.03.020.
17. Hase K., Kawano K., Nochi T., Pontes G.S., Fukuda S., Ebisawa M., Kadokura K., Tobe T., Fujimura Y., Kawano S., Yabashi A., Waguri S., Nakato G., Kimura S., Murakami T., Iimura M., Hamura K., Fukuoka S., Lowe A.W., Itoh K., Kiyono H., Ohno H. Uptake through glycoprotein 2 of FimH(+) bacteria by M cells initiates mucosal immune response. *Nature.* 2009; 462(7270):226–30. DOI: 10.1038/nature08529.
18. Garinot M., Fiévez V., Pourcelle V., Stoffelbach F., des Rieux A., Plapied L., Theate I., Freichels H., Jérôme C., Marchand-Brynaert J., Schneider Y.J., Prêat V. PEGylated PLGA-based nanoparticles targeting M cells for oral vaccination. *J. Control. Release.* 2007; 120(3):195–204. DOI: 10.1016/j.jconrel.2007.04.021.
19. Tyrer P., Foxwell A.R., Cripps A.W., Apicella M.A., Kyd J.M. Microbial pattern recognition receptors mediate M-cell uptake

- of a gram-negative bacterium. *Infect. Immun.* 2006; 74(1):625–31. DOI: 10.1128/IAI.74.1.625-631.2006.
20. Nochi T., Yuki Y., Matsumura A., Mejima M., Terahara K., Kim D.Y., Fukuyama S., Iwatsuki-Horimoto K., Kawaoka Y., Kohda T., Kozaki S., Igarashi O., Kiyono H. A novel M cell-specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses. *J. Exp. Med.* 2007; 204(12):2789–96. DOI: 10.1084/jem.20070607.
21. Payne K.J., Crooks G.M. Immune-cell lineage commitment: translation from mice to humans. *Immunity.* 2007; 26(6):674–7. DOI: 10.1016/j.immuni.2007.05.011.
22. Fievez V., Plapied L., Plaideu C., Legendre D., des Rieux A., Pourcelle V., Freichels H., Jérôme C., Marchand J., Prêat V., Schneider Y.J. *In vitro* identification of targeting ligands of human M cells by phage display. *Int. J. Pharm.* 2010; 394(1–2):35–42. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2010.04.023.
23. Vela Ramirez J.E., Sharpe L.A., Peppas N.A. Current state and challenges in developing oral vaccines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017; 114:116–31. DOI: 10.1016/j.addr.2017.04.008.
24. Franchi L., Amer A., Body-Malapel M., Kanneganti T.D., Ozören N., Jagirdar R., Inohara N., Vandenabeele P., Bertin J., Coyle A., Grant E.P., Núñez G. Cytosolic flagellin requires Ipaf for activation of caspase-1 and interleukin 1 β in salmonella-infected macrophages. *Nat. Immunol.* 2006; 7(6):576–82. DOI: 10.1038/ni1346.
25. Uematsu S., Fujimoto K., Jang M.H., Yang B.G., Jung Y.J., Nishiyama M., Sato S., Tsujimura T., Yamamoto M., Yokota Y., Kiyono H., Miyasaka M., Ishii K.J., Akira S. Regulation of humoral and cellular gut immunity by lamina propria dendritic cells expressing Toll-like receptor 5. *Nat. Immunol.* 2008; 9(7):769–76. DOI: 10.1038/ni.1622.
26. Zhu Q., Talton J., Zhang G., Cunningham T., Wang Z., Waters R.C., Kirk J., Eppler B., Klinman D.M., Sui Y., Gagnon S., Belyakov I.M., Mumper R.J., Berzofsky J.A. Large intestine-targeted, nanoparticle-releasing oral vaccine to control genitoretal viral infection. *Nat. Med.* 2012; 18(8):1291–6. DOI: 10.1038/nm.2866.
27. Holmgren J., Czerkinsky C. Mucosal immunity and vaccines. *Nat. Med.* 2005; 11(4 Suppl.):S45–53. DOI: 10.1038/nm1213.
28. Sánchez J., Wallerström G., Fredriksson M., Angström J., Holmgren J. Detoxification of cholera toxin without removal of its immunoadjuvanticity by the addition of (STa-related) peptides to the catalytic subunit. A potential new strategy to generate immunostimulants for vaccination. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(36):33369–77. DOI: 10.1074/jbc.M112337200.
29. Jazayeri S.D., Poh C.L. Development of universal influenza vaccines targeting conserved viral proteins. *Vaccines (Basel).* 2019; 7(4):169. DOI: 10.3390/vaccines7040169.
30. Silva A.L., Soema P.C., Slütter B., Ossendorp F., Jiskoot W. PLGA particulate delivery systems for subunit vaccines: Linking particle properties to immunogenicity. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2016; 12(4):1056–69. DOI: 10.1080/21645515.2015.1117714.
31. Wang D., Xu J., Feng Y., Liu Y., Mchenga S.S., Shan F., Sasaki J., Lu C. Liposomal oral DNA vaccine (mycobacterium DNA) elicits immune response. *Vaccine.* 2010; 28(18):3134–42. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.02.058.
32. Poorhassan F., Nemati F., Saffarian P., Mirhosseini S.A., Motamedi M.J. Design of a chitosan-based nano vaccine against epsilon toxin of *Clostridium perfringens* type D and evaluation of its immunogenicity in BALB/c mice. *Res. Pharm. Sci.* 2021; 16(6):575–85. DOI: 10.4103/1735-5362.327504.
33. Kang S.H., Hong S.J., Lee Y.K., Cho S. Oral vaccine delivery for intestinal immunity-biological basis, barriers, delivery system, and M cell targeting. *Polymers (Basel).* 2018; 10(9):948. DOI: 10.3390/polym10090948.
34. Шаров Д.А., Лещенко А.А., Багин С.В., Логвинов С.В., Мохов Д.А., Ежов А.В., Лазыкин А.Г., Крупин В.В., Косенков И.В. Усовершенствование технологии концентрирования микробных клеток в производстве вакцины чумной живой, таблетки для рассасывания. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 4:139–45. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-139-145.
35. Holmgren J., Svennerholm A.M., Jertborn M., Clemens J., Sack D.A., Salenstedt R., Wiggzell H. An oral B subunit: whole cell vaccine against cholera. *Vaccine.* 1992; 10(13):911–4. DOI: 10.1016/0264-410x(92)90324-d.
36. Freedman D.O. Re-born in the USA: Another cholera vaccine for travellers. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14(4):295–6. DOI: 10.1016/j.tmaid.2016.07.008.
37. Herzog C. Successful comeback of the single-dose live oral cholera vaccine CVD 103-HgR. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14(4):373–7. DOI: 10.1016/j.tmaid.2016.07.003.
38. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Щуковская Т.Н., Смирнова Н.И., Никифоров А.К., Еремин С.А., Топорков В.П. Специфическая профилактика холеры в современных условиях. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2011; 1:5–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-5-12.
39. Shaikh H., Lynch J., Kim J., Excler J.L. Current and future cholera vaccines. *Vaccine.* 2020; 38(Suppl. 1):A118–A126. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.12.011.
40. Germanier R., Fürer E. Isolation and characterization of Gal E mutant Ty 21a of *Salmonella typhi*: a candidate strain for a live, oral typhoid vaccine. *J. Infect. Dis.* 1975; 131(5):553–8. DOI: 10.1093/infdis/131.5.553.
41. Cohen D., Green M.S., Block C., Slepon R., Ofek I. Prospective study of the association between serum antibodies to lipopolysaccharide O antigen and the attack rate of shigellosis. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29(2):386–9. DOI: 10.1128/jcm.29.2.386-389.1991.
42. Kotloff K.L., Pasetti M.F., Barry E.M., Nataro J.P., Wasserman S.S., Sztein M.B., Picking W.D., Levine M.M. Deletion in the *Shigella* enterotoxin genes further attenuates *Shigella flexneri* 2a bearing guanidine auxotrophy in a phase I trial of CVD 1204 and CVD 1208. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(10):1745–54. DOI: 10.1086/424680.
43. McKenzie R., Walker R.I., Nabors G.S., Van De Verg L.L., Carpenter C., Gomes G., Forbes E., Tian J.H., Yang H.H., Pace J.L., Jackson W.J., Bourgeois A.L. Safety and immunogenicity of an oral, inactivated, whole-cell vaccine for *Shigella sonnei*: preclinical studies and a Phase I trial. *Vaccine.* 2006; 24(18):3735–45. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.07.014.
44. Sagi S., Konduru B., Parida M. Heterologous expression of Intimin and IpaB fusion protein in *Lactococcus lactis* and its mucosal delivery elicit protection against pathogenicity of *Escherichia coli* O157 and *Shigella flexneri* in a murine model. *Int. Immunopharmacol.* 2020; 85:106617. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106617.
45. Harutyunyan S., Neuhauser I., Mayer A., Aichinger M., Szijártó V., Nagy G., Nagy E., Girardi P., Malinoski F.J., Henics T. Characterization of ShigE/TEC, a novel live attenuated combined vaccine against *Shigellae* and ETEC. *Vaccines (Basel).* 2020; 8(4):689. DOI: 10.3390/vaccines8040689.
46. Walker R.I. An assessment of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Shigella* vaccine candidates for infants and children. *Vaccine.* 2015; 33(8):954–65. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.11.049.
47. Harro C., Sack D., Bourgeois A.L., Walker R., DeNearing B., Feller A., Chakraborty S., Buchwaldt C., Darsley M.J. A combination vaccine consisting of three live attenuated enterotoxigenic *Escherichia coli* strains expressing a range of colonization factors and heat-labile toxin subunit B is well tolerated and immunogenic in a placebo-controlled double-blind phase I trial in healthy adults. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(12):2118–27. DOI: 10.1128/CVI.05342-11.
48. Seo H., Garcia C., Ruan X., Duan Q., Sack D.A., Zhang W. Preclinical characterization of immunogenicity and efficacy against diarrhea from MecVax, a multivalent enterotoxigenic *E. coli* vaccine candidate. *Infect. Immun.* 2021; 89(7):e0010621. DOI: 10.1128/IAI.00106-21.
49. Arshadi N., Mousavi Gargari S.L., Amani J., Nazarian S. Immunogenicity of inactivated *Escherichia coli* O157:H7 with Stx2B microparticle in mice. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2022; 25(9):1069–76. DOI: 10.22038/IJBMS.2022.63775.14053.
50. Zhang L., Chen X., Ren B., Zhou X., Cheng L. *Helicobacter pylori* in the oral cavity: current evidence and potential survival strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(21):13646. DOI: 10.3390/ijms232113646.
51. Chain P.S., Carniel E., Larimer F.W., Lamerdin J., Stoutland P.O., Regala W.M., Georgescu A.M., Vergez L.M., Land M.L., Motin V.L., Brubaker R.R., Fowler J., Hinnebusch J., Marceau M., Medigue C., Simonet M., Chenal-Francois V., Souza B., Dacheux D., Elliott J.M., Derbise A., Hauser L.J., Garcia E. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2004; 101(38):13826–31. DOI: 10.1073/pnas.0404012101.
52. Taylor V.L., Titball R.W., Oyston P.C.F. Oral immunization with a dam mutant of *Yersinia pseudotuberculosis* protects against plague. *Microbiology (Reading).* 2005; 151(Pt. 6):1919–26. DOI: 10.1099/mic.0.27959-0.
53. Simonet M., Berche P., Mazigh D., Veron M. Protection against *Yersinia* infection induced by non-virulence-plasmid-encoded antigens. *J. Med. Microbiol.* 1985; 20(2):225–31. DOI: 10.1099/00222615-20-2-225.
54. Quintard B., Petit T., Ruvoen N., Carniel E., Demeure C.E. Efficacy of an oral live vaccine for veterinary use against pseudotuberculosis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 33(6):e59–65. DOI: 10.1016/j.cimid.2009.12.001.
55. Blisnick T., Ave P., Huerre M., Carniel E., Demeure C.E. Oral vaccination against bubonic plague using a live avirulent *Yersinia pseudotuberculosis* strain. *Infect. Immun.* 2008; 76(8):3808–16. DOI: 10.1128/IAI.00034-08.
56. Derbise A., Cerdà Marin A., Ave P., Blisnick T., Huerre M., Carniel E., Demeure C.E. An encapsulated *Yersinia pseudotuberculosis* is a highly efficient vaccine against pneumonic plague. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(2):e1528. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001528.
57. Derbise A., Hanada Y., Khalifé M., Carniel E., Demeure C.E. Complete protection against pneumonic and bubonic plague after a single oral vaccination. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(10):e0004162. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004162.

58. Demeure C.E., Derbise A., Guillas C., Gerke C., Cauchemez S., Carniel E., Pizarro-Cerdá J. Humoral and cellular immune correlates of protection against bubonic plague by a live *Yersinia pseudotuberculosis* vaccine. *Vaccine*. 2019; 37(1):123–9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.11.022.
59. Sun W., Sanapala S., Rahav H., Curtiss R. 3rd. Oral administration of a recombinant attenuated *Yersinia pseudotuberculosis* strain elicits protective immunity against plague. *Vaccine*. 2015; 33(48):6727–35. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.10.074.
60. Majumder S., Olson R.M., Singh A., Wang X., Li P., Kittana H., Anderson P.E., Anderson D.M., Sun W. Protection induced by oral vaccination with a recombinant *Yersinia pseudotuberculosis* delivering *Yersinia pestis* LcrV and F1 antigens in mice and rats against pneumonic plague. *Infect. Immun.* 2022; 90(8):e0016522. DOI: 10.1128/iai.00165-22.
61. Zhang S., Chao L., She L., Sui H., Niu H., Chen Z., Li X., Zhai J. Ag85A, as an S2 vaccine carrier, reduces the toxicity of the S2 vaccine and enhances the protective ability of mice against *Brucella*. *J. Immunol. Res.* 2022; 2022:4686541. DOI: 10.1155/2022/4686541.
62. Mohamadzadeh M., Durmaz E., Zadeh M., Pakanati K.C., Gramarossa M., Cohran V., Klaenhammer T.R. Targeted expression of anthrax protective antigen by *Lactobacillus gasseri* as an anthrax vaccine. *Future Microbiol.* 2010; 5(8):1289–96. DOI: 10.2217/fmb.10.78.
- ## References
- Medunitsyn N.V., Katlinsky A.V., Vorslov L.O. [Vaccinology]. Moscow: "Practical Medicine"; 2022. 480 p.
 - Lycke N., Bemark M. Mucosal adjuvants and long-term memory development with special focus on CTA1-DD and other ADP-ribosylating toxins. *Mucosal Immunol.* 2010; 3(6):556–66. DOI: 10.1038/mi.2010.54.
 - Pietrzak B., Tomela K., Olejnik-Schmidt A., Mackiewicz A., Schmidt M. Secretory IgA in intestinal mucosal secretions as an adaptive barrier against microbial cells. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21(23):9254. DOI: 10.3390/ijms21239254.
 - Mowat A.M. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat. Rev. Immunol.* 2003; 3(4):331–41. DOI: 10.1038/nri1057.
 - Chen Y., Kuchroo V.K., Inobe J., Hafler D.A., Weiner H.L. Regulatory T cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science*. 1994; 265(5176):1237–40. DOI: 10.1126/science.7520605.
 - Groux H., O'Garra A., Bigler M., Rouleau M., Antonenko S., de Vries J.E., Roncarolo M.G. A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature*. 1997; 389(6652):737–42. DOI: 10.1038/39614.
 - Polanski M., Melican N.S., Zhang J., Weiner H.L. Oral administration of the immunodominant B-chain of insulin reduces diabetes in a co-transfer model of diabetes in the NOD mouse and is associated with a switch from Th1 to Th2 cytokines. *J. Autoimmun.* 1997; 10(4):339–46. DOI: 10.1006/jaut.1997.0148.
 - Thornton A.M., Shevach E.M. CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation *in vitro* by inhibiting interleukin 2 production. *J. Exp. Med.* 1998; 188(2):287–96. DOI: 10.1084/jem.188.2.287.
 - Kang S.H., Hong S.J., Lee Y.K., Cho S. Oral vaccine delivery for intestinal immunity-biological basis, barriers, delivery system, and M cell targeting. *Polymers (Basel)*. 2018; 10(9):948. DOI: 10.3390/polym10090948.
 - Marasini N., Skwarczynski M., Toth I. Oral delivery of nanoparticle-based vaccines. *Expert Rev. Vaccines*. 2014; 13(11):1361–76. DOI: 10.1586/14760584.2014.936852.
 - Kunisawa J., Kurashima Y., Kiyono H. Gut-associated lymphoid tissues for the development of oral vaccines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64(6):523–30. DOI: 10.1016/j.addr.2011.07.003.
 - Ensign L.M., Cone R., Hanes J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2012; 64(6):557–70. DOI: 10.1016/j.addr.2011.12.009.
 - Mowat A.M., Agace W.W. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2014; 14(10):667–85. DOI: 10.1038/nri3738.
 - Cruz L.J., Tacken P.J., Rueda F., Domingo J.C., Albericio F., Figdor C.G. Targeting nanoparticles to dendritic cells for immunotherapy. *Methods Enzymol.* 2012; 509:143–63. DOI: 10.1016/B978-0-12-391858-1.00008-3.
 - Jepson M.A., Clark M.A., Hirst B.H. M cell targeting by lectins: a strategy for mucosal vaccination and drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2004; 56(4):511–25. DOI: 10.1016/j.addr.2003.10.018.
 - Roth-Walter F., Bohle B., Schöll I., Untermayr E., Scheiner O., Boltz-Nitulescu G., Gabor F., Brayden D.J., Jensen-Jarolim E. Targeting antigens to murine and human M-cells with *Aleuria aurantia* lectin-functionalized microparticles. *Immunol. Lett.* 2005; 100(2):182–8. DOI: 10.1016/j.imlet.2005.03.020.
 - Hase K., Kawano K., Nochi T., Pontes G.S., Fukuda S., Ebisawa M., Kadokura K., Tobe T., Fujimura Y., Kawano S., Yabashi A., Waguri S., Nakato G., Kimura S., Murakami T., Iimura M., Hamura K., Fukuoka S., Lowe A.W., Itoh K., Kiyono H., Ohno H. Uptake through glycoprotein 2 of FimH(+) bacteria by M cells initiates mucosal immune response. *Nature*. 2009; 462(7270):226–30. DOI: 10.1038/nature08529.
 - Garinot M., Fiévez V., Pourcelle V., Stoffelbach F., des Rieux A., Plapied L., Theate I., Freichels H., Jérôme C., Marchand-Brynaert J., Schneider Y.J., Prét V. PEGylated PLGA-based nanoparticles targeting M cells for oral vaccination. *J. Control. Release*. 2007; 120(3):195–204. DOI: 10.1016/j.jconrel.2007.04.021.
 - Tyrer P., Foxwell A.R., Cripps A.W., Apicella M.A., Kyd J.M. Microbial pattern recognition receptors mediate M-cell uptake of a gram-negative bacterium. *Infect. Immun.* 2006; 74(1):625–31. DOI: 10.1128/IAI.74.1.625-631.2006.
 - Nochi T., Yuki Y., Matsumura A., Mejima M., Terahara K., Kim D.Y., Fukuyama S., Iwatsuki-Horimoto K., Kawaoka Y., Kohda T., Kozaki S., Igarashi O., Kiyono H. A novel M cell-specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses. *J. Exp. Med.* 2007; 204(12):2789–96. DOI: 10.1084/jem.20070607.
 - Payne K.J., Crooks G.M. Immune-cell lineage commitment: translation from mice to humans. *Immunity*. 2007; 26(6):674–7. DOI: 10.1016/j.immuni.2007.05.011.
 - Fiévez V., Plapied L., Plaideau C., Legendre D., des Rieux A., Pourcelle V., Freichels H., Jérôme C., Marchand J., Prét V., Schneider Y.J. *In vitro* identification of targeting ligands of human M cells by phage display. *Int. J. Pharm.* 2010; 394(1-2):35–42. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2010.04.023.
 - Vela Ramirez J.E., Sharpe L.A., Peppas N.A. Current state and challenges in developing oral vaccines. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2017; 114:116–31. DOI: 10.1016/j.addr.2017.04.008.
 - Franchi L., Amer A., Body-Malapel M., Kanneganti T.D., Özören N., Jagirdar R., Inohara N., Vandenabeele P., Bertin J., Coyle A., Grant E.P., Núñez G. Cytosolic flagellin requires IpaF for activation of caspase-1 and interleukin 1beta in salmonella-infected macrophages. *Nat. Immunol.* 2006; 7(6):576–82. DOI: 10.1038/ni1346.
 - Uematsu S., Fujimoto K., Jang M.H., Yang B.G., Jung Y.J., Nishiyama M., Sato S., Tsujimura T., Yamamoto M., Yokota Y., Kiyono H., Miyasaka M., Ishii K.J., Akira S. Regulation of humoral and cellular gut immunity by lamina propria dendritic cells expressing Toll-like receptor 5. *Nat. Immunol.* 2008; 9(7):769–76. DOI: 10.1038/ni.1622.
 - Zhu Q., Talton J., Zhang G., Cunningham T., Wang Z., Waters R.C., Kirk J., Eppler B., Klinman D.M., Sui Y., Gagnon S., Belyakov I.M., Mumper R.J., Berzofsky J.A. Large intestine-targeted, nanoparticle-releasing oral vaccine to control genitoretroviral infection. *Nat. Med.* 2012; 18(8):1291–6. DOI: 10.1038/nm.2866.
 - Holmgren J., Czerkinsky C. Mucosal immunity and vaccines. *Nat. Med.* 2005; 11(4 Suppl.):S45–53. DOI: 10.1038/nm1213.
 - Sánchez J., Wallerström G., Fredriksson M., Angström J., Holmgren J. Detoxification of cholera toxin without removal of its immunoadjuvanticity by the addition of (STA-related) peptides to the catalytic subunit. A potential new strategy to generate immunostimulants for vaccination. *J. Biol. Chem.* 2002; 277(36):33369–77. DOI: 10.1074/jbc.M112337200.
 - Jazayeri S.D., Poh C.L. Development of universal influenza vaccines targeting conserved viral proteins. *Vaccines (Basel)*. 2019; 7(4):169. DOI: 10.3390/vaccines7040169.
 - Silva A.L., Soema P.C., Slütter B., Ossendorp F., Jiskoot W. PLGA particulate delivery systems for subunit vaccines: Linking particle properties to immunogenicity. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2016; 12(4):1056–69. DOI: 10.1080/21645515.2015.1117714.
 - Wang D., Xu J., Feng Y., Liu Y., Mchenga S.S., Shan F., Sasaki J., Lu C. Liposomal oral DNA vaccine (mycobacterium DNA) elicits immune response. *Vaccine*. 2010; 28(18):3134–42. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.02.058.
 - Poorhassan F., Nemati F., Saffarian P., Mirhosseini S.A., Motamedi M.J. Design of a chitosan-based nano vaccine against epsilon toxin of *Clostridium perfringens* type D and evaluation of its immunogenicity in BALB/c mice. *Res. Pharm. Sci.* 2021; 16(6):575–85. DOI: 10.4103/1735-5362.327504.
 - Kang S.H., Hong S.J., Lee Y.K., Cho S. Oral vaccine delivery for intestinal immunity-biological basis, barriers, delivery system, and M cell targeting. *Polymers (Basel)*. 2018; 10(9):948. DOI: 10.3390/polym10090948.
 - Sharov D.A., Leshchenko A.A., Bagin S.V., Logvinov S.V., Mokhov D.A., Ezhov A.V., Lazykin A.G., Krupin V.V., Kosenkov I.V. [Improvement of microbial cell concentration technology in the production of live plague vaccine in the form of rodispersible tablets]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (4):139–45. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-139-145.
 - Holmgren J., Svennerholm A.M., Jertborn M., Clemens J., Sack D.A., Salenstedt R., Wigzell H. An oral B subunit: whole cell vaccine against cholera. *Vaccine*. 1992; 10(13):911–4. DOI: 10.1016/0264-410x(92)90324-d.

36. Freedman D.O. Re-born in the USA: Another cholera vaccine for travellers. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14(4):295–6. DOI: 10.1016/j.tmaid.2016.07.008.
37. Herzog C. Successful comeback of the single-dose live oral cholera vaccine CVD 103-HgR. *Travel Med. Infect. Dis.* 2016; 14(4):373–7. DOI: 10.1016/j.tmaid.2016.07.003.
38. Onishchenko G.G., Kutryev V.V., Shchukovskaya T.N., Smirnova N.I., Nikiforov A.K., Eremin S.A., Toporkov V.P. [Cholera specific prophylaxis in modern conditions]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2011; (1):5–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-5-12.
39. Shaikh H., Lynch J., Kim J., Excler J.L. Current and future cholera vaccines. *Vaccine*. 2020; 38(Suppl. 1):A118-A126. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.12.011.
40. Germanier R., Fuer E. Isolation and characterization of Gal E mutant Ty 21a of *Salmonella typhi*: a candidate strain for a live, oral typhoid vaccine. *J. Infect. Dis.* 1975; 131(5):553–8. DOI: 10.1093/infdis/131.5.553.
41. Cohen D., Green M.S., Block C., Slepon R., Ofek I. Prospective study of the association between serum antibodies to lipopolysaccharide O antigen and the attack rate of shigellosis. *J. Clin. Microbiol.* 1991; 29(2):386–9. DOI: 10.1128/jcm.29.2.386-389.1991.
42. Kotloff K.L., Pasetti M.F., Barry E.M., Nataro J.P., Wasserman S.S., Szein M.B., Picking W.D., Levine M.M. Deletion in the *Shigella* enterotoxin genes further attenuates *Shigella flexneri* 2a bearing guanine auxotrophy in a phase 1 trial of CVD 1204 and CVD 1208. *J. Infect. Dis.* 2004; 190(10):1745–54. DOI: 10.1086/424680.
43. McKenzie R., Walker R.I., Nabors G.S., Van De Verg L.L., Carpenter C., Gomes G., Forbes E., Tian J.H., Yang H.H., Pace J.L., Jackson W.J., Bourgeois A.L. Safety and immunogenicity of an oral, inactivated, whole-cell vaccine for *Shigella sonnei*: preclinical studies and a Phase I trial. *Vaccine*. 2006; 24(18):3735–45. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.07.014.
44. Sagi S., Konduru B., Parida M. Heterologous expression of Intimin and IpaB fusion protein in *Lactococcus lactis* and its mucosal delivery elicit protection against pathogenicity of *Escherichia coli* O157 and *Shigella flexneri* in a murine model. *Int. Immunopharmacol.* 2020; 85:106617. DOI: 10.1016/j.intimp.2020.106617.
45. Harutyunyan S., Neuhauser I., Mayer A., Aichinger M., Szijártó V., Nagy G., Nagy E., Girardi P., Málnoski F.J., Henics T. Characterization of ShigE_{TEC}, a novel live attenuated combined vaccine against *Shigellae* and ETEC. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8(4):689. DOI: 10.3390/vaccines8040689.
46. Walker R.I. An assessment of enterotoxigenic *Escherichia coli* and *Shigella* vaccine candidates for infants and children. *Vaccine*. 2015; 33(8):954–65. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.11.049.
47. Harro C., Sack D., Bourgeois A.L., Walker R., DeNearing B., Feller A., Chakraborty S., Buchwaldt C., Darsley M.J. A combination vaccine consisting of three live attenuated enterotoxigenic *Escherichia coli* strains expressing a range of colonization factors and heat-labile toxin subunit B is well tolerated and immunogenic in a placebo-controlled double-blind phase I trial in healthy adults. *Clin. Vaccine Immunol.* 2011; 18(12):2118–27. DOI: 10.1128/CVI.05342-11.
48. Seo H., Garcia C., Ruan X., Duan Q., Sack D.A., Zhang W. Preclinical characterization of immunogenicity and efficacy against diarrhea from MecVax, a multivalent enterotoxigenic *E. coli* vaccine candidate. *Infect. Immun.* 2021; 89(7):e0010621. DOI: 10.1128/IAI.00106-21.
49. Arshadi N., Mousavi Gargari S.L., Amani J., Nazarian S. Immunogenicity of inactivated *Escherichia coli* O157:H7 with Stx2B microparticle in mice. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2022; 25(9):1069–76. DOI: 10.22038/IJBMS.2022.63775.14053.
50. Zhang L., Chen X., Ren B., Zhou X., Cheng L. *Helicobacter pylori* in the oral cavity: current evidence and potential survival strategies. *Int. J. Mol. Sci.* 2022; 23(21):13646. DOI: 10.3390/ijms232113646.
51. Chain P.S., Carniel E., Larimer F.W., Lamerdin J., Stoutland P.O., Regala W.M., Georgescu A.M., Vergez L.M., Land M.L., Motin V.L., Brubaker R.R., Fowler J., Hinnebusch J., Marceau M., Medigue C., Simonet M., Chenal-Francisque V., Souza B., Dacheux D., Elliott J.M., Derbise A., Hauser L.J., Garcia E. Insights into the evolution of *Yersinia pestis* through whole-genome comparison with *Yersinia pseudotuberculosis*. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2004; 101(38):13826–31. DOI: 10.1073/pnas.0404012101.
52. Taylor V.L., Titball R.W., Oyston P.C.F. Oral immunization with a dam mutant of *Yersinia pseudotuberculosis* protects against plague. *Microbiology (Reading)*. 2005; 151(Pt. 6):1919–26. DOI: 10.1099/mic.0.27959-0.
53. Simonet M., Berche P., Mazigh D., Veron M. Protection against *Yersinia* infection induced by non-virulence-plasmid-encoded antigens. *J. Med. Microbiol.* 1985; 20(2):225–31. DOI: 10.1099/00222615-20-2-225.
54. Quintard B., Petit T., Ruvoen N., Carniel E., Demeure C.E. Efficacy of an oral live vaccine for veterinary use against pseudotuberculosis. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2010; 33(6):e59–65. DOI: 10.1016/j.cimid.2009.12.001.
55. Blisnick T., Ave P., Huerre M., Carniel E., Demeure C.E. Oral vaccination against bubonic plague using a live avirulent *Yersinia pseudotuberculosis* strain. *Infect. Immun.* 2008; 76(8):3808–16. DOI: 10.1128/IAI.00034-08.
56. Derbise A., Cerdà Marin A., Ave P., Blisnick T., Huerre M., Carniel E., Demeure C.E. An encapsulated *Yersinia pseudotuberculosis* is a highly efficient vaccine against pneumonic plague. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2012; 6(2):e1528. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001528.
57. Derbise A., Hanada Y., Khalifé M., Carniel E., Demeure C.E. Complete protection against pneumonic and bubonic plague after a single oral vaccination. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9(10):e0004162. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004162.
58. Demeure C.E., Derbise A., Guillas C., Gerke C., Cauchemez S., Carniel E., Pizarro-Cerdá J. Humoral and cellular immune correlates of protection against bubonic plague by a live *Yersinia pseudotuberculosis* vaccine. *Vaccine*. 2019; 37(1):123–9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2018.11.022.
59. Sun W., Sanapala S., Rahav H., Curtiss R. 3rd. Oral administration of a recombinant attenuated *Yersinia pseudotuberculosis* strain elicits protective immunity against plague. *Vaccine*. 2015; 33(48):6727–35. DOI: 10.1016/j.vaccine.2015.10.074.
60. Majumder S., Olson R.M., Singh A., Wang X., Li P., Kittana H., Anderson P.E., Anderson D.M., Sun W. Protection induced by oral vaccination with a recombinant *Yersinia pseudotuberculosis* delivering *Yersinia pestis* LcrV and F1 antigens in mice and rats against pneumonic plague. *Infect. Immun.* 2022; 90(8):e0016522. DOI: 10.1128/iai.00165-22.
61. Zhang S., Chao L., She L., Sui H., Niu H., Chen Z., Li X., Zhai J. Ag85A, as an S2 vaccine carrier, reduces the toxicity of the S2 vaccine and enhances the protective ability of mice against *Brucella*. *J. Immunol. Res.* 2022; 2022:4686541. DOI: 10.1155/2022/4686541.
62. Mohamadzadeh M., Durmaz E., Zadeh M., Pakanati K.C., Gramarossa M., Cohran V., Klaenhammer T.R. Targeted expression of anthrax protective antigen by *Lactobacillus gasseri* as an anthrax vaccine. *Future Microbiol.* 2010; 5(8):1289–96. DOI: 10.2217/fmb.10.78.

Authors:

Svetoch T.E., Trunyakova A.S., Dentovskaya S.V. State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology. 24 “Block A” Territory, Obolensk, urban district Serpukhov, Moscow Region, 142279, Russian Federation. E-mail: info@obolensk.org.

Об авторах:

Светоч Т.Э., Трунякова А.С., Дентовская С.В. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. Российская Федерация, 142279, Московская область, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24. E-mail: info@obolensk.org.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-62-69

УДК 616.932:612.017.4

Л.П. Алексеева, О.А. Якушева, В.В. Евдокимова, М.Г. Мелоян, В.П. Зюзина

Продукция холерного токсина и его локализация в составе везикул геновариантов *Vibrio cholerae* El Tor

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

Цель работы – оценить уровень токсинопродукции геновариантов *Vibrio cholerae* El Tor и определить локализацию холерного токсина в составе везикул. **Материалы и методы.** В работе использовали типичные штаммы и геноварианты *V. cholerae* El Tor, жидкие питательные среды: АК1 и среду по прописи J. Hyan, – обеспечивающие высокую токсинопродукцию в условиях аэрации. Обеззараженные супернатанты исследуемых штаммов служили источником выделения препаратов холерного токсина и мембранных везикул. Определение локализации холерного токсина (ХТ), внутри или на внешней поверхности везикул, осуществляли с помощью различных методов: ПААГ-электрофорез, иммуноблот, GM1-ИФА, непрямой неконкурентный ИФА, модель культуры клеток СНО-K1, HuTu 80. **Результаты и обсуждение.** Из супернатантов типичного и геновариантов *V. cholerae* El Tor, обладающих высоким уровнем токсинопродукции, выделены препараты везикул, содержащие в своем составе холерный токсин. После разделения везикул с помощью ПААГ-электрофореза, а затем иммуноблота со специфической антитоксической сывороткой установлено, что холерный токсин сохраняет полную структуру, включая обе субъединицы. В отличие от ХТ, секретируемого в среду культивирования, везикулоассоциированный не связывается как с рецептором GM1 ганглиозидов, сенсibilизированных на планшетах, так и GM1 на клеточных культурах, что свидетельствует об его отсутствии на внешней поверхности везикул. Положительная реакция в GM1-ИФА специфических антитоксических антител с везикулами, после их деградации ЭДТА, предполагает локализацию ХТ в полости везикул. Отсутствие токсина на внешней поверхности везикул у типичных и штаммов геновариантов *V. cholerae* El Tor исключает его связь с GM1-рецептором и позволяет предположить возможность их проникновения в клетки-мишени GM1-независимым путем. Выбор пути, по которому происходит передача везикулоассоциированного токсина в клетки-хозяева, обусловлен, вероятно, его местонахождением, т.е. связан он с внутренними структурами везикул или локализован на их поверхности.

Ключевые слова: холерный вибрион, холерный токсин, везикулы.

Корреспондирующий автор: Алексеева Людмила Павловна, e-mail: lpalekseeva1@yandex.ru.

Для цитирования: Алексеева Л.П., Якушева О.А., Евдокимова В.В., Мелоян М.Г., Зюзина В.П. Продукция холерного токсина и его локализация в составе везикул геновариантов *Vibrio cholerae* El Tor. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 2:62–69. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-62-69
Поступила 16.01.2024. Отправлена на доработку 09.02.2024. Принята к публ. 26.02.2024.

L.P. Alekseeva, O.A. Yakusheva, V.V. Evdokimova, M.G. Meloyan, V.P. Zyuzina

Cholera Toxin Production and Localization in Vesicles of *Vibrio cholerae* El Tor Genovariants

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

Abstract. The aim was to assess the level of toxin production in *Vibrio cholerae* El Tor genovariants and to determine the localization of cholera toxin in vesicles. **Materials and methods.** The work is performed on typical strains and genovariants of *V. cholerae* El Tor, which were grown in AKI liquid nutrient medium and the one prepared according to J. Hyan recipe, providing for high toxin production under aeration conditions. The decontaminated supernatants of the studied strains served as a source for extraction of toxin preparations and membrane vesicles. The localization of cholera toxin inside or on the outer surface of vesicles was determined through polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE), immunoblotting, GM1-ELISA, indirect uncompetitive ELISA, cell culture models CHO-K1, HuTu 80. **Results and discussion.** Vesicle preparations containing cholera toxin have been isolated from the supernatants of genovariants and typical *V. cholerae* El Tor with a high level of toxin production. After separation of the vesicles using PAGE, followed by immunoblot with a specific antitoxic serum, it has been found that cholera toxin retains the complete structure, including both subunits. Unlike CT secreted into the culture medium, vesicle-associated one does not bind to both the GM1 receptor of gangliosides sensitized on plates and on the surface of cell cultures, which indicates its absence on the outer surface of vesicles. The location of CT in the cavity of vesicles is also evidenced by their positive reaction with specific antitoxic antibodies after degradation of EDTA. The absence of the toxin on the outer surface of vesicles in typical strains and strains of *V. cholerae* El Tor genovariants excludes its binding with the GM1 receptor and suggests the possibility of their penetration into target cells via GM-independent pathways. The choice of the pathways by which the vesicle-associated toxin is transferred to host cells is probably determined by the location of the toxin, i.e. it is associated with the internal structures of vesicles or placement on their surface.

Key words: *Vibrio cholerae*, cholera toxin, vesicles.

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

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

Corresponding author: Lyudmila P. Alekseeva, e-mail: lpalekseeva1@yandex.ru.

Citation: Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Evdokimova V.V., Meloyan M.G., Zyuzina V.P. Cholera Toxin Production and Localization in Vesicles of *Vibrio cholerae* El Tor Genovariants. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:62–69. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-62-69
Received 16.01.2024. Revised 09.02.2024. Accepted 26.02.2024.

Alekseeva L.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9866-3579>
Yakusheva O.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8159-7547>
Evdokimova V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5522-9097>

Meloyan M.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7268-9298>
Zyuzina V.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3100-0049>

В настоящее время ведущая роль в этиологии холеры, как известно, принадлежит генетически измененным штаммам холерных вибрионов, отличающимся повышенной токсинопродукцией, высокой колонизирующей способностью, значительным повреждением слизистой кишечника и воспалительными процессами [1]. Полагают, что этот феномен зависит от особенностей экспрессии генов холерного токсина (ХТ), возможно, также от способов его секреции и доставки к клеткам-мишеням. Такая точка зрения на сегодняшний день обусловлена тем, что в отношении значительного числа патогенных бактерий установлен факт включения токсинов в везикулы наружных мембран (ВНМ), но при этом сведения о способах их доставки к клеткам-хозяевам крайне малочисленны. Среди описанных вариантов везикулоассоциированных токсинов, для которых определены способы доставки, известны следующие: шига-токсин *Shigella dysenteriae* серотип 1 [2], термолабильный токсин (LT), цитотоксин энтеротоксигенной *Escherichia coli* [3], токсин Vac A *Helicobacter pylori* [4]. В частности, для LT-токсина, имеющего структурное сходство с ХТ *Vibrio cholerae*, показано, что только после ассоциации токсина и липополисахарида (ЛПС) везикул становится возможной его доставка к клеткам-мишеням [3]. Для штаммов, продуцирующих шига-токсин, выявлено наличие его зрелой активной формы в составе везикул, которые проникают в эпителиальные клетки хозяина. При этом степень токсичности свободного и везикулоассоциированного токсина не установлена. Везикулярный транспорт имеет большие преимущества по сравнению с обычным, так как вещества, находящиеся внутри везикул (бактериальные ферменты, токсины), защищены от внешних протеаз чужеродного происхождения и антител хозяина мембраной, формирующей везикулу. В силу небольших размеров и определенного структурного устройства, включающего многие биологически активные вещества, в том числе и адгезины, играющие важную роль в колонизации, везикулы, проникая глубоко в ткани, куда не может проникнуть сам возбудитель, способствуют вхождению факторов вирулентности в клетки-мишени, обеспечивая развитие тяжелой интоксикации организма.

Холерный вибрион, подобно другим грамотрицательным бактериям, выделяет везикулы, представляющие собой отпочковывающиеся во внешнюю среду структуры диаметром 50–250 нм, состоящие из участков наружной мембраны с захватом части

периплазматического пространства. Анализ биохимических и функциональных характеристик везикул холерного вибриона показал, что они содержат мембранные белки, адгезины, ЛПС, иммуномодулирующие соединения, благодаря чему опосредуют проявление биологических и инвазивных свойств, являются причиной цитотоксичности, а также активируют иммунную систему макроорганизма [5, 6]. Недавние исследования E.S. Rasti *et al.* [7] в отношении штамма *V. cholerae* 569B (Inaba) показали, что биологически активный токсин, помимо свободной формы, выделяемой с помощью системы секреции 2-го типа (T2SS), может продуцироваться в виде везикулоассоциированной формы. В то же время данные опытов с использованием везикул, образуемых прототипными вибрионами Эль Тор (N16961 и C6706), позволили авторам констатировать, что ХТ может быть ассоциирован с их поверхностью или инкапсулирован внутри в виде фрагмента CtxA [8]. Локализация внутри везикул исключает связывание ХТ с GM1-рецептором клеток-мишеней, и в этом случае должен быть иной сайт связывания, чем GM1, что предполагает другой механизм секреции и доставки ХТ и необходимость его изучения для полного понимания патогенеза холерной инфекции.

Сведения об исследованиях в отношении везикулоассоциированного холерного токсина геновариантов вибрионов Эль Тор, выделенных в период последних волн эпидемического процесса, в доступной литературе отсутствуют.

Цель работы – оценить уровень токсинопродукции и определить локализацию холерного токсина в составе везикул у геновариантов *V. cholerae* El Tor.

Материалы и методы

Штаммы микроорганизмов. В работе использовали 8 штаммов геновариантов и 3 типичных холерных вибриона Эль Тор, полученных из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Все исследуемые штаммы были типичными по морфологическим, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам.

Для продукции токсина и везикул холерными вибрионами Эль Тор использовали специальные среды: АК1, предложенную M. Iwanaga *et al.* [9], и жидкую питательную среду, приготовленную по прописи J. Huan *et al.* [10]. Бактериальную массу после выращивания в течение 14 часов на термоста-

тируемом шуттель-аппарате Environmental Shaker-Incubator ES-20/60 при 120 об/мин обеззараживали мертиолятом натрия (1:10000), выдерживали сутки при +4 °С и затем делали высевы на специфическую стерильность. Для получения супернатантов обеззараженные бактериальные клетки удаляли центрифугированием в течение 20 мин при 8000 об/мин.

Выделение везикул наружных мембранных из супернатантов испытуемых штаммов проводили методом осаждения сульфатом аммония по методике И.В. Кудряковой и соавт. [11] с некоторыми модификациями. Полученные везикулы после предварительной подготовки просматривали в электронном микроскопе Jeol JEM-1011. Количественное определение белка в токсинсодержащих препаратах и везикулах проводили методом сравнения поглощения белков при длине волн 260–280 нм на приборе Bio-Rad Smart Spec Plus.

Определение уровня токсинопродукции холерных вибрионов Эль Тор. Исходным материалом для оценки уровня продукции ХТ служили обеззараженные супернатанты бульонных культур. Количество холерного токсина определяли с помощью иммуноферментного анализа GM1-ИФА по стандартной методике [12]. В качестве детектирующих антител использовали кроличью антитоксическую сыворотку и антитоксические моноклональные антитела, направленные к субъединице В. Положительным контролем служил препарат очищенного холерного токсина из штамма *V. cholerae* 569В, отрицательным – супернатант нетоксигенного штамма *V. cholerae* El Tor 14863. Для выделения токсина и последующей его очистки по методу, описанному ранее [13], были отобраны штаммы вибрионов Эль Тор с высокой токсинопродукцией.

Определение биологической активности препаратов холерного токсина и везикул на модели культуры клеток. Клеточные линии получены из Коллекции культур клеток позвоночных Института цитологии РАН, г. Санкт-Петербург, и хранятся в институте в криохранилище с жидким азотом. Все этапы работы с перевиваемыми линиями клеток выполнены в соответствии с рекомендациями [14]. Клетки СНО-К1 выращивали в среде Игла MEM с 10 % сыворотки плода коровы, 2 мМ глутамина и 50 мкг/мл гентамицина, NuTu 80 культивировали в среде DMEM с 10 % сыворотки плода коровы, 1 % NEAA, 2 мМ глутамина, 2 мМ пирувата и 50 мкг/мл гентамицина. Культивирование клеток проводили в CO₂-инкубаторе при 37 °С.

Клетки линий для тестирования токсина и везикул высевали в лунки 96-луночного планшета в дозе 5000 клеток/лунка. Разведения испытуемых образцов готовили в бессывороточной среде Игла MEM или DMEM и добавляли их к клеточным культурам в конечном объеме 100 мкл на лунку. Изменение морфологии клеточных культур, обусловленное токсином, подтверждали путем нейтрализации его действия специфическими антитоксическими анти-

телами. Токсический эффект оценивали с помощью инвертированного микроскопа Nikon Eclipse TS 200 (Япония), для снимков использовали камеру Nikon. Активность токсинсодержащих образцов определяли по четырехбалльной системе путем подсчета процента измененных клеток в лунках планшета.

Электрофорез белков и иммуноблоттинг. Электрофоретический анализ для разделения препаратов холерного токсина и везикул по молекулярной массе проводили по U.K. Laemmli [15]. Использовали белковые маркеры молекулярной массой от 14 до 120 кДа Blue Plus II Protein Marker (США) и для окраски белков на мембране – краситель Ponceau S (Reanal, Будапешт, Венгрия). Постановку иммуноблоттинга осуществляли по методу Н. Towbin *et al.* [16]. Иммуноанализ проводили после электрофоретического переноса белков с полиакриламидного геля (ПААГ) на мембрану PVDF (Bio-Rad, США). Перенос вели в течение 20 минут на приборе TransBlot Turbo (Bio-Rad, США). Холерный токсин выявляли кроличьей антитоксической сывороткой с помощью антикроличьевого пероксидазного конъюгата.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с помощью программы Microsoft Excel (Microsoft Office 2003). При анализе и обобщении результатов вычисляли среднюю арифметическую, стандартную ошибку средней арифметической ($P < 0,05$).

Результаты и обсуждение

В соответствии с поставленной целью первоначально необходимо было отобрать штаммы геновариантов вибрионов Эль Тор с высокой токсинопродукцией, чтобы использовать их для выделения токсина и получения препарата везикул. Испытуемые штаммы вибрионов Эль Тор культивировали в течение 14 часов в двух жидких питательных средах: одна по прописи J. Нуан, другая АК1, – поскольку их принято считать наиболее оптимальными для секреции и накопления токсина. В супернатантах, после удаления клеток, содержание токсина оценивали с помощью GM1-ИФА. Его количество определяли по калибровочной кривой относительно очищенного препарата ХТ 569В, который использовали также в качестве положительного контроля, отрицательным служил супернатант нетоксигенного штамма *V. cholerae* El Tor 14863.

Как видно из таблицы, наибольшая секреция токсина в среду культивирования порядка 0,49–0,98 мкг/мл зарегистрирована в отношении геновариантов *V. cholerae* El Tor 18367, 19188/2, 19667, являющихся представителями «предгаитянской», «гаитянской» и «постгаитянской» групп вибрионов. Более низкие показатели токсина в пределах 0,05–0,08 мкг/мл отмечены у типичных вибрионов Эль Тор. Кроме того, судя по сопоставимым величинам, сравнение двух сред не выявило значительных отли-

чий в продукции токсина исследуемыми штаммами. На следующем этапе из больших объемов обеззараженных супернатантов вибрионов геновариантов Эль Тор 19667, 19188/2, 18367 и типичного 1310 осуществляли выделение токсина и проводили его очистку с помощью метода, описанного ранее в нашей публикации [13]. Чистоту ХТ и наличие белков-контраминантов контролировали в 10%-м SDS-ПААГ [15]. Очищенные препараты токсинов имели одну полосу на уровне маркеров Мм 25–27 кДа, другую – в районе 10–12 кДа, что соответствует субъединицам А-ХТ и В-ХТ при отсутствии сопутствующих белков.

С помощью иммуноферментного анализа на основе моноклонального пероксидазного конъюгата, предназначенного для детекции ЛПС *V. cholerae* O1, установлено, что препараты ХТ не содержат примесей ЛПС.

Для определения местоположения токсина в составе везикул, т.е. локализован он внутри или ассоциирован с наружной поверхностью, получены их препараты. Из литературных источников следует, что геноварианты отличаются повышенной скоростью роста и логарифмическая фаза является оптимальной для получения значительных количеств везикул, так как переход в стационарную фазу сопро-

вождается гибелью клеток и снижением продукции везикул [17, 18]. Принимая во внимание показатели токсинопродукции и данные в отношении скорости роста геновариантов вибрионов Эль Тор, испытываемые штаммы 19667, 19188/2, 18367, 1310 выращивали в среде АКІ в течение 14 часов. Источником везикул наружных мембран служили обеззараженные супернатанты. Количественная оценка везикул, выделяемых исследуемыми штаммами, осуществлялась на основе определения тотального белка. Максимальная концентрация белка установлена в отношении штаммов 19667, 19188/2 и, как следствие, более высокий выход везикул. Для анализа препаратов, содержащих везикулы, использована методика негативного контрастирования. Визуальная оценка везикул в препаратах из разных штаммов показала, что они заполнены веществом с низкой электронной плотностью и диапазон их размеров колеблется от 50 до 200 нм. Как пример, на рис. 1 представлены данные электронной микроскопии везикул, образуемых штаммом 19667.

Наличие ХТ в составе везикул исследуемых геновариантов *V. cholerae* El Tor 19667, 18367, 19188/2 и типичного 1310 установлено в результате их разделения в ПААГ-электрофорезе, переноса на нитроцеллюлозную мембрану (НЦМ) и проведения им-

Продукция холерного токсина типичными штаммами и геновариантами холерных вибрионов биовара Эль Тор
Cholera toxin production by typical strains and genovariants of cholera vibrios of the El Tor biovar

№	Штаммы Strains	Год, источник и место выделения Year, source and site of isolation	Генетическая характеристика Genetic characterization	Количество ХТ, мкг/мл, при выращивании в ... Quantity of CT, µg/mL, when grown in ... media	
				АКІ	Hyan
<i>Vibrio cholerae</i> O1 серогруппы биовара Эль Тор <i>Vibrio cholerae</i> O1, biovar El Tor					
1	1310	1966, человек, Ирак 1966, patient, Iraq	<i>ctxB3, tcpA^{ET}, rtxA1</i> типичный / typical	0,06	0,08
2	5879	1972, человек, Ростовская обл. 1972, patient, Rostov Region	<i>ctxB3, tcpA^{ET}, rtxA1</i> типичный / typical	0,04	0,05
3	14863	1991, человек, Одесса 1991, patient, Odessa	<i>ctxA⁻, tcpA⁻</i> типичный / typical	–	–
4	18367	2001, вода, Ростов-на-Дону 2001, water sample, Rostov-on-Don	<i>ctx B1, tcpA^{ET}, rtxA1</i> «предгаитянский» / pre-Haitian	0,46	0,49
5	18847	2005, вода, Санкт-Петербург 2005, water sample, Saint-Petersburg	<i>ctx B1, tcpA^{ET}, rtxA1</i> «предгаитянский» / pre-Haitian	0,39	0,27
6	19613	2014, вода, Ростов-на-Дону 2014, water sample, Rostov-on-Don	<i>ctx B1, tcpA^{ET}, rtxA1, csh1⁻</i> «предгаитянский» / pre-Haitian	0,31	0,35
7	19187/2	2010, человек, Москва 2010, patient, Moscow	<i>ctxB7, tcpA^{CIRS}, rtxA4</i> «гаитянский» / Haitian	0,61	0,73
8	19188/2	2010, человек, Москва 2010, patient, Moscow	<i>ctxB7, tcpA^{CIRS}, rtxA4</i> «гаитянский» / Haitian	0,85	0,92
9	19191	2010, человек, Москва 2010, patient, Moscow	<i>ctxB7, tcpA^{CIRS}, rtxA4</i> «гаитянский» / Haitian	0,23	0,41
10	19242	2012, человек, Москва 2012, patient, Moscow	<i>ctxB7, tcpA^{CIRS}, rtxA4a</i> «постгаитянский» / post-Haitian	0,42	0,64
11	19667	2014, человек, Москва 2014, patient, Moscow	<i>ctxB7, tcpA^{CIRS}, rtxA4a, csh1⁻</i> «постгаитянский» / post-Haitian	0,98	0,76

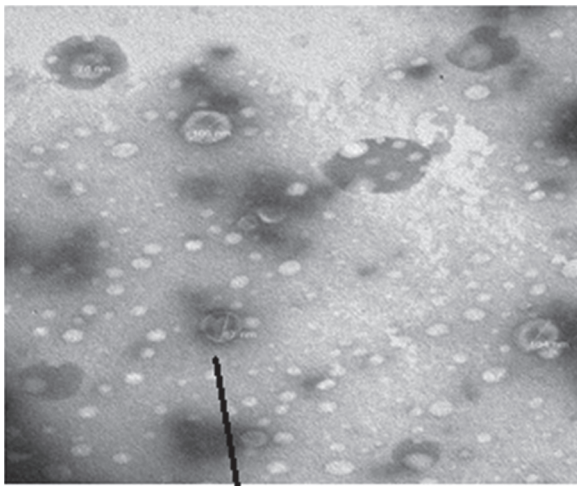


Рис. 1. Электронная микроскопия препаратов везикул штамма *V. cholerae* O1 El Tor № 19667, увеличение $\times 100000$

Fig. 1. Electron microscopy of vesicle preparations of *V. cholerae* O1 El Tor strain No. 19667, magnification $\times 100000$

муноблота со специфическими антитоксическими антителами. В итоге у препаратов везикул выявлена одна белковая полоса на уровне маркеров примерно 26 кДа, другая – в районе 11–12 кДа, что является свидетельством их принадлежности соответственно субъединицам А-ХТ и В-ХТ. С помощью ПААГ-электрофореза и иммуноблота удалось показать, что везикулы содержат обе субъединицы, и этот факт позволяет говорить о целостности структуры холерного токсина, связанного с везикулами (рис. 2).

В последующих экспериментах мы предприняли попытку ответить на вопрос, ассоциирован ХТ с внутренней или внешней поверхностью везикул. Как известно, после выхода из бактериальной

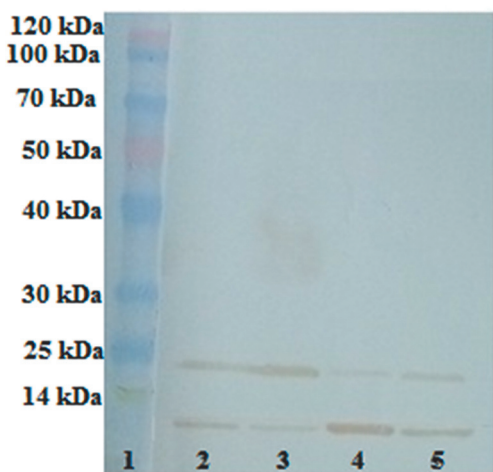


Рис. 2. Иммуноблоттинг препаратов везикул типичного штамма и геновариантов *V. cholerae* O1 El Tor:

1 – маркеры молекулярной массы; 2 – препарат везикул штамма 19188/2; 3 – препарат везикул штамма 19667; 4 – препарат везикул штамма 18367; 5 – препарат везикул штамма 1310

Fig. 2. Immunoblotting of vesicle preparations of a typical strain and genovariants of *V. cholerae* O1 El Tor:

1 – molecular weight markers; 2 – vesicle preparation of strain 19188/2; 3 – vesicle preparation of strain 19667; 4 – vesicle preparation of strain 18367; 5 – vesicle preparation of strain 1310

клетки секретируемый ХТ с помощью кольца субъединицы В связывается с ганглиозидом GM1 на поверхности клеток-хозяев или в модельных опытах – на клеточных линиях кишечника, и затем комплекс ХТ-GM1 подвергается эндоцитозу [19]. Очевидно, если токсин локализован в полости везикул, то он не может взаимодействовать с рецептором GM1 на клетках-мишенях, поэтому для проверки этого предположения мы использовали метод GM1-ИФА. Препараты ХТ из штаммов *V. cholerae* El Tor 19667, 18367, 19188/2, 1310 в концентрации 40 и 80 нг/лунка использовали в качестве положительного контроля. В лунки 96-луночного планшета, предварительно сенсibilизированного ганглиозидами, вносили указанные количества препарата ХТ и параллельно в аналогичных концентрациях везикулы. Как видно из рис. 3, препараты ХТ, выделенные из среды культивирования испытуемых штаммов, активно связывались с ганглиозидами, и подтверждение тому – положительная реакция с показателями оптической плотности (ОП) в пределах 0,6–1,4. В то же время при взаимодействии везикул с ганглиозидами значения ОП были на уровне отрицательного контроля, и эти данные дают основание предположить его внутреннюю локализацию. Об отсутствии токсина на поверхности говорит и тот факт, что после предварительной инкубации везикул с ганглиозидами не отмечено их связывания с GM1.

Наряду с GM1-ИФА был применен также непрямо конкурентный ИФА, который позволил получить дополнительные сведения в отношении местоположения токсина в структуре везикул. В лунки планшета, предварительно сенсibilизированные ганглиозидами, вносили везикулы, интактные и параллельно обработанные этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). Предварительная инкубация с 0,1 М ЭДТА для деградации везикул продолжалась в течение часа при 37 °С. Такой вариант ИФА предполагает, что антитоксические антитела взаимодействуют с открытыми доступными эпитопами ХТ, тогда как скрытые, замаскированные, не будут обнаружены. Как оказалось, интактные везикулы не связывались с антитоксическими антителами, и об этом свидетельствуют показатели ОП, сопоставимые со значениями отрицательного контроля. В то же время наблюдалась положительная реакция антитоксических антител с везикулами, предварительно обработанными ЭДТА, что указывает на демаскировку и доступность эпитопов ХТ для связывания с соответствующими им иммуноглобулинами. Данные, полученные с помощью метода неконкурентного ИФА, являются еще одним подтверждением локализации токсина штаммов *V. cholerae* O1 El Tor внутри везикул, а не на их поверхности.

Оценку биологической активности и интернализации препаратов везикул проводили одновременно на двух линиях культуры клеток: СНО-К1 и НуТу 80, – что позволило корректно сравнить полученные результаты. Просмотр в инвертированном

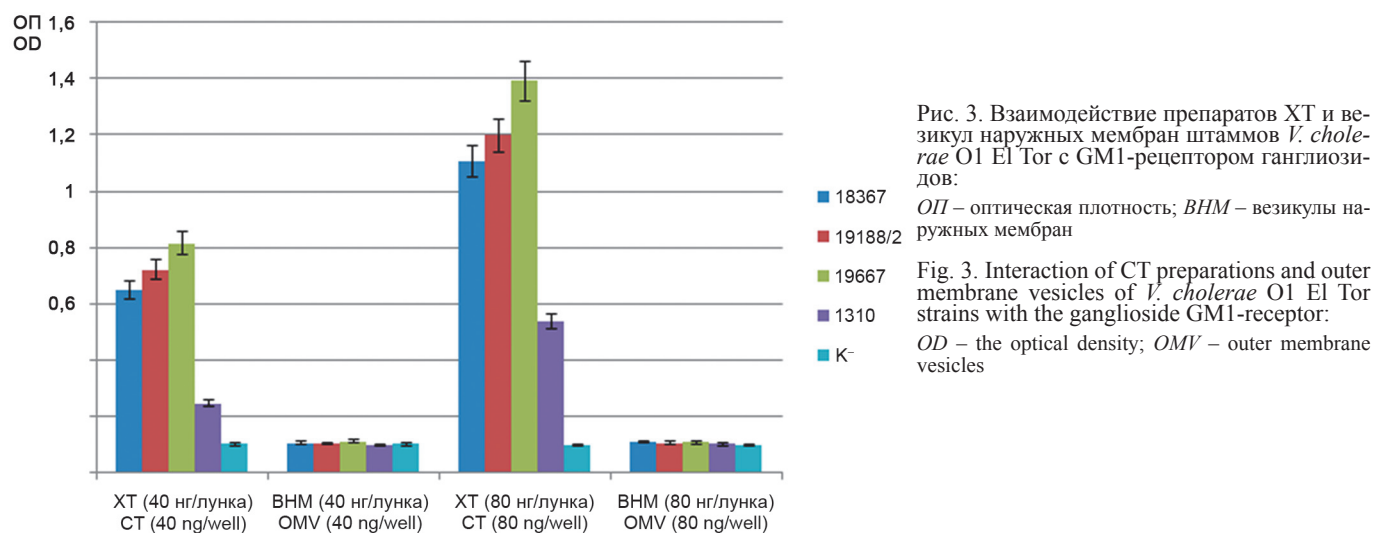


Рис. 3. Взаимодействие препаратов ХТ и везикул наружных мембран штаммов *V. cholerae* O1 El Tor с GM1-рецептором ганглиозидов:

ОП – оптическая плотность; ВММ – везикулы наружных мембран

Fig. 3. Interaction of CT preparations and outer membrane vesicles of *V. cholerae* O1 El Tor strains with the ganglioside GM1-receptor:

OD – the optical density; OMV – outer membrane vesicles

микроскопе планшетов с культурой клеток спустя сутки после внесения препаратов везикул показал изменение морфологии клеток обеих линий, что указывало на плотный контакт и взаимодействие везикул с клетками-мишенями (рис. 4). Морфологическая картина в виде удлинения клеток CHO-K1 и появление игольчатых отростков в культуре клеток HuTu 80 характерны для действия холерного токсина. Изменение морфологии клеток свидетельствует о том, что холерный токсин, локализованный в везикулах, биологически активен. В литературе описаны различные механизмы проникновения везикул в клетки-мишени и доставки ими своего содержимого. Например, везикулы *E. coli* на своей поверхности содержат термолабильный энтеротоксин (LT) и используют его как вектор для связывания с ганглиозидным рецептором GM1 и проникновения в клетку-мишень [3]. Холерный токсин по своей структуре, биологической активности, секреции через систему T2SS и распознаванию рецептора GM1 сходен с LT. Мы предположили возможность аналогичного механизма и для ХТ. Для этого препараты везикул и токсина предварительно инкубировали с ганглиозидами. Атипичная морфология клеток обеих линий,

характерная для действия холерного токсина, была зарегистрирована после их контакта с везикулами, предобработанными ганглиозидами. В контрольных лунках с холерным токсином после обработки ганглиозидами зафиксирована отрицательная реакция, так как его предварительное связывание с GM1-рецептором исключало взаимодействие с клеточными культурами и, как следствие, изменение их морфологии. Из результатов этого опыта следует, что, вероятно, токсинсодержащие везикулы проникают в клетки GM1-независимым путем.

Таким образом, для получения холерного токсина и везикул были отобраны штаммы – представители «предгаитянской», «гаитянской» и «постгаитянской» групп вибрионов Эль Тор, отличающиеся повышенной токсинопродукцией. Обеззараженные супернатанты исследуемых штаммов служили источником выделения этих препаратов. Электрофоретическое разделение везикул и иммуноблоттинг с помощью специфических антитоксических антител позволили выявить наличие в их составе холерного токсина, а именно на уровне 24–26 кДа обнаружена полоса, соответствующая субъединице А, другая полоса в районе 10–12 кДа соответствует субъединице В.

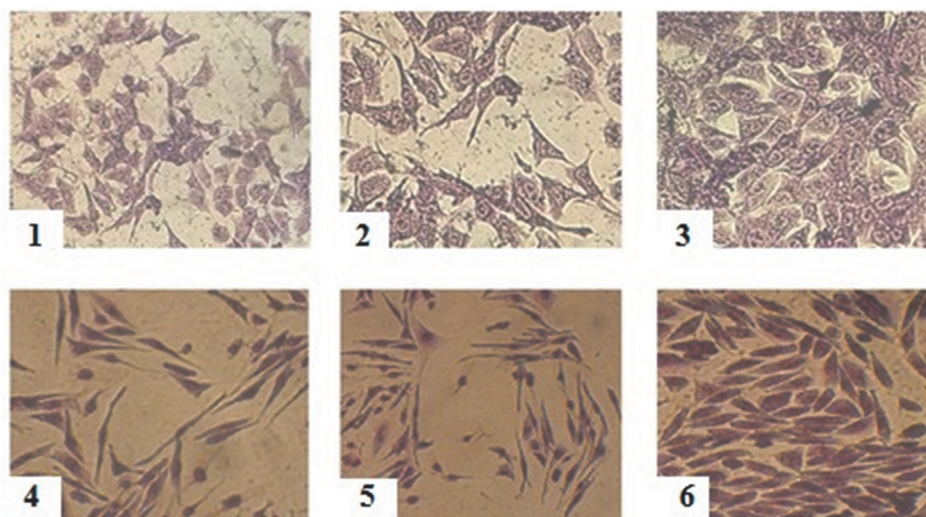


Рис. 4. Морфологические изменения культуры клеток CHO-K1 и HuTu 80 при действии препаратов токсинсодержащих везикул (увеличение 10×15, окраска по Романовскому – Гимзе):

1 – действие везикул на культуру клеток HuTu 80; 2 – действие ХТ на культуру клеток HuTu 80; 3 – культура клеток HuTu 80 (контроль); 4 – действие везикул на культуру клеток CHO-K1; 5 – действие ХТ на культуру клеток CHO-K1; 6 – культура клеток CHO-K1 (контроль)

Fig. 4. Morphological changes in CHO-K1 and HuTu 80 cell culture under the effect of toxin-containing vesicle preparations (Magnification 10×15, Romanovsky – Giemsa staining):

1 – effect of vesicles on HuTu 80 cell culture; 2 – effect of CT on HuTu 80 cell culture; 3 – HuTu 80 cell culture (control); 4 – effect of vesicles on CHO-K1 cell culture; 5 – effect of CT on CHO-K1 cell culture; 6 – CHO-K1 cell culture (control)

С помощью различных методов, включая GM1-ИФА, непрямого неконкурентного ИФА, модель культуры клеток СНО-K1 и NuTu 80, удалось определить местоположение холерного токсина в структуре везикул типичного и геновариантов вибрионов Эль Тор. Установлено, что везикулоассоциированный ХТ, в отличие от секретируемого, не связывается с рецептором GM1 ганглиозидов, сорбированных на пластике и расположенных на клеточных культурах, что является показателем его отсутствия на внешней поверхности и возможности внутренней локализации. Подтверждением расположения ХТ внутри везикул у типичного и штаммов геновариантов вибрионов Эль Тор является положительная реакция с антитоксическими антителами после разрушения везикул, поэтому вполне вероятно, что он проникает в клетки-мишени GM1-независимым путем, реализуя иные механизмы взаимодействия с рецепторами организма хозяина. Как известно, транспорт ХТ – основного фактора вирулентности холерного вибриона осуществляется через Sec-зависимую систему секреции 2-го типа. Передача в энтероциты свободного ХТ, а также локализованного на внешней поверхности везикул, может происходить в основном по GM1-зависимому пути через богатые холестерином липидные рафты [19]. По мнению ряда авторов, вполне возможно проникновение в эпителиальные клетки токсинов, связанных с везикулами, другими альтернативными путями: клатриновым или кавеолиновым [20, 21]. В то же время не исключено, что везикулы имеют специфические сайты узнавания эндоцитарных путей и способны использовать их для доставки своих грузов. Данные литературы [22, 23] свидетельствуют о сложности взаимодействия токсинсодержащих везикул с клетками-мишенями. Безусловно, решение этой проблемы связано с получением новых сведений, и поэтому необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

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. Савельева И.В., Куличенко А.Н., Савельев В.Н., Ковалев Д.А., Таран Т.В., Подопригора Е.И., Васильева О.В., Шапаков Н.А. Холера Эль-Тор на современном этапе седьмой пандемии: эволюция возбудителя, клинико-эпидемиологические особенности, лабораторная диагностика. *Инфекция и иммунитет*. 2021; 11(5):917–26. DOI: 10.15789/2220-7619-ETC-1476.
2. Dutta S., Iida K., Takade A., Meno Y., Nair G.B., Yoshida S. Release of Shiga toxin by membrane vesicles in *Shigella dysenteriae* serotype 1 strains and *in vitro* effects of antimicrobials on toxin production and release. *Microbiol. Immunol.* 2004; 48(12):965–9. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2004.tb03626.x.
3. Rueter C., Bielaszewska M. Secretion and delivery of intestinal pathogenic *Escherichia coli* virulence factors via outer membrane vesicles. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10:91. DOI: 10.3389/fcimb.2020.0009106.
4. Parker H., Chitcholtan K., Hampton M.B., Keenan J.I. Uptake of *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles by gastric epithelial cells. *Infect. Immun.* 2010; 78(12):5054–61. DOI: 10.1128/IAI.00299-10.

5. Caruana J.C., Walper S.A. Bacterial membrane vesicles as mediators of microbe – microbe and microbe – host community interactions. *Front. Microbiol.* 2020; 11:432. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00432.

6. Bitar A., Aung K.M., Wai S.N., Hammarström M.-L. *Vibrio cholerae* derived outer membrane vesicles modulate the inflammatory response of human intestinal epithelial cells by inducing microRNA-146a. *Sci. Rep.* 2019; 9(1):7212. DOI: 10.1038/s41598-019-43691-9.

7. Rasti E.S., Schappert M.L., Brown A.C. Association of *Vibrio cholerae* 569B outer membrane vesicles with host cells occurs in GM1-independent manner. *Cell. Microbiol.* 2018; 20(6):e12828. DOI: 10.1111/cmi.12828.

8. Rasti E.S., Brown A.C. Cholera toxin encapsulated within several *Vibrio cholerae* O1 serotype Inaba outer membrane vesicles lacks a functional B-subunit. *Toxins (Basel)*. 2019; 11(4):207. DOI: 10.3390/toxins11040207.

9. Iwanaga M., Kuyyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. *J. Clin. Microbiol.* 1987; 25(12):2314–6. DOI: 10.1128/jcm.25.12.2314-2316.1987.

10. Jang H., Kim H.S., Kim J.A., Seo J.H., Carbis R. Improved purification process for cholera toxin and its application to the quantification of residual toxin in cholera vaccines. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2009; 19(1):108–12.

11. Кудрякова И.В., Сузина Н.Е., Винокурова Н.Г., Шишкова Н.А., Васильева Н.В. Изучение факторов биогенеза везикул *Lysobacter* sp. XL1. *Биохимия*. 2017; 82(4):677–86.

12. Sack D.A., Huda S., Neogi P.K., Daniel R.R., Spira W.M. Microtiter ganglioside enzyme-linked immunosorbent assay for *Vibrio* and *Escherichia coli* heat-labile enterotoxins and antitoxins. *J. Clin. Microbiol.* 1980; 11(1):35–45. DOI: 10.1128/jcm.11.1.35-40.1980.

13. Алексеева Л.П., Якушева О.А., Зюзина В.П., Дуванова О.В., Шипко Е.С., Писанов Р.В. Современные методические приемы очистки холерного токсина. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова*. 2019; 15(1):5–9.

14. Фрешин Р.Я. Культура животных клеток. Практическое руководство. М.: Лаборатория знаний; 2018. 691 с.

15. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259):680–5. DOI: 10.1038/227680a0.

16. Towbin H., Gordon J. Immunoblotting and dot-immunoblotting – current status and outlook. *J. Immunol. Methods*. 1984; 72(2):313–40. DOI: 10.1016/0022-1759(84)90001-2.

17. Klimentová J., Stulík J. Methods of isolation and purification of outer membrane vesicles from gram-negative bacteria. *Microbiol. Res.* 2015; 170:1–9. DOI: 10.1016/j.micres.2014.09.006.

18. Заднова С.П., Крицкий А.А., Плеханов Н.А., Челдышова Н.Б., Смирнова Н.И. Сравнительный анализ адаптационных свойств типичных генетически измененных штаммов *Vibrio cholerae* биовара El Tor. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2019; 2:25–30. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-2-25-30.

19. Chinnapen D.J.-F., Chinnapen H., Saslowsky D., Lencer W.I. Rafting with cholera toxin: endocytosis and trafficking from plasma membrane to ER. *FEMS Microbiol. Lett.* 2007; 266(2):129–37. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2006.00545.x.

20. Rewatkar P.V., Parton R.G., Parekh H.S., Parat M.-O. Are caveolae a cellular entry route for non-viral therapeutic delivery systems? *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2015; 91:92–108. DOI: 10.1016/j.addr.2015.01.003.

21. El-Sayed A., Harashima H. Endocytosis of gene delivery vectors: from clathrin-dependent to lipid raft-mediated endocytosis. *Mol. Ther.* 2013; 21(6):1118–30. DOI: 10.1038/mt.2013.54.

22. O'Donoghue E.J., Krachler A.M. Mechanisms of outer membrane vesicle entry into host cells. *Cell. Microbiol.* 2016; 18(11):1508–17. DOI: 10.1111/cmi.12655.

23. Zingl F.G., Thapa H.B., Scharf M., Kohl P., Müller A.M., Schild S. Outer membrane vesicles of *Vibrio cholerae* protect and deliver active cholera toxin to host cells via porin-dependent uptake. *mBio*. 2021; 12(3):e0053421. DOI: 10.1128/mBio.00534-21.

References

1. Savelieva I.V., Kulichenko A.N., Saveliev V.N., Kovalev D.A., Taran T.V., Podopriгора E.I., Vasileva O.V., Shpakov N.A. [El Tor cholera at the contemporary stage of the seventh pandemic: pathogen evolution, clinical and epidemiological features, laboratory diagnostics]. *Infektsiya i Immunitet [Infection and Immunity]*. 2021; 11(5):917–26. DOI: 10.15789/2220-7619-ETC-1476.
2. Dutta S., Iida K., Takade A., Meno Y., Nair G.B., Yoshida S. Release of Shiga toxin by membrane vesicles in *Shigella dysenteriae* serotype 1 strains and *in vitro* effects of antimicrobials on toxin production and release. *Microbiol. Immunol.* 2004; 48(12):965–9. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2004.tb03626.x.

3. Rueter C., Bielaszewska M. Secretion and delivery of intestinal pathogenic *Escherichia coli* virulence factors via outer membrane vesicles. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10:91. DOI: 10.3389/fcimb.2020.0009106.
4. Parker H., Chitcholtan K., Hampton M.B., Keenan J.I. Uptake of *Helicobacter pylori* outer membrane vesicles by gastric epithelial cells. *Infect. Immun.* 2010; 78(12):5054–61. DOI: 10.1128/IAI.00299-10.
5. Caruana J.C., Walper S.A. Bacterial membrane vesicles as mediators of microbe – microbe and microbe – host community interactions. *Front. Microbiol.* 2020; 11:432. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00432.
6. Bitar A., Aung K.M., Wai S.N., Hammarström M.-L. *Vibrio cholerae* derived outer membrane vesicles modulate the inflammatory response of human intestinal epithelial cells by inducing microRNA-146a. *Sci. Rep.* 2019; 9(1):7212. DOI: 10.1038/s41598-019-43691-9.
7. Rasti E.S., Schappert M.L., Brown A.C. Association of *Vibrio cholerae* 569B outer membrane vesicles with host cells occurs in GM1-independent manner. *Cell. Microbiol.* 2018; 20(6):e12828. DOI: 10.1111/cmi.12828.
8. Rasti E.S., Brown A.C. Cholera toxin encapsulated within several *Vibrio cholerae* O1 serotype Inaba outer membrane vesicles lacks a functional B-subunit. *Toxins (Basel)*. 2019; 11(4):207. DOI: 10.3390/toxins11040207.
9. Iwanaga M., Kuyyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. *J. Clin. Microbiol.* 1987; 25(12):2314–6. DOI: 10.1128/jcm.25.12.2314-2316.1987.
10. Jang H., Kim H.S., Kim J.A., Seo J.H., Carbis R. Improved purification process for cholera toxin and its application to the quantification of residual toxin in cholera vaccines. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2009; 19(1):108–12.
11. Kudryakova I.V., Suzina N.E., Vinokurova N.G., Shishkova N.A., Vasil'eva N.V. [The study of factors of vesicle biogenesis *Lysobacter* sp. XL1]. *Biokhimiya [Biochemistry]*. 2017; 82(4): 677–86.
12. Sack D.A., Huda S., Neogi P.K., Daniel R.R., Spira W.M. Microtiter ganglioside enzyme-linked immunosorbent assay for *Vibrio* and *Escherichia coli* heat-labile enterotoxins and antitoxins. *J. Clin. Microbiol.* 1980; 11(1):35–45. DOI: 10.1128/jcm.11.1.35-40.1980.
13. Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Zyuzina V.P., Duvanova O.V., Shipko E.S., Pisanov R.V. [Modern methodological techniques for cholera toxin purification]. *[Bulletin of Biotechnology and Physical-Chemical Biology named after Yu.A. Ovchinnikov]*. 2019; 15(1):5–9.
14. Freshni R.Ya. [Animal Cell Culture. Practice Guidelines]. Moscow: "Knowledge Laboratory"; 2018. 691 p.
15. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259):680–5. DOI: 10.1038/227680a0.
16. Towbin H., Gordon J. Immunoblotting and dot-immunoblotting – current status and outlook. *J. Immunol. Methods*. 1984; 72(2):313–40. DOI: 10.1016/0022-1759(84)90001-2.
17. Klimentová J., Stulík J. Methods of isolation and purification of outer membrane vesicles from gram-negative bacteria. *Microbiol. Res.* 2015; 170:1–9. DOI: 10.1016/j.micres.2014.09.006.
18. Zadnova S.P., Kritsky A.A., Plekhanov N.A., Cheldyshova N.B., Smirnova N.I. [Comparative analysis of the adaptive properties of typical genetically altered strains of *Vibrio cholerae* biovar El Tor]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2019; (2):25–30. DOI: 10.36233/0372-9311-2019-2-25-30.
19. Chinnapen D.J.-F., Chinnapen H., Saslowsky D., Lencer W.I. Rafting with cholera toxin: endocytosis and trafficking from plasma membrane to ER. *FEMS Microbiol. Lett.* 2007; 266(2):129–37. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2006.00545.x.
20. Rewatkar P.V., Parton R.G., Parekh H.S., Parat M.-O. Are caveolae a cellular entry route for non-viral therapeutic delivery systems? *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2015; 91:92–108. DOI: 10.1016/j.addr.2015.01.003.
21. El-Sayed A., Harashima H. Endocytosis of gene delivery vectors: from clathrin-dependent to lipid raft-mediated endocytosis. *Mol. Ther.* 2013; 21(6):1118–30. DOI: 10.1038/mt.2013.54.
22. O'Donoghue E.J., Krachler A.M. Mechanisms of outer membrane vesicle entry into host cells. *Cell. Microbiol.* 2016; 18(11):1508–17. DOI: 10.1111/cmi.12655.
23. Zingl F.G., Thapa H.B., Scharf M., Kohl P., Müller A.M., Schild S. Outer membrane vesicles of *Vibrio cholerae* protect and deliver active cholera toxin to host cells via porin-dependent uptake. *mBio*. 2021; 12(3):e0053421. DOI: 10.1128/mBio.00534-21.

Authors:

Alekseeva L.P., Yakusheva O.A., Evdokimova V.V., Meloyan M.G., Zyuzina V.P. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40 M. Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Об авторах:

Алексева Л.П., Якушева О.А., Евдокимова В.В., Мелоян М.Г., Зюзина В.П. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-70-75

УДК 579.834.114

Н.В. Белкина, А.Г. Драгомерецкая, О.Е. Троценко, Т.А. Аушева

Видовое разнообразие возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов в клещах *Ixodes persulcatus* на территории Хабаровского края

ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии», Хабаровск, Российская Федерация

Цель работы – определить видовое разнообразие возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов в клещах *Ixodes persulcatus* на территории Хабаровского края. **Материалы и методы.** В течение эпидемического сезона (апрель – октябрь) 2017–2023 гг. исследовано 4751 удаленная после присасывания к человеку и 418 собранных с растительности на территории Хабаровского края особей *I. persulcatus* Schulze, 1930. Сбор иксодовых клещей проводили в бесснежный сезон 2021–2023 гг. в зеленых массивах г. Хабаровска, а также на территории Хабаровского района на флаг. В клещах методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени выявляли ДНК боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.) и *B. miyamotoi*. Дифференцировку видов боррелий в образцах, содержащих генетический материал *B. burgdorferi* s.l., осуществляли в два этапа. На первом этапе определяли наличие в пробе ДНК боррелий группы *B. garinii* s.l. (*B. garinii* + *B. bavariensis*) и ДНК *B. afzelii*. На втором этапе позитивные образцы *B. garinii* s.l. были дифференцированы на *B. garinii sensu stricto* (s.s.) и *B. bavariensis*. **Результаты и обсуждение.** В напивавшихся клещах генетический материал *B. burgdorferi* s.l. выявлен в 45,7 % случаев, ДНК *B. miyamotoi* обнаружена в 7,2 % проб. В клещах, собранных с растительности, ДНК *B. burgdorferi* s.l. выявлена в 38,0 % случаев. При дальнейшем изучении генетический материал *B. afzelii* и боррелий группы *B. garinii* s.l. определен в 47,2 % случаях для обоих возбудителей. Внутри группы *B. garinii* s.l. ДНК *B. bavariensis* выявлена в 18,6 %, *B. garinii* s.s. – в 8 % проб, при этом микст-инфицирование отмечено в 53,3 % случаев. Показатель инфицированности *B. afzelii* клещей *I. persulcatus* оказался существенно выше такового для *B. garinii* s.s. и *B. bavariensis*, при этом статистически значимых различий показателей инфицированности клещей *B. garinii* s.s. и *B. bavariensis* не обнаружено.

Ключевые слова: иксодовые клещевые боррелиозы, *Ixodes persulcatus*, боррелии комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato*, боррелии группы *Borrelia garinii sensu lato*, полимеразная цепная реакция, *B. afzelii*, *B. garinii sensu stricto*, *B. bavariensis*.

Корреспондирующий автор: Белкина Надежда Владимировна, e-mail: hniem-poi.labke@bk.ru.

Для цитирования: Белкина Н.В., Драгомерецкая А.Г., Троценко О.Е., Аушева Т.А. Видовое разнообразие возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов в клещах *Ixodes persulcatus* на территории Хабаровского края. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 2:70–75. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-70-75
Поступила 13.02.2024. Принята к публ. 21.02.2024.

N.V. Belkina, A.G. Dragomeretskaya, O.E. Trotsenko, T.A. Ausheva

Species Diversity of Ixodidae Tick-Borne Borrelioses Agents in *Ixodes persulcatus* Ticks in the Territory of the Khabarovsk Region

Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Khabarovsk, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to determine the species diversity of the causative agents of Ixodidae tick-borne borrelioses in *Ixodes persulcatus* ticks in the Khabarovsk Territory. **Materials and methods.** During the epidemic season (April–October) 2017–2023, 4751 specimens of *I. persulcatus* Schulze, 1930, removed after attachment to humans and 418 ones collected from vegetation in the Khabarovsk Region, were studied. Ixodidae ticks were collected in the green areas of Khabarovsk city during the snowless season of 2021–2023, as well as in the territory of the Khabarovsk Region on the flag. DNA of the borrelia complex *Borrelia burgdorferi sensu lato* (s.l.) and *B. miyamotoi* was detected in ticks using real-time polymerase chain reaction (PCR). Differentiation of borrelia species in samples containing genetic material of *B. burgdorferi* s.l. was carried out in two stages. At the first stage, the presence of DNA from borrelia of the *B. garinii* s.l. group (*B. garinii* + *B. bavariensis*) and *B. afzelii* DNA was determined in the sample. At the second stage, positive samples of *B. garinii* s.l. were differentiated into *B. garinii sensu stricto* (s.s.) and *B. bavariensis*. **Results and discussion.** In engorged ticks, genetic material of *B. burgdorferi* s.l. was detected in 45.7 % of the cases, DNA of *B. miyamotoi* was identified in 7.2 % of samples. In ticks collected from vegetation, the DNA of *B. burgdorferi* s.l. was detected in 38.0 % of cases. Upon further study, the genetic material of *B. afzelii* and borrelia of the *B. garinii* s.l. group was identified in 47.2 % of cases for both pathogens. Within the group *B. garinii* s.l., DNA of *B. bavariensis* was detected in 18.6 %, *B. garinii* s.s. – in 8 % of samples, at the same time, mixed infection was noted in 53.3 % of cases. The infection rate with *B. afzelii* in *I. persulcatus* ticks turned out to be statistically significantly higher than that for *B. garinii* s.s. and *B. bavariensis*, thereat statistically significant differences in tick infection rates with *B. garinii* s.s. and *B. bavariensis* was not detected.

Key words: Ixodidae tick-borne borrelioses, *Ixodes persulcatus*, borrelia of the *Borrelia burgdorferi sensu lato* complex, borrelia group *Borrelia garinii sensu lato*, polymerase chain reaction, *B. afzelii*, *B. garinii sensu stricto*, *B. bavariensis*.

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

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

Corresponding author: Nadezhda V. Belkina, e-mail: hniem-poi.labke@bk.ru.

Citation: Belkina N.V., Dragomeretskaya A.G., Trotsenko O.E., Aushveva T.A. Species Diversity of Ixodidae Tick-Borne Borrelioses Agents in *Ixodes persulcatus* Ticks in the Territory of the Khabarovsk Region. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:70–75. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-70-75

Received 13.02.2024. Accepted 21.02.2024.

Trotsenko O.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3050-4472>

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) на Европейском континенте – самая распространенная из всех клещевых трансмиссивных инфекций (КТИ) со средневзвешенной заболеваемостью 22,6 случая на 100 тыс. населения в год [1]. Показатели заболеваемости значительно варьируют в зависимости от анализируемого географического района [2]. С 2018 г. нейроборрелиоз Лайма включен в список болезней, контролируемых ECDC (Европейский центр профилактики и контроля заболеваний) [3].

На территории Российской Федерации располагается большая часть мирового ареала возбудителей ИКБ. По данным официальной статистики, ежегодно количество заболевших ИКБ в РФ колеблется от 7 до 9 тыс. Высоким уровнем заболеваемости ИКБ населения характеризуются Ленинградская, Тверская, Ярославская, Костромская, Калининградская области, а также Уральский, Сибирский и Дальневосточный федеральные округа [4]. При этом зачастую диагноз устанавливается на основании эпидемиологического анамнеза (присасывание клеща) и наличия клинической симптоматики (мигрирующая эритема) без исследования удаленного клеща [5].

Изучение молекулярно-генетическими методами изолятов возбудителей ИКБ, проведенное в разных регионах России и сопредельных странах, выявило виды *Borrelia garinii* (подгрупп 20047 и NT29), *B. afzelii*, *B. lusitaniae*, *B. valaisiana* и *B. burgdorferi sensu stricto* (s.s.). Было показано, что повсеместное распространение и преимущественное эпидемиологическое значение в России имеют *B. garinii* и *B. afzelii*, для которых установлены основные переносчики и резервуарные хозяева. Штаммы изолированы от иксодовых клещей *Ixodes persulcatus*, *I. ricinus* и *I. trianguliceps*. Показано, что *B. garinii* встречается у трех видов переносчиков, а также у *I. pavlovskyi*; *B. bavariensis* – только у *I. persulcatus* и *I. trianguliceps* [6]. Необходимо отметить, что *I. trianguliceps* не имеет эпидемиологического значения, так как случаи его нападения на людей не описаны, но при этом вид играет роль в поддержании циркуляции возбудителей ИКБ в природных очагах.

S. Jahfari *et al.* высказали предположение, что генетическое разнообразие боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*B. burgdorferi* s.l.), обусловлено различием видового состава резервуарных хозяев. Так, циркуляция *B. burgdorferi* s.s. поддерживается в основном за счет позвоночных животных (птицы, грызуны, насекомоядные, хищники), *B. afzelii* – мелких млекопитающих, *B. garinii* – птиц, *B. bavariensis* – ежей [7].

Л.И. Багаутдинова и соавт. сообщали о том, что заболевание, диагностируемое как ИКБ в безэритемной форме, в большинстве случаев может вызывать-

ся *B. miyamotoi* [8]. В целом результаты исследований 2014–2022 гг. окончательно доказали существование отдельной этиологической формы ИКБ, вызываемого *B. miyamotoi*, и определили значимость этой инфекции наряду с другими КТИ [9].

В Хабаровском крае показатели заболеваемости ИКБ в 2010–2023 гг. составляли от 2,62 до 5,08 случая на 100 тыс. населения. Результаты исследований иксодовых клещей, собранных в 1999–2014 гг. на территории Хабаровского края, показали присутствие в регионе трех возбудителей ИКБ [2]. Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК и межгенных спейсеров 5S-23S рРНК выявил наличие в исследованных клещах генетического материала *B. garinii* азиатского NT29 (*B. garinii* s.s.) и европейского 20047 (*B. bavariensis*) типов, *B. afzelii* с идентичными штамму VS461 последовательностями у большинства изученных изолятов. Анализ последовательности локусов трех фрагментов 16S рРНК, генов *glpQ* и *pb6* показал, что все изученные изоляты *B. miyamotoi* принадлежали к азиатскому типу, идентичному штамму FR64b из Японии [2]. Исследования, проведенные в Хабаровском крае в 2015–2022 гг., свидетельствуют о циркуляции *B. miyamotoi* на территории края и доказывают роль возбудителя в инфекционной патологии населения [8].

Актуальность проблемы ИКБ на современном этапе обусловлена как ростом инфицированности клещей боррелиями, так и ростом заболеваемости населения. Несмотря на внедрение новых технологий лабораторной диагностики, верифицируется лишь часть инфекций, этиология ряда из них остается нерасшифрованной. ИКБ отличаются многообразием клинических проявлений и склонностью к затяжному рецидивирующему течению [10]. Известно, что патогенез заболеваний, вызываемых различными видами боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., многообразен [11, 12]. В связи с этим определение видов и генотипов возбудителей, циркулирующих в том или ином регионе, необходимо для своевременной диагностики заболеваний и способствует адекватному назначению терапии пациентам с ИКБ.

Цель работы – определить видовое разнообразие возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов в клещах *I. persulcatus* на территории Хабаровского края.

Материалы и методы

В течение эпидемического сезона (апрель – октябрь) 2017–2023 гг. с целью мониторинга инфицированности переносчиков КТИ исследовано 4751 напивавшихся *I. persulcatus* Schulze, 1930, удаленных после присасывания к человеку на тер-

ритории Хабаровского края. Также исследованы 418 особей *I. persulcatus*, собранных с растительности на территории г. Хабаровска и Хабаровского района. Сбор иксодовых клещей проводили в беснежный сезон 2021–2023 гг. в зеленых массивах г. Хабаровска, а также на территории Хабаровского района на флаг. Видовую принадлежность клещей рода *Ixodes* определяли по морфологическим признакам и с помощью видоспецифичной полимеразной цепной реакции (ПЦР), где в качестве мишени использовали митохондриальный ген первой субъединицы цитохром с-оксидазы *cox1*.

Гомогенизацию клещей проводили в гомогенизаторе TissueLyser LT (Германия). Клещей диспергировали в 250 мкл раствора для приготовления образцов (РПО). Выделение образцов суммарных нуклеиновых кислот из 100 мкл суспензии напивавшихся клещей проводили с использованием наборов серии «РеалБест» с последующей детекцией ДНК-маркера с использованием ПЦР-теста «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi sensu lato*», «РеалБест ДНК *Borrelia miyamotoi*» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия). Амплификацию нуклеиновых кислот проводили на термоциклере с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени CFX 96 (Bio-Rad, США).

Видовую идентификацию возбудителей ИКБ проводили в клещах рода *Ixodes* (n=418), собранных с растительности на территории Хабаровского края в 2022–2023 гг. Клещей диспергировали в 300 мкл РПО. Выделение образцов суммарных нуклеиновых кислот из 100 мкл суспензии клещей проводили с использованием наборов серии «РеалБест» с последующей детекцией ДНК-маркера с использованием ПЦР-теста «РеалБест ДНК *Borrelia burgdorferi sensu lato*» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Россия). Суспензии клещей, в которых выявили ДНК-маркер *B. burgdorferi* s.l., затем исследовали дополнительно. Суммарную фракцию нуклеиновых кислот выделяли из 100 мкл суспензии гомогенизированных клещей с использованием набора «Рибо-сорб»

(ООО «Интерлабсервис», Москва, Россия) согласно прилагаемой инструкции.

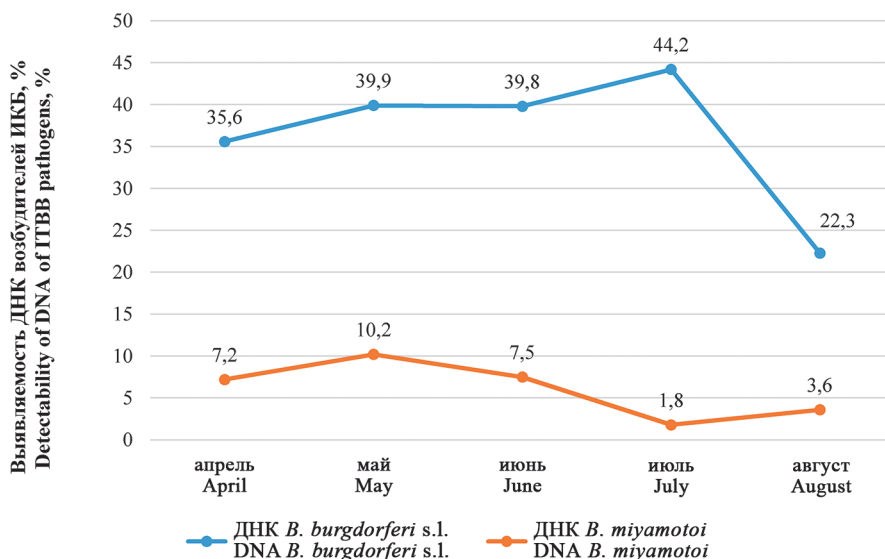
Дифференцировку видов боррелий в позитивных образцах осуществляли в два этапа в соответствии с методикой, описанной К. Ornstein и А. G. Varbour [13]. В качестве мишени использовали гены «домашнего хозяйства» *uvrA* и *nifS*. Праймеры и зонды синтезированы в ООО «НПФ Синтол» (Москва, Россия). Для приготовления реакционной смеси использовали компоненты производства ЗАО «Евроген» (Москва, Россия).

Результаты и обсуждение

В напивавшихся *I. persulcatus* генетический материал боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. выявлен в 45,7 % (95 % ДИ: 44,28–47,11 %), т.е. в 2172 пробах из 4751. С апреля по июль отмечен статистически значимый рост показателей выявляемости ДНК *B. burgdorferi* s.l. ($t=3,06$; $p<0,002$), затем следовало значительное снижение показателя в августе (рисунок). В сентябре – октябре число доставленных на исследование *I. persulcatus* снижается до нескольких экземпляров в месяц, при этом возрастает число клещей рода *Dermacentor*. Поэтому в этот период риск заражения ИКБ значительно ниже по сравнению с началом эпидемического сезона.

Важно отметить, что инфицирование *B. burgdorferi* s.l. выявлено нами у клещей родов *Ixodes*, *Dermacentor* и *Haemaphysalis*. Однако L. Eisen экспериментально подтвердил, что клещи родов *Dermacentor* и *Haemaphysalis* не способны передавать возбудителей ИКБ млекопитающим [14].

ДНК *B. miyamotoi* обнаружена в 7,2 % (95 % ДИ: 6,02–8,37 %) (133 из 1836 проб). Максимальный показатель инфицированности (10,2 %; 95 % ДИ: 7,8–12,6 %) отмечен в мае. Затем следовало статистически значимое снижение показателя до 1,8 % (95 % ДИ: 0,04–3,56 %) ($t=5,52$; $p<0,001$) в июле с последующим снижением до 0 случаев в октябре (рисунок).



Помесячная динамика выявляемости ДНК возбудителей ИКБ в *I. persulcatus* в эпидемические сезоны 2017–2023 гг. (суммарно)

Monthly dynamics of DNA detection of ITBB pathogens in *I. persulcatus* during the 2017–2023 epidemic seasons (total)

Инфицированность боррелиями комплекса *B. burgdorferi sensu lato* и клещей рода *Ixodes*, собранных с растительности в 2022–2023 гг.
Infection with *B. burgdorferi sensu lato* complex borrelia of the genus *Ixodes* collected from vegetation in 2022–2023

Исследовано клещей Ticks examined	Выявлена ДНК <i>B. burgdorferi</i> s.l., в том числе DNA of <i>B. burgdorferi</i> s.l. was detected, including													
	Выявлена ДНК <i>B. burgdorferi</i> s.l. was revealed in		ДНК <i>B. afzelii</i> <i>B. afzelii</i> DNA			ДНК <i>B. garinii</i> s.l. в том числе DNA <i>B. garinii</i> s.l. was detected, including			микст-инфицирование <i>B. garinii</i> s.l. + <i>B. afzelii</i> mixed infection with <i>B. garinii</i> s.l. + <i>B. afzelii</i>					
	абс. abs.	% (95 % ДИ) % (95 % CI)	абс. abs.	% (95 % ДИ) % (95 % CI)	ДНК <i>B. garinii</i> s.l. <i>B. garinii</i> s.l. DNA	ДНК <i>B. bavariensis</i> <i>B. bavariensis</i> DNA	микст-инфицирование <i>B. garinii</i> s.s. + <i>B. bavariensis</i> mixed infection with <i>B. garinii</i> s.s. + <i>B. bavariensis</i>	абс. abs.	% (95 % ДИ) % (95 % CI)	микст-инфицирование <i>B. garinii</i> s.l. + <i>B. afzelii</i> mixed infection with <i>B. garinii</i> s.l. + <i>B. afzelii</i>				
418	159	38,0 (33,38–42,69)	75	47,2 (39,41–54,92)	75	47,2 (39,41–54,92)	6	8	14	18,6 (9,84–27,48)	40	53,3 (42,04–64,62)	33	20,75 (14,45–27,05)

Примечание: абс. – абсолютное число; ДИ – доверительный интервал.

Note: abs. – absolute number; CI – confidence interval.

Ежегодно отмечали случаи сочетанного инфицирования клещей *B. miyamotoi* и боррелиями комплекса *B. burgdorferi* s.l. При этом значения Ct (порогового цикла реакции) ДНК *B. burgdorferi* s.l. в большинстве случаев значительно превышали Ct ДНК *B. miyamotoi*.

В результате видовой идентификации клещей рода *Ixodes*, собранных с растительности, по морфологическим признакам и при подтверждении молекулярно-генетическими методами все 418 исследованных особей отнесены к виду *I. persulcatus*. В результате исследований ДНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l. выявлена в 38,0 % (95 % ДИ: 33,38–42,69 %) исследованных клещей (таблица).

ДНК *B. afzelii* содержали 47,2 % (95 % ДИ: 39,41–54,92 %) из 159 проб. При этом микст-инфицирование *B. afzelii* + *B. garinii* s.l. отмечено в 20,75 % (95 % ДИ: 14,45–27,05 %) случаев (таблица). Стоит отметить, что в 42 из 159 (26,4 %; 95 % ДИ: 19,56–33,26 %) клещей, содержащих ДНК боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., не обнаружена ДНК ни *B. afzelii*, ни боррелий группы *B. garinii* s.l. Это не исключает возможность циркуляции на территории Хабаровского края других видов боррелий комплекса *B. burgdorferi* s.l., зарегистрированных на территории РФ.

Генетический материал боррелий группы *B. garinii* s.l. (*B. garinii* s.s. + *B. bavariensis*) выявлен в 75 (47,2 %; 95 % ДИ: 39,41–54,92 %) из 159 проб (таблица). ДНК *B. bavariensis* обнаружена в 14 (18,6 %; 95 % ДИ: 9,84–27,48 %) из 75 проб. *B. garinii* s.s. инфицированы 8 % (95 % ДИ: 1,86–14,10 %) клещей (6 из 75). При этом микст-инфицирование *B. garinii* s.s. и *B. bavariensis* наблюдалось в 53,3 % (95 % ДИ: 42,04–64,62 %) случаев (в 40 из 75). Генетический материал 15 (20,0 %; 95 % ДИ: 10,94–29,05 %) из 75 проб боррелий группы *B. garinii* s.l. не удалось отнести ни к *B. garinii* s.s., ни к *B. bavariensis*.

Таким образом, в 418 клещах *I. persulcatus*, собранных с растительности, ДНК *B. afzelii* выявлена в 17,9 % (95 % ДИ: 14,26–21,62 %), ДНК *B. garinii* s.s. – в 1,43 % (95 % ДИ: 0,29–2,57 %), ДНК *B. bavariensis* – 3,34 % (95 % ДИ: 1,62–5,07 %) случаев. Показатель инфицированности *B. afzelii* клещей *I. persulcatus* оказался статистически значимо выше такового для *B. garinii* s.s. (t=2,86; p<0,05) и *B. bavariensis* (t=2,02; p<0,05), при этом статистически значимых различий показателей инфицированности клещей *B. garinii* s.s. и *B. bavariensis* не выявлено.

Известно, что видовое разнообразие боррелий, циркулирующих в природных очагах, обуславливает характер органных поражений и многообразие клинической картины у пострадавших от присасывания клеща людей в зависимости от этиологии заболевания.

При поражении *B. afzelii* наиболее типичными являются первичные кожные проявления, включая мигрирующую эритему (МЭ) и хронический атрофи-

ческий акродерматит (ХААД), также возможно развитие артрита и нейроборрелиоза. Для *B. garinii* s.l. основной мишенью в организме является нервная система (нейроборрелиоз – менингит и воспалительные поражения периферической нервной системы) [7, 15].

Статистически значимое превышение показателя инфицированности *B. afzelii* клещей *I. persulcatus* – основного вектора возбудителей ИКБ в Хабаровском крае – по сравнению с другими видами возбудителей ИКБ позволяет предположить наибольший удельный вес МЭ и ХААД среди клинических проявлений ИКБ у заболевших на территории Хабаровского края. Вышеизложенное обуславливает необходимость видовой идентификации возбудителей ИКБ в клиническом материале от заболевших и анализа клинических проявлений в зависимости от этиологии заболевания, что станет продолжением настоящего исследования.

Заболеемость населения ИКБ связана с высокими показателями инфицированности иксодовых клещей в природных очагах на территории Хабаровского края. Наибольшие показатели числа нападений на человека и инфицированности возбудителями ИКБ зарегистрированы для вида *I. persulcatus*, что определяет его высокую эпидемиологическую значимость.

Проведенные исследования подтверждают необходимость ежегодного эпидемиологического и эпизоотологического мониторинга, выявления экологических особенностей различных видов боррелий и степени эпидемической опасности природных очагов ИКБ на территории Хабаровского края.

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

- Steinbrink A., Brugger K., Margos G., Kraiczky P., Klimpel S. The evolving story of *Borrelia burgdorferi* sensu lato transmission in Europe. *Parasitol. Res.* 2022; 121(3):781–803. DOI: 10.1007/s00436-022-07445-3.
- Pukhovskaya N.M., Morozova O.V., Vysochina N.P., Belozeroва N.B., Ivanov L.I. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in ixodid ticks in the Far East of Russia. *Int. J. Parasit. Parasites Wildl.* 2019; 8:192–202. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2019.01.005.
- Рудакова С.А., Пеньевская Н.А., Блох А.И., Савельев Д.А., Теслова О.Е., Канешова Н.Е., Рудаков Н.В., Транквилевский Д.В. Эпидемиологическая ситуация по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2019 г. в сравнении с периодом 2002–2018 гг. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; 3:131–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-131-138.
- Рудакова С.А., Теслова О.Е., Мугалинова Н.Е., Пеньевская Н.А., Блох А.И., Рудаков Н.В., Савельев Д.А., Кузьменко Ю.Ф., Транквилевский Д.В. Обзор эпидемиологической ситуации по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2013–2022 гг. и прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2023; 2:75–87. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-75-87.
- Branda J.A., Steere A.C. Laboratory diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2021; 34(2):e00018-19. DOI: 10.1128/CMR.00018-19.
- Stanek G., Reiter M. The expanding Lyme Borrelia complex – clinical significance of genomic species? *Clin. Microbiol. Infect.* 2011; 17(4):487–93. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03492.x.

- Jahfari S., Krawczyk A., Coipan E.C., Fonville M., Hovius J.W., Sprong H., Takumi K. Enzootic origins for clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Infect. Genet. Evol.* 2017; 49:48–54. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.12.030.
- Багаутдинова Л.И., Платонов А.Е., Сарксян Д.С., Стуколова О.В., Шипулин Г.А., Малеев В.В., Дударев М.В. Катамнез больных иксодовыми клещевыми боррелиозами, вызванными *Borrelia miyamotoi* или *Borrelia burgdorferi* sensu lato. *Терапевтический архив.* 2016; 11:43–54. DOI: 10.17116/terarkh2016881143-54.
- Драгомерецкая А.Г., Жельская Т.В., Троценко О.Е., Бондаренко Е.И., Иванов Л.И., Романова А.П., Мокрецова Е.В. Инфицированность переносчиков и случаи заражения людей *Borrelia miyamotoi* на территории Хабаровского края. Аналитическая справка. Хабаровск; 2017. Сер. Библиотека инфекционной патологии. Вып. 59. 14 с.
- Cutler S.J. Relapsing fever borreliae: a global review. *Clin. Lab. Med.* 2015; 35(4):847–65. DOI: 10.1016/j.cll.2015.07.001.
- Bohe J.R., Jutras B.L., Horn E.J., Embers M.E., Bailey A., Moritz R.L., Zhang Y., Soloski M.J., Ostfeld R.S., Marconi R.T., Aucott J., Ma'ayan A., Keesing F., Lewis K., Ben Mamoun C., Rebman A.W., McClune M.E., Breitschwerdt E.B., Reddy P.J., Maggi R., Yang F., Nemser B., Ozcan A., Garner O., Di Carlo D., Ballard Z., Joung H.A., Garcia-Romeu A., Griffiths R.R., Baumgarth N., Fallon B.A. Recent progress in Lyme disease and remaining challenges. *Front. Med. (Lausanne).* 2021; 8:666554. DOI: 10.3389/fmed.2021.666554.
- Crowder C.D., Matthews H.E., Schutzer S., Rounds M.A., Luft B.J., Nolte O., Campbell S.R., Phillipson C.A., Li F., Sampath R., Ecker D.J., Eshoo M.W. Genotypic variation and mixtures of Lyme *Borrelia* in *Ixodes* ticks from North America and Europe. *PLoS One.* 2010; 5(5):645–70. DOI: 10.1371/journal.pone.0010650.
- Ornstein K., Barbour A.G. A reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay of *Borrelia burgdorferi* 16S rRNA for highly sensitive quantification of pathogen load in a vector. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2006; 6(1):103–12. DOI: 10.1089/vbz.2006.6.103.
- Eisen L. Vector competence studies with hard ticks and *Borrelia burgdorferi* sensu lato spirochetes: A review. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(3):101359. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2019.101359.
- Coipan E.C., Jahfari S., Fonville M., Oei G.A., Spanjaard L., Takumi K., Hovius J.W.R., Sprong H. Imbalanced presence of *Borrelia burgdorferi* s.l. multilocus sequence types in clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 42:66–76. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.04.019.

References

- Steinbrink A., Brugger K., Margos G., Kraiczky P., Klimpel S. The evolving story of *Borrelia burgdorferi* sensu lato transmission in Europe. *Parasitol. Res.* 2022; 121(3):781–803. DOI: 10.1007/s00436-022-07445-3.
- Pukhovskaya N.M., Morozova O.V., Vysochina N.P., Belozeroва N.B., Ivanov L.I. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Borrelia miyamotoi* in ixodid ticks in the Far East of Russia. *Int. J. Parasit. Parasites Wildl.* 2019; 8:192–202. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2019.01.005.
- Rudakova S.A., Pen'evskaya N.A., Blokh A.I., Savel'ev D.A., Teslova O.E., Kaneshova N.E., Rudakov N.V., Trankvilevsky D.V. [Epidemiological situation on tick-borne borreliosis in the Russian Federation in 2019 compared to the period of 2002–2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (3):131–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-131-138.
- Rudakova S.A., Teslova O.E., Mutaliova N.E., Pen'evskaya N.A., Blokh A.I., Rudakov N.V., Savel'ev D.A., Kuz'menko Yu.F., Trankvilevsky D.V. [Review of the epidemiological situation on Ixodic tick-borne borreliosis in the Russian Federation in 2013–2022 and forecast for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):75–87. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-75-87.
- Branda J.A., Steere A.C. Laboratory diagnosis of Lyme borreliosis. *Clin. Microbiol. Rev.* 2021; 34(2):e00018-19. DOI: 10.1128/CMR.00018-19.
- Stanek G., Reiter M. The expanding Lyme Borrelia complex – clinical significance of genomic species? *Clin. Microbiol. Infect.* 2011; 17(4):487–93. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03492.x.
- Jahfari S., Krawczyk A., Coipan E.C., Fonville M., Hovius J.W., Sprong H., Takumi K. Enzootic origins for clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Infect. Genet. Evol.* 2017; 49:48–54. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.12.030.
- Bagautdinova L.I., Platonov A.E., Sarksyian D.S., Stukolova O.V., Shipulin G.A., Maleev V.V., Dudarev M.V. [Follow-up of patients with Ixodid tick-borne borreliosis caused by *Borrelia miyamotoi* or *Borrelia burgdorferi* sensu lato]. *Terapevtichesky Arkhiv [Therapeutic Archive]*. 2016; (11):43–54. DOI: 10.17116/terarkh2016881143-54.

9. Dragomeretskaya A.G., Mzhel'skaya T.V., Trotsenko O.E., Bondarenko E.I., Ivanov L.I., Romanova A.P., Mokretsova E.V. [Infection of Vectors and Cases of Human Infection with *Borrelia miyamotoi* in the Khabarovsk Territory. Analytical Review]. Khabarovsk; 2017. Series Library of Infectious Pathology. Iss. 59. 14 p.
10. Cutler S.J. Relapsing fever borreliae: a global review. *Clin. Lab. Med.* 2015; 35(4):847–65. DOI: 10.1016/j.cll.2015.07.001.
11. Bobe J.R., Jutras B.L., Horn E.J., Embers M.E., Bailey A., Moritz R.L., Zhang Y., Soloski M.J., Ostfeld R.S., Marconi R.T., Aucott J., Ma'ayan A., Keesing F., Lewis K., Ben Mamoun C., Rebman A.W., McClune M.E., Breitschwerdt E.B., Reddy P.J., Maggi R., Yang F., Nemser B., Ozcan A., Garner O., Di Carlo D., Ballard Z., Joung H.A., Garcia-Romeu A., Griffiths R.R., Baumgarth N., Fallon B.A. Recent progress in Lyme disease and remaining challenges. *Front. Med. (Lausanne)*. 2021; 8:666554. DOI: 10.3389/fmed.2021.666554.
12. Crowder C.D., Matthews H.E., Schutzer S., Rounds M.A., Luft B.J., Nolte O., Campbell S.R., Phillipson C.A., Li F., Sampath R., Ecker D.J., Eshoo M.W. Genotypic variation and mixtures of Lyme *Borrelia* in *Ixodes* ticks from North America and Europe. *PLoS One*. 2010; 5(5):645–70. DOI: 10.1371/journal.pone.0010650.
13. Ornstein K., Barbour A.G. A reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay of *Borrelia burgdorferi* 16S rRNA for highly sensitive quantification of pathogen load in a vector. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2006; 6(1):103–12. DOI: 10.1089/vbz.2006.6.103.
14. Eisen L. Vector competence studies with hard ticks and *Borrelia burgdorferi* sensu lato spirochetes: A review. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020; 11(3):101359. DOI: 10.1016/j.ttbdis.2019.101359.
15. Coipan E.C., Jahfari S., Fonville M., Oei G.A., Spanjaard L., Takumi K., Hovius J.W.R., Sprong H. Imbalanced presence of *Borrelia burgdorferi* s.l. multilocus sequence types in clinical manifestations of Lyme borreliosis. *Infect. Genet. Evol.* 2016; 42:66–76. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.04.019.

Authors:

Belkina N.V., Dragomeretskaya A.G., Trotsenko O.E., Ausheva T.A. Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology. 2, Shevchenko St., Khabarovsk, 680000, Russian Federation. E-mail: adm@hniiem.ru.

Об авторах:

Белкина Н.В., Драгомерецкая А.Г., Троценко О.Е., Аушева Т.А. Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии. Российская Федерация, 680000, Хабаровск, ул. Шевченко, 2. E-mail: adm@hniiem.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-76-82

УДК 616.98:579.852.11

Е.И. Еременко, А.Г. Рязанова, Г.А. Печковский, С.В. Писаренко, Д.А. Ковалев, Л.Ю. Аксенова, О.В. Семенова, А.Н. Куличенко

Особенности споруляции основных генетических линий *Bacillus anthracis*

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

Цель работы – характеристика генов и белков споруляции штаммов *Bacillus anthracis* основных генетических линий. **Материалы и методы.** Анализ геномов проводили *in silico*, используя геномы: *B. anthracis* Ames Ancestor в качестве референсного, 47 штаммов *B. anthracis* из базы данных GenBank NCBI, относящихся к основным генетическим линиям А, В, С, геном штамма CI *Bacillus cereus biovar anthracis*, 7 штаммов из коллекции ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, а также ресурс NCBI Protein Database. Идентификацию полиморфизмов осуществляли в программах BLASTn, BLASTp, MEGA X, MAUVE, Tandem Repeat Finder. Последовательности генов и белков выравнивали в программе MEGA X. **Результаты и обсуждение.** Сравнение полиморфизмов белков и генов споруляции трех основных генетических линий показало, что количество всех форм у штаммов *B. anthracis* линий В, С и *B. cereus biovar anthracis* превышало таковые у штаммов линии А в 4,5–10, 6,8–92 и 160–2078 раз соответственно. Больше количество несинонимичных SNP в генах споруляции с изменением аминокислотного состава и функции белков у штаммов *B. anthracis* основных генетических линий В, С и *B. cereus biovar anthracis*, чем у штаммов линии А, предполагает их ограниченные адаптационные возможности и может быть одним из объяснений меньшей распространенности по сравнению с линией А.

Ключевые слова: *Bacillus anthracis*, генетические линии, гены и белки прорастания спор.

Корреспондирующий автор: Еременко Евгений Иванович, e-mail: ejer@mail.ru.

Для цитирования: Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Печковский Г.А., Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Куличенко А.Н. Особенности споруляции основных генетических линий *Bacillus anthracis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 2:76–82. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-76-82

Поступила 05.02.2024. Отправлена на доработку 05.03.2024. Принята к публ. 10.03.2024.

E.I. Eremenko, A.G. Ryazanova, G.A. Pechkovsky, S.V. Pisarenko, D.A. Kovalev, L.Yu. Aksenova, O.V. Semenova, A.N. Kulichenko

Features of Sporulation of the Main Genetic Lines of *Bacillus anthracis*

Stavropol Research Anti-Plague Institute, Stavropol, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to characterize sporulation genes and proteins in *Bacillus anthracis* strains of major genetic lineages. **Materials and methods.** Genome analysis was carried out *in silico* using the genome of the Ames Ancestor strain as a reference one, 47 *B. anthracis* strains from the GenBank NCBI database, belonging to the main lineages A, B, C, the genome of the CI strain *Bacillus cereus biovar anthracis*, 7 strains from the collection of Stavropol Research Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor, as well as the NCBI Protein Database resource. Identification of polymorphisms was performed in BLASTn, BLASTp, MEGA X, MAUVE, and Tandem Repeat Finder software. Gene and protein sequences were aligned using MEGA X program. **Results and discussion.** A comparison of polymorphisms in sporulation proteins and genes of three major genetic lineages has showed that the number of all forms in *B. anthracis* strains of B, C lineages and *Bacillus cereus biovar anthracis* exceeds those in strains of lineage A by 4,5–10, 6,8–92 and 160–2078 times, respectively. A larger number of non-synonymous SNPs in sporulation genes with changes in the amino acid composition and function of proteins in *B. anthracis* strains of the major genetic lines B, C and *B. cereus biovar anthracis* than in strains of lineage A suggests their limited adaptive capabilities and may be one of the explanations for their lower prevalence as compared to line A.

Key words: *Bacillus anthracis*, genetic lineages, genes and proteins of spore germination.

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

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

Corresponding author: Evgeny I. Eremenko, e-mail: ejer@mail.ru.

Citation: Eremenko E.I., Ryazanova A.G., Pechkovsky G.A., Pisarenko S.V., Kovalev D.A., Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Kulichenko A.N. Features of Sporulation of the Main Genetic Lines of *Bacillus anthracis*. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:76–82. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-76-82

Received 05.02.2024. Revised 05.03.2024. Accepted 10.03.2024.

Eremenko E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1117-1185>
Ryazanova A.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5196-784X>
Pechkovsky G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7033-9972>
Pisarenko S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6458-6790>

Kovalev D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9366-5647>
Aksenova L.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7744-3112>
Semenova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0274-898X>
Kulichenko A.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9362-3949>

Возбудитель сибирской язвы *Bacillus anthracis* вызывает особо опасную зоонозную инфекцию с глобальным ареалом и является агентом биологического терроризма из группы А [1].

В глобальной филогенетической структуре *B. anthracis* выделяют три основные генетические линии: А, В и С [2–6]. Распределение штаммов по трем кладам неравномерно: около 90 % составляют кладу А, примерно 10 % – В и менее 0,1 % – С. Всего четыре штамма, относящихся к кладе С, выделены в 1956 г. в Вайоминге и Луизиане (США) [5]. Еще одной генетической линией являются штаммы *Bacillus cereus biovar anthracis*, возбудителя сибирской язвы, выделяемые у диких животных Западной Африки [7, 8]. Причины такого неравномерного распределения разных линий *B. anthracis* неизвестны. Предполагается, что за этим стоит разная способность к адаптации, определяемая как степень патогенности, так и эффективностью споруляции и прорастания спор. Доминирование генотипов линии А в глобальном масштабе свидетельствует о большом репродуктивном успехе и значительном рассеивании на большие расстояния [3]. Полагают, что штаммам линии А, но не линии В, присуща гипотетическая способность вызывать латентную инфекцию у животных, с чем связано их глобальное распространение и ограниченное распространение линии В. Сравнение изолятов линий А и В из Южной Африки показало, что штаммы А адаптированы к более разнообразным средам, чем штаммы В, которые были ограничены более узкими условиями окружающей среды [9]. Ограниченное количество и географическое распределение более редких линий может возникнуть из-за больших затрат на адаптацию, связанных с нишевой специализацией [10]. Генотипы из линии С и, в меньшей степени, из линии В, по-видимому, имеют очень низкую приспособленность по сравнению с генотипами линии А. Действительно, ветвь линии С имеет значительно более медленные эволюционные темпы, чем ветвь линии А, что наводит на мысль о меньшем количестве инфекционных циклов в природе [2].

В нашей предыдущей работе показано многократное превышение числа полиморфизмов в геномах, включая гены факторов патогенности, у штаммов линий В и С по сравнению с линией А [11]. Данных относительно существования различий в генах и ферментах споруляции у штаммов разных основных генетических линий *B. anthracis* в доступной литературе нет.

Споруляция, инициируемая истощением питательных веществ, – сложный процесс дифференцировки, протекающий в несколько стадий. Ферменты, функционирующие на этих стадиях, и кодирующие их гены обозначаются как *Spo0–VII (spo0–VII)* [12].

В бактериальных клетках двухкомпонентные системы передачи сигналов являются центральными элементами клеточных регуляторных путей и обычно используются для ощущения изменений окружающей среды и влияния на экспрессию

генов [13]. Эти системы состоят из сигнального лиганд-чувствительного сенсора гистидинкиназы и двухдоменного регулятора ответа, который обычно является транскрипционным фактором. В ответ на специфические сигналы сенсорные киназы катализируют АТФ-зависимую реакцию аутофосфорилирования консервативного остатка гистидина. Эта фосфорильная группа впоследствии переносится на консервативный аспартатный остаток в регуляторном домене специфического регулятора ответа – транскрипционного фактора, с которым связана сенсорная киназа. Фосфорилирование регуляторного домена активирует транскрипционные активационные и/или репрессивные свойства выходного домена [14].

Предполагается, что приобретение *B. anthracis* плазмиды рХО1 и патогенности может потребовать демпфирования регуляции споруляции путем мутационной селекции дефектов сенсора споруляции гистидинкиназы [15].

Актуальность проведенной работы определяется отсутствием данных, которые значимы для развития представлений о различиях в генетическом аппарате споруляции у штаммов разных основных генетических линий, связанных с их адаптационными возможностями, потенциально определяющими неравномерность их распределения.

Целью работы являлась характеристика с оценкой полиморфизма генов и белков споруляции у штаммов *B. anthracis* основных генетических линий.

Материалы и методы

Исследовали полные геномы штаммов *B. anthracis* из базы данных GenBank NCBI, относящихся ко всем 14 canSNP-группам основных генетических линий А (31 штамм), В (11 штаммов), С (5 штаммов), и геном штамма CI *Bacillus cereus biovar anthracis*, ресурс NCBI Protein Database.

Идентификаторы Genbank RefSeq для геномов: GCF_000008445.1, GCF_009831565.1, GCF_000167335.1, GCF_003063965.1, GCF_003064045.1, GCF_003860145.1, GCF_000793525.1, GCF_000832965.1, GCF_000310045.1, GCF_000167235.1, GCF_000534935.2, GCF_000258885.1, GCF_000278385.1, GCF_000832465.1, GCF_001273005.1, GCF_001273085.1, GCF_000167295.1, GCF_002896575.1, GCF_014249775.1, GCF_003227955.1, GCF_000831505.1, GCF_000832745.1, GCF_003064005.1, GCF_000008165.1, GCF_000583105.1, GCF_000833275.1, GCF_022221345.1, GCF_000743805.1, GCF_900014355.1, GCF_002356575.1, GCF_000143605.1, GCF_000181675.2, GCF_001277955.1, GCF_000167315.1, GCF_000832785.1, GCF_002980615.3, GCF_000833125.1, GCF_022221285.1, GCF_006088855.1, GCF_000725325.1, GCF_001936375.1, GCF_022221085.1, GCF_021390035.1, GCF_000742655.1, GCF_000782995.1, GCF_000167255.1, GCF_022221185.1, GCF_000143605.1 (URL: <ftp://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCF/000/833/275/>).

Анализировали также 7 полных геномов штаммов из коллекции ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора, отобранных по признаку принадлежности к 5 canSNP-группам, встречающимся на территории России, Грузии и Азербайджана (табл. 1).

Анализ геномов проводили *in silico*, используя геном штамма *B. anthracis* Ames Ancestor canSNP-группы A.Br.Ames (GenBank: NC_007530.2; NC_007322.2; NC_007323.3) в качестве референсного. Последовательности генов и белков выравнивали в программе MEGA 10 с геномом референс-штамма. Идентификацию полиморфизмов осуществляли в программах BLASTn, BLASTp, MEGA X, MAUVE, Tandem Repeat Finder

Результаты и обсуждение

Гены и белки споруляции *B. anthracis*. Анализ *in silico* генома референс-штамма *B. anthracis* Ames Ancestor показал наличие 66 генов, кодирующих белки, относящиеся к споруляции. В выборке штаммов трех генетических линий *B. anthracis*, относящихся к 14 canSNP-группам, и штамма *B. cereus* *bv anthracis* *str CI*, вариабельными были 35 генов, вариабельность определялась SNP, INDELS, у кодируемых белков – заменами аминокислот (а.к.) и размерами (табл. 2).

Основная генетическая линия А. Из 35 белков вариабельны 8, остальные – как у референс-штамма. Spo0J – один вариант, но ген штамма Tsiankovskii-1 с синонимичным SNP 705T→C. Spo0M – два варианта размером 252 и 251 а.к., последний отличается делецией T67, ген имеет делецию 198-200. SpoIID – два варианта, референсный и отличающийся у штамма 351/520 (canSNP-группа A.Br.Aust94) с синонимичным SNP 927C→T. SpoVAD – два негомологичных варианта размером 338 а.к. у всех штаммов линии А. KinB – три варианта размером 424 а.к., два из которых отличались от белка референс-штамма заменами M297I (штаммы canSNP-группы A.Br.005/006) и R409Q (штаммы canSNP-группы A.Br.Vollum), вызываемыми несинонимичными SNP 891G→A и 1225A→C соответственно в гене. YtaF – три варианта, референсный размером 203 а.к. и два размером

210 а.к. Один отличается заменой К (лизин) на неизвестную аминокислоту или одним SNP с неоднозначной заменой A271R в гене *ytaF*, имеется только у штамма Tangail-1 (canSNP-группа A.Br.001/002). YtvI – три варианта, один встречается только у штаммов canSNP-группы A.Br.005/006 (Ancient A) и отличается от референсного варианта, присущего остальным девяти canSNP-группам линии А, несинонимичным SNP 715A→G (V239I), третий – у штамма 1390/13 с несинонимичным SNP 927G→C (E309D). YuaC – два варианта, 198 и 199 а.к., последний отличается делецией A576, дополнительным изолейцином в положении 200 из-за вставки ATAA598-601 в гене и принадлежит штамму Shikan-NIID (canSNP-группа A.Br.Ames).

В целом 35 белков споруляции выборки из 35 штаммов главной линии А имели 43 варианта. Для 29 белков имелся только 1 вариант, для 4 белков – 2 варианта, для 2 белков – 3 варианта. Частота встречаемости полиморфизмов составляла для SNP 0,205, инделов – 0,05 и замен а.к. – 0,114 в пересчете на 1 штамм.

Основная генетическая линия В. Spo0M – два варианта, 251 а.к., у обоих делеция T70, в гене делеция 198-200AAC, у штамма Kruger В неоднозначные замены T67X и SNP 202A→M. Spo0J – один вариант, несинонимичный SNP 433T→C (C145R).

SpoIIМ – два варианта, референсный 215 а.к., с синонимичным SNP 513A→G в гене у штаммов NYU01, 1386/1, 228 и 1284, второй – 205 а.к. с делецией 1-10 MWRKWTWQDRV и 1-30 в гене у большинства штаммов линии В. SpoIID – один вариант, с несинонимичным SNP 364G→A (D122N). SpoIIP – два варианта, один референсный, 384 а.к., присущий всем canSNP группам линии В, второй – 386 а.к. у штамма Kruger В, с двумя инсерциями и одной неопределенной заменой а.к. E374? (в гене SNP A→R). SpoVAD – два негомологичных варианта размером 338 а.к. у всех штаммов линии В. SpoVT – два варианта, референсный у штаммов группы В.Br.CNEVA, второй – у остальных штаммов линии В с несинонимичным SNP 439G→A (A147T). KinB – два варианта разного размера и разного аминокислотного состава, имеющиеся у всех canSNP групп линии В. У одного – несинонимичный SNP 91A→G (T31A). YtaF – два вари-

Таблица 1 / Table 1

**Штаммы из коллекции Ставропольского противочумного института
Strains from the collection of the Stavropol Anti-Plague Institute**

№ п/п No	Штамм Strain	Год выделения Year of isolation	Место выделения / Site of isolation	Источник выделения / Source of isolation	canSNP-группа canSNP-group
1	И-45(I-45)	1966	РФ, Республика Тыва / RF, Republic of Tuva	Почва / Soil	A.Br.001/002
2	351/520	1976	Азербайджан / Azerbaijan	Почва / Soil	A.Br.Aust94
3	И-319(I-319)	1983	РФ, Омск / RF, Omsk	Человек / Patient	A.Br.Ames
4	1390/13	2022	РФ, Дагестан / RF, Dagestan	Язва больного / Patient's ulcer	A.Br.008/011
5	228	1946	Грузия / Georgia	Труп овцы / Sheep corpse	B.Br.001/002
6	1284	2010	РФ, Омск / RF, Omsk	Пельмени / Meat dumplings	B.Br.001/002
7	1386/1	2021	РФ, Республика Тыва / RF, Republic of Tuva	Струп больного / Patient's scab	B.Br.001/002

Таблица 2 / Table 2

Структурные и функциональные особенности белков и генов споруляции у штаммов *B. anthracis* разных генетических линий
Structural and functional features of sporulation proteins and genes of *B. anthracis* strains of different genetic lineages

№ n/n No	Белок Protein	Основные генетические линии / Major lineages												Всего Total					
		A				B				C					Bacillus cereus biovar anthracis				
		SNP	INDEL	Аминокислоты Amino acid substitutions	Варианты белков Protein variants	SNP	INDEL	Аминокислоты Amino acid substitutions	Варианты белков Protein variants	SNP	INDEL	Аминокислоты Amino acid substitutions	Варианты белков Protein variants		SNP	INDEL	Аминокислоты Amino acid substitutions	Варианты белков Protein variants	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
1	Sporulation transcription factor Spo0A	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	5	0	0	0	1	9
2	Stage 0 sporulation protein Spo0J	1	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	11
3	Sporulation-control protein spo0M	1	1	0	2	1	2	0	2	1	0	0	1	7	1	2	1	1	22
4	Stage II sporulation protein D SpoIID	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	32	0	9	1	1	47
5	Stage II sporulation protein E SpoIIE	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	4
6	Stage II sporulation protein M SpoIIM	0	0	0	1	0	1	0	2	0	1	0	2	15	1	0	3	1	26
7	Stage II sporulation protein P	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	15	0	6	1	1	24
8	Stage II sporulation protein SpoIIP	0	0	0	1	1	2	0	2	0	0	0	2	9	0	2	1	1	43
9	Stage II sporulation protein R SpoIIR	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	3	2	1	1	1	10
10	Stage III sporulation protein AA SpoIIIAA	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	11	0	2	1	1	17
11	Stage III sporulation protein AB SpoIIIB	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	8	0	1	1	1	13
12	Sporulation transcriptional regulator SpoIIID	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	4
13	Stage III sporulation protein AE SpoIIIAE	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	19	0	1	1	1	24
14	Stage III sporulation protein AF SpoIIIAF	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	6
15	Stage III sporulation protein AG spoIIIAg	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	6	0	2	1	1	12
16	Stage IV sporulation protein A spoIvA	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	6	0	0	1	1	12
17	Stage IV sporulation protein SpoIVFA	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	6	0	2	1	1	12
18	Stage IV sporulation intramembrane metalloprotease SpoIVFB	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	8	0	2	1	1	14
19	Stage V sporulation protein SpoVAD	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	2	20	0	2	2	2	30
20	Stage V sporulation protein SpoVAA	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	2	1	1	1	8
21	Stage V sporulation protein SpoVAE	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	4

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	1	13	14	15	16	17	18	19
22	Stage V sporulation protein B SpoVB	1	0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	1	48	0	5	1	60
23	Stage_V_sporulation_protein_K_SpoVK	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	10	0	1	1	18
24	Stage V sporulation protein R SpoVR	0	0	0	1	1	0	1	2	0	0	0	1	32	0	1	1	40
25	Stage_V_sporulation_protein_T_SpoVT	0	0	0	1	1	0	1	2	0	0	0	1	1	0	1	1	9
26	Stage VI sporulation protein D SpoVID	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	4	0	1	1	9
27	Sporulation specific diadenylate cyclase CdaS	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	9	0	2	1	15
28	Sporulation kinase KinA	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	58	2	11	1	73
29	Sporulation sensor histidine kinase KinB	2	0	2	3	1	0	1	2	0	0	0	1	10	2	3	2	30
30	KinB signaling pathway activation protein KbaA	0	0	0	1	0	2	0	1	0	0	0	1	2	0	0	1	8
31	Sporulation integral membrane protein YlbJ	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	10	0	2	1	16
32	Sporulation protein YqfD	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	42	0	5	1	53
33	Sporulation_membrane_proteinYtaF	1	0	1	3	0	0	0	2	0	0	0	2	2	0	1	2	11
34	Sporulation integral membrane protein YtvI	1	0	1	2	2	0	2	2	1	0	1	1	25	0	5	1	47
35	Spore protease_YyaC	0	1	0	2	1	0	1	1	0	0	0	1	1	2	1	2	14
	Всего / Total	7	2	4	43	13	7	8	44	7	1	6	39	426	8	73	41	
	На 1 штамм / Per 1 strain	0,205	0,05	0,114		0,92	0,50	0,57		1,4	0,2	1,2		426	8	73		

анта разных размеров у всех штаммов линии B. YtvI – два варианта, один – для штаммов всех canSNP-групп с несинонимичным SNP 571A→T (N191Y), второй, с несинонимичным SNP 787G→T (V263I), – для штаммов групп V.Br.001/002 и V.Br.Kruger V.

В целом 35 белков споруляции выборки из 14 штаммов главной линии B имели 44 варианта. Для 26 белков имелся только 1 вариант, для 9 – 2 варианта. Частота встречаемости полиморфизмов составляла для SNP 0,92, инделов – 0,50 и замен а.к. – 0,57 в пересчете на 1 штамм.

Основная генетическая линия C. SpoIIМ – два варианта, отличающиеся размерами, наличием индела и одним SNP. Один характерен в основном штаммам *B. anthracis*, второй, большего размера, – для многих видов. SpoIIР – два варианта у всех штаммов линии C, отличающиеся размерами и аминокислотным составом. Вариант большего размера (384 а.к.) встречается у разных видов бацилл, меньший (368 а.к.) – ограничен группой *B. cereus*. SpoVAD – два варианта одного размера, с разным а.к. составом, один имеется у всех штаммов линии C, второй – только у штамма 2002013094. YtaF – два варианта, разных размеров и а.к. состава, имеются у всех штаммов главной линии C.

Всего у 5 штаммов линии C для 35 белков идентифицировано 39 вариантов. У 31 белка был только 1 вариант, у 4 белков – 2 варианта. Частота встречаемости полиморфизмов составляла для SNP 1,4, инделов – 0,2 и замен а.к. – 1,2 в пересчете на 1 геном.

Bacillus cereus biovar anthracis. SpoIIМ – три варианта. Один отличается делецией а.к. 1-10 (нуклеотидов 1-30) и 8-ю SNP в гене. Второй вариант есть только у *B. cereus biovar anthracis str CI*, отличается размерами, аминокислотным и нуклеотидным составом. Третий соответствует референсному. SpoVAD – два варианта одного размера. Один отличается одной заменой а.к. и 15 SNP в гене, второй – одной заменой а.к. и 5 SNP.

YtaF – два варианта разных размеров и аминокислотного состава. Меньший из них отличается от референсного одной заменой а.к. и 2 SNP в гене. YyaC – два варианта одного размера. Один отличается одной заменой а.к. и 1 SNP в гене, двумя инделами, второй – двумя инделами. KinB – два варианта разного размера. Один отличается одной заменой а.к. и 5 SNP в гене. Второй – двумя заменами а.к. и 5 SNP в гене. В целом для 35 белков штамма CI *B. cereus biovar anthracis* выявлен 41 вариант. Для 30 белков имелся только 1 вариант, для 4 белков – по 2 варианта, для одного – 3 варианта. Гены имеют 426 SNP. Частота встречаемости полиморфизмов составляла для SNP 426, инделов – 8 и замен а.к. – 73 в пересчете на 1 геном.

Споруляция и прорастание спор у *Bacillus* являются сложными процессами, требующими согласованного действия многих генов.

Транскрипционный фактор споруляции Spo0A, с которым связана сенсорная гистидинкиназа, является главным регулятором начала споруляции. Он на-

прямую контролирует экспрессию более 120 генов, а его активность влияет на экспрессию примерно 12 % всего генома. Активированный Spo0A связывается с 12-п.н. консенсусной последовательностью, расположенной в промоторных последовательностях, тем самым активируя или подавляя нижележащие гены. Из-за своей ключевой роли мутации в Spo0A, приводящие к инактивации, способствуют полной утрате спорообразования [16].

Показано, что одной из функций белка Spo0A является негативная регуляция другого регуляторного локуса, *abrB*, который контролирует экспрессию многих генов, связанных с началом споруляции [17]. Spo0A – консервативный белок, состоящий из 264 аминокислот, по нашим данным, у всех изученных штаммов *B. anthracis* трех основных линий есть только один вариант, который присущ также *B. cereus biovar anthracis* и как минимум 382 представителям рода *Bacillus*, охарактеризованным в базе данных NCBI Protein. Консерватизм определяется его ключевой функцией в регуляции начала споруляции и контроле экспрессии многих генов.

В пределах линий *B. anthracis* консерватизм свойственен также белкам SpoIIE, stage II sporulation protein P, SpoIIR, SpoIIAA, SpoIIAB, SpoIIAE, SpoIIAG, SpoIIID, SpoIVFA, SpoIVFB, SpoVAA, SpoVAE, SpoVID, CdaS, YlbJ, KinA. Напротив, вторая основная сенсорная гистидинкиназа KinB встречается в трех вариантах у штаммов *B. anthracis* линии А и в двух – у штаммов линии В и *B. cereus biovar anthracis*.

Сравнение полиморфизмов белков и генов споруляции трех основных генетических линий показало, что количество всех форм у штаммов *B. anthracis* линий В, С и *B. cereus biovar anthracis* превышало таковые у штаммов линии А в 4,5–10, 6,8–92 и 160–2078 раз соответственно. Сходные данные получены нами при анализе полиморфизма генов и белков факторов патогенности основных линий. Штаммы наименее распространенной линии С имели в 4,5 раза больше, а штаммы линии В с ограниченным распространением в 3 раза больше видов полиморфизмов, чем штаммы многочисленной линии А. Преимущественная локализация нуклеотидных замен, в том числе значимых, внутри изученных генов могла изменять функции соответствующих белков. Экспансия линии А может объясняться преимуществами в сравнении с линиями В и С, закрепленными в ходе эволюции. Линия С, эволюционно более древняя, базовая по отношению к линиям В и А и наименее приспособленная, ограничена в распространении отрицательным отбором [11]. Это предполагает ограниченные адаптационные возможности штаммов генетических линий В и С, *B. cereus biovar anthracis* и может быть одним из объяснений меньшей их распространенности по сравнению с линией А.

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. Rotz L.D., Khan A.S., Lillibridge S.R., Ostroff S.M., Hughes J.M. Public health assessment of potential biological terrorism agents. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8(2):225–30. DOI: 10.3201/eid0802.010164.
2. Pearson T., Busch J.D., Ravel J., Read T.D., Rhoton S.D., U'Ren J.M., Simonson T.S., Kachur S.M., Leadem R.R., Cardon M.L., Van Ert M.N., Huynh L.Y., Fraser C.M., Keim P. Phylogenetic discovery bias in *Bacillus anthracis* using single-nucleotide polymorphisms from whole-genome sequencing. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2004; 101(37):13536–41. DOI: 10.1073/pnas.0403844101.
3. 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.
4. Sahl J.W., Pearson T., Okinaka R., Schupp J.M., Gillece J.D., Heaton H., Birdsall D., Hepp C., Fofanov V., Nosedo R., Fasanella A., Hoffmaster A., Wagner D.M., Keim P. A *Bacillus anthracis* genome sequence from the Sverdlovsk 1979 autopsy specimens. *mBio.* 2016; 7(5):e01501-16. DOI: 10.1128/mBio.01501-16.
5. Bruce S.A., Schiraldi N.J., Kamath P.L., Easterday W.R., Turner W.C. A classification framework for *Bacillus anthracis* defined by global genomic structure. *Evol. Appl.* 2020; 13(5):935–44. DOI: 10.1111/eva.12911.
6. Pilo P., Frey J. Pathogenicity, population genetics and dissemination of *Bacillus anthracis*. *Infect. Genet. Evol.* 2018; 64:115–25. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.06.024.
7. Leendertz F.H., Ellerbrok H., Boesch C., Couacy-Hymann E., Mätz-Rensing K., Hakenbeck R., Bergmann C., Abaza P., Junglen S., Moebius Y., Vigilant L., Formenty P., Pauli G. Anthrax kills wild chimpanzees in a tropical rainforest. *Nature.* 2004; 430(6998):451–2. DOI: 10.1038/nature02722.
8. Klee S.R., Brzuszkiewicz E.B., Nattermann H., Brüggemann H., Dupke S., Wollherr A., Franz T., Pauli G., Appel B., Liebl W., Couacy-Hymann E., Boesch C., Meyer F.D., Leendertz F.H., Ellerbrok H., Gottschalk G., Grunow R., Liesegang H. The genome of a bacillus isolate causing anthrax in chimpanzees combines chromosomal properties of *B. cereus* with *B. anthracis* virulence plasmids. *PLoS One.* 2010; 5(7):e10986. DOI: 10.1371/journal.pone.0010986.
9. Smith K.L., DeVos V., Bryden H., Price L.B., Hugh-Jones M.E., Keim P. *Bacillus anthracis* diversity in Kruger National Park. *J. Clin. Microb.* 2000; 38(10):3780–4. DOI: 10.1128/JCM.38.10.3780-3784.2000.
10. Kassen R., Llewellyn M., Rainey P.B. Ecological constraints on diversification in a model adaptive radiation. *Nature.* 2004; 431(7011):984–8. DOI: 10.1038/nature02923.
11. Еременко Е.И., Печковский Г.А., Рязанова А.Г., Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Куличенко А.Н. Анализ *in silico* геномов штаммов *Bacillus anthracis* главных генетических линий. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2023; 100(3):155–65. DOI: 10.36233/0372-9311-385.
12. Errington J. *Bacillus subtilis* sporulation: regulation of gene expression and control of morphogenesis. *Microbiol. Rev.* 1993; 57(1):1–33. DOI: 10.1128/mr.57.1.1-33.1993.
13. Hoch J.A., Silhavy T.J., editors. Two-Component Signal Transduction. Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 1995.
14. Stephenson K., Hoch J.A. Evolution of signalling in the sporulation phosphorelay. *Mol. Microbiol.* 2002; 46(2):297–304. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.03186.x.
15. Bruning R.L., La Clair C., Tang S., Chiang C., Hancock L.E., Perego M., Hoch J.A. Characterization of sporulation histidine kinases of *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.* 2005; 187(20):6972–81. DOI: 10.1128/JB.187.20.6972-6981.2005.
16. Sastalla I., Rosovitz M.J., Leppla S.H. Accidental selection and intentional restoration of sporulation-deficient *Bacillus anthracis* mutants. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76(18):6318–21. DOI: 10.1128/AEM.00950-10.
17. Strauch M., Webb V., Spiegelman G., Hoch J.A. The Spo0A protein of *Bacillus subtilis* is a repressor of the *abrB* gene. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1990; 87(5):1801–5. DOI: 10.1073/pnas.87.5.1801.

References

1. Rotz L.D., Khan A.S., Lillibridge S.R., Ostroff S.M., Hughes J.M. Public health assessment of potential biological terro-

rism agents. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8(2):225–30. DOI: 10.3201/eid0802.010164.

2. Pearson T., Busch J.D., Ravel J., Read T.D., Rhoton S.D., U'Ren J.M., Simonson T.S., Kachur S.M., Leadem R.R., Cardon M.L., Van Ert M.N., Huynh L.Y., Fraser C.M., Keim P. Phylogenetic discovery bias in *Bacillus anthracis* using single-nucleotide polymorphisms from whole-genome sequencing. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2004; 101(37):13536–41. DOI: 10.1073/pnas.0403844101.

3. 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.

4. Sahl J.W., Pearson T., Okinaka R., Schupp J.M., Gillece J.D., Heaton H., Birdsall D., Hepp C., Fofanov V., Noseda R., Fasanella A., Hoffmaster A., Wagner D.M., Keim P. A *Bacillus anthracis* genome sequence from the Sverdlovsk 1979 autopsy specimens. *mBio.* 2016; 7(5):e01501-16. DOI: 10.1128/mBio.01501-16.

5. Bruce S.A., Schiraldi N.J., Kamath P.L., Easterday W.R., Turner W.C. A classification framework for *Bacillus anthracis* defined by global genomic structure. *Evol. Appl.* 2020; 13(5):935–44. DOI: 10.1111/eva.12911.

6. Pilo P., Frey J. Pathogenicity, population genetics and dissemination of *Bacillus anthracis*. *Infect. Genet. Evol.* 2018; 64:115–25. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.06.024.

7. Leendertz F.H., Ellerbrok H., Boesch C., Couacy-Hymann E., Mätz-Rensing K., Hakenbeck R., Bergmann C., Abaza P., Junglen S., Moebius Y., Vigilant L., Formenty P., Pauli G. Anthrax kills wild chimpanzees in a tropical rainforest. *Nature.* 2004; 430(6998):451–2. DOI: 10.1038/nature02722.

8. Klee S.R., Brzuszkiewicz E.B., Nattermann H., Brüggemann H., Dupke S., Wöllherr A., Franz T., Pauli G., Appel B., Liebl W., Couacy-Hymann E., Boesch C., Meyer F.D., Leendertz F.H., Ellerbrok H., Gottschalk G., Grunow R., Liesegang H. The genome of a bacillus isolate causing anthrax in chimpanzees combines chromosomal properties of *B. cereus* with *B. anthracis* virulence plasmids. *PLoS One.* 2010; 5(7):e10986. DOI: 10.1371/journal.pone.0010986.

9. Smith K.L., DeVos V., Bryden H., Price L.B., Hugh-Jones M.E., Keim P. *Bacillus anthracis* diversity in Kruger National Park. *J. Clin. Microb.* 2000; 38(10):3780–4. DOI: 10.1128/JCM.38.10.3780-3784.2000.

10. Kassen R., Llewellyn M., Rainey P.B. Ecological constraints on diversification in a model adaptive radiation. *Nature.* 2004; 431(7011):984–8. DOI: 10.1038/nature02923.

11. Eremenko E.I., Pechkovsky G.A., Ryazanova A.G., Pisarenko S.V., Kovalev D.A., Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Kulichenko A.N. [In silico analysis of genomes of *Bacillus anthracis* strains belonging to major genetic lineages]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2023; 100(3):155–65. DOI: 10.36233/0372-9311-385.

12. Errington J. *Bacillus subtilis* sporulation: regulation of gene expression and control of morphogenesis. *Microbiol. Rev.* 1993; 57(1):1–33. DOI: 10.1128/mr.57.1.1-33.1993.

13. Hoch J.A., Silhavy T.J., editors. Two-Component Signal Transduction. Washington, DC: American Society for Microbiology Press; 1995.

14. Stephenson K., Hoch J.A. Evolution of signalling in the sporulation phosphorelay. *Mol. Microbiol.* 2002; 46(2):297–304. DOI: 10.1046/j.1365-2958.2002.03186.x.

15. Brunsing R.L., La Clair C., Tang S., Chiang C., Hancock L.E., Perego M., Hoch J.A. Characterization of sporulation histidine kinases of *Bacillus anthracis*. *J. Bacteriol.* 2005; 187(20):6972–81. DOI: 10.1128/JB.187.20.6972-6981.2005.

16. Sastalla I., Rosovitz M.J., Leppla S.H. Accidental selection and intentional restoration of sporulation-deficient *Bacillus anthracis* mutants. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76(18):6318–21. DOI: 10.1128/AEM.00950-10.

17. Strauch M., Webb V., Spiegelman G., Hoch J.A. The Spo0A protein of *Bacillus subtilis* is a repressor of the abrB gene. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1990; 87(5):1801–5. DOI: 10.1073/pnas.87.5.1801.

Authors:

Eremenko E.I., Ryazanova A.G., Pechkovsky G.A., Pisarenko S.V., Kovalev D.A., Aksenova L.Yu., Semenova O.V., Kulichenko A.N. Stavropol Research Anti-Plague Institute. 13–15, Sovetskaya St., Stavropol, 355035, Russian Federation. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

Об авторах:

Еремченко Е.И., Рязанова А.Г., Печковский Г.А., Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Куличенко А.Н. Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт. Российской Федерация, 355035, Ставрополь, ул. Советская, 13–15. E-mail: stavnipchi@mail.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-83-100

УДК 614.4(470)

А.А. Зубова¹, А.В. Иванова¹, В.А. Сафронов¹, А.А. Трескин², О.Н. Скударева²

Современные вызовы системе санитарной охраны территории Российской Федерации

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

В исследовании обобщены и проанализированы новые вызовы санитарной охране Российской Федерации, связанные с динамикой эпидемиологической конъюнктуры в странах мира и тенденциями к изменению структуры международных пассажиропотоков. **Цель** работы – совершенствование подходов к снижению рисков заноса опасных инфекционных болезней на основе разработки дополнительных критериев динамической оценки эпидемиологического неблагополучия в зарубежных странах и внедрения индивидуализации определения риска по отношению ко всем прибывающим рейсам. **Материалы и методы.** Анализ актуальной эпидемиологической обстановки проводился с использованием данных отчетов и периодических изданий Всемирной организации здравоохранения, центров по контролю и профилактике заболеваний, министерств здравоохранения стран и научных публикаций. Сведения о структуре пассажиропотока приведены по данным портала Единой межведомственной информационно-статистической системы (допандемийный период – 2018 г., I полугодие 2023 г.). Статистическая информация, по транспортному сообщению получена из открытых отчетов Министерства транспорта Российской Федерации и Федерального агентства воздушного транспорта за 2022 г. и I полугодие 2023 г. Сведения о результатах санитарно-карантинного контроля (СКК) представлены по данным автоматизированной информационной системы «Периметр». **Результаты и обсуждение.** С учетом проанализированных данных в аспекте новых угроз системе санитарной охраны территории Российской Федерации в пределах перечня инфекционных болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране, следует дифференцировать две категории на основе критериев значимости для осуществления СКК. Для наиболее актуальной среднесрочной оценки риска заноса предложен комплекс критериев, включающий ретроспективный анализ заболеваемости, наличия сохраняющихся условий устойчивой циркуляции возбудителя и возможности распространения от человека к человеку в случае заноса на территорию Российской Федерации. Кроме того, нарастание угроз и вызовов санитарной охране диктует необходимость использования современных информационных технологий в рамках санитарно-карантинного контроля.

Ключевые слова: санитарная охрана, санитарно-карантинный контроль, инфекционные болезни, риск заноса, оценка эпидемиологического риска.

Корреспондирующий автор: Зубова Анастасия Алексеевна, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Зубова А.А., Иванова А.В., Сафронов В.А., Трескин А.А., Скударева О.Н. Современные вызовы системе санитарной охраны территории Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 2:83–100. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-83-100
Поступила 04.12.2023. Отправлена на доработку 31.01.2024. Принята к публ. 29.02.2024.

А.А. Zubova¹, A.V. Ivanova¹, V.A. Safronov¹, A.A. Treskin², O.N. Skudareva²

Modern Challenges to the System of Sanitary Protection of the Russian Federation

¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation;²Federal Service for Surveillance on Consumers’ Rights Protection and Human Well-being, Moscow, Russian Federation

Abstract. The current study summarizes and analyzes new challenges to the sanitary protection of the Russian Federation related to the dynamics of the epidemiological situation in the countries of the world and trends in the structure of international passenger traffic. **The aim** is to improve approaches to reducing the risks of importation of dangerous infectious diseases based on development of additional criteria for dynamic assessment of epidemiological disadvantage in foreign countries and individualization of risk determination in relation to all in-coming flights. **Materials and methods.** The present-day epidemiological situation was analyzed using data from reports and periodicals of WHO, Centers for Disease Control and Prevention, Ministries of Health of the countries and scientific publications. Information on the structure of passenger traffic is provided according to the portal of the Unified Interagency Information and Statistical System (pre-pandemic period – 2018, first half of the year 2023). Statistics on transport communication was obtained from the public reports of the Ministry of Transport of the Russian Federation and the Federal Air Transport Agency for 2022 and the first half of the year 2023. Information on the results of the sanitary-quarantine control (SQC) is presented according to the data logged in the automated information system “Perimeter”. **Results and discussion.** Taking into account the analyzed data in regard to the new threats to the system of sanitary protection of the territory of the Russian Federation, infections in the list of infectious diseases, requiring sanitary protection measures, should be differentiated into two categories based on the criteria of significance for implementation of SQC. A set of criteria, including retrospective analysis of morbidity, the presence of persistent conditions of stable circulation of the pathogen and the possibility of transmission from person to person in case of introduction into the territory of the Russian Federation, has been put forward for the most relevant medium-term assessment of the risk of importation. In addition, the increasing threats and challenges to sanitary protection dictate the need to use advanced information technologies within the framework of sanitary-quarantine control.

Key words: sanitary protection, sanitary-quarantine control, infectious diseases, risk of introduction, epidemiological risk assessment.

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

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

Corresponding author: Anastasia A. Zubova, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Zubova A.A., Ivanova A.V., Safronov V.A., Treskin A.A., Skudareva O.N. Modern Challenges to the System of Sanitary Protection of the Russian Federation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:83–100. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-83-100
Received 04.12.2023. *Revised* 31.01.2024. *Accepted* 29.02.2024.

Zubova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8741-5756>
Ivanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4849-3866>

Safronov V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9563-2833>

Санитарная охрана территории Российской Федерации представляет собой двухкомпонентную систему общегосударственных мероприятий, направленных на предупреждение трансграничного заноса инфекционных болезней (а также ввоза товаров, химических, биологических и радиоактивных веществ, отходов и иных грузов), представляющих опасность для населения, и локализацию и ликвидацию очагов этих болезней в случае их возникновения на территории Российской Федерации (реализации на территории страны опасных грузов/товаров) [1]. Перечисленные мероприятия осуществляются органами и учреждениями Роспотребнадзора и регламентируются законом «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения», Международными медико-санитарными правилами (ММСП) (2005). Методологические аспекты их реализации нормативно закреплены в СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», раздел V «Санитарная охрана территории Российской Федерации».

Функционально санитарная охрана территории включает санитарно-карантинный контроль (СКК), проводимый в пунктах пропуска через государственную границу России, и мероприятия на всей территории страны, интегрируемые в содержание национального, регионального и территориального эпидемиологического надзора.

Поскольку применение комплекса мер санитарной охраны направлено на достижение санитарно-эпидемиологического благополучия населения, то, согласно теории управления, этот комплекс обладает такими свойствами системы, как целостность, наличие иерархической структуры взаимосвязанных элементов, целенаправленность и др. Это позволяет рассматривать санитарную охрану территории Российской Федерации как систему, а совокупность факторов, способных привести к возникновению угрозы санитарно-эпидемиологическому благополучию населения, как соответствующие вызовы [2].

Инфекционная заболеваемость по-прежнему представляет явную и реальную угрозу для любой страны в контексте трансграничного распространения. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), в 2022 г. сообщалось о 2 млрд случаев заболевания инфекционными болезнями по всему миру (без учета COVID-19) [3].

На долю инфекционных болезней приходится порядка трети всех смертей в мире, а в развивающихся странах, где здравоохранение недостаточно финансируется, этот показатель возрастает до 45 %.

С интенсивным развитием международного транспортного сообщения инфекционные болезни распространяются по планете намного быстрее, чем когда-либо прежде. Кроме того, они возникают быстрее. Только за последнее десятилетие в мире зарегистрировано более 40 вспышек инфекционных болезней, получивших в дальнейшем эпидемическое распространение. Из них в трех случаях этиологический агент разворачивающихся событий ранее не был известен человечеству: грипп, вызванный вирусом гриппа А (H7N9), ближневосточный респираторный синдром (БВРС) (возбудитель – MERS-CoV), COVID-19 (SARS-CoV-2). Пандемия COVID-19 является напоминанием о том, что инфекционные заболевания могут возникать или возрождаться вновь, неся за собой катастрофические последствия. В 2022 г. Генеральный секретарь Организации Объединенных Наций декларировал, что «COVID-19 продемонстрировал, как быстро инфекционное заболевание может распространиться по всему миру, привести к перегрузке систем здравоохранения и изменить повседневную жизнь всего человечества» [4].

Постоянно сохраняющиеся риски возвращения старых инфекционных болезней, распространение известных заболеваний на ранее неэндемичных территориях, выход из-под контроля ранее управляемых инфекций в результате развития устойчивости к противомикробным препаратам и высокая вероятность возникновения новых инфекций, в отношении которых существует проблема непредсказуемости в аспекте развития эпидемических осложнений, многократно увеличивают риски возникновения, заноса и распространения инфекционных болезней в ранее благополучных странах мира [5–7]. Развитие торгово-экономической деятельности (объем мировой торговли – около 31 трлн долл. США, 2022 г.) [8], возросшая миграционная активность (общее количество международных мигрантов – 280 млн человек, 2022 г.) [9], увеличение пассажиропотока (более 6,6 млрд человек, 2022 г.) [10], развитие международного туризма (более 900 млн туристических поездок, 2022 г.) [11], интеграция стран в крупные экономические объединения, образование мощных международных транспортных коридоров и другие глобализационные процессы, происходящие на современном этапе многократно увеличивают риск заноса и распространения опасных инфекционных болезней, способных вызвать чрезвычайную ситуацию (ЧС) эпидемиологического характера на территории любой страны мира, в том числе Российской Федерации. Ежегодно границы России пересекают более 23 млн человек из разных стран мира.

При этом территория любой страны обладает внешним фоном угроз санитарно-эпидемиологическому благополучию населения России. Учитывая наличие общих границ России с 18 государствами, существование трансграничных природных очагов инфекционных болезней, включая особо опасные, возможность транспортного сообщения со всеми странами мира на всех континентах, риск заноса инфекционных болезней на территорию нашей страны крайне высок и представляет существенную угрозу санитарно-эпидемиологическому благополучию населения России [12].

В настоящем исследовании мы обобщили и проанализировали новые вызовы санитарной охране Российской Федерации, связанные с динамикой эпидемиологической конъюнктуры в странах мира и тенденциями к изменению структуры международных пассажиропотоков.

Целью работы явилось совершенствование подходов к снижению рисков заноса опасных инфекционных болезней на основе разработки дополнительных критериев динамической оценки эпидемиологического неблагополучия в зарубежных странах и внедрения индивидуализации определения риска по отношению ко всем прибывающим рейсам.

Материалы и методы

Анализ актуальной эпидемиологической обстановки производился с использованием данных отчетов и периодических изданий ВОЗ, региональных бюро ВОЗ, центров по контролю и профилактике заболеваний, министерств здравоохранения стран и научных публикаций. Сведения о структуре пассажиропотока и количестве лиц, прибывших на территорию России, приведены по данным портала Единой межведомственной информационно-статистической системы (допандемийный период – 2018 г., I полугодие 2023 г.). Статистическая информация по транспортному сообщению получена из открытых отчетов Министерства транспорта Российской Федерации и Федерального агентства воздушного транспорта за 2022 г. и I полугодие 2023 г. Сведения о результатах СКК представлены по данным внедренной в промышленную эксплуатацию в 241 пункте пропуска через государственную границу Российской Федерации в 2022 г. автоматизированной информационной системы (АИС) «Периметр».

Результаты и обсуждение

Современная номенклатура естественных угроз в области общественного здравоохранения включает, прежде всего, инфекционные болезни, способные оказать дестабилизирующее воздействие на общественное здоровье, сопряженное с крупными социально-экономическими и политическими потрясениями. В ММСП (2005) приведен перечень таких инфекционных и паразитарных заболеваний, включающий 14 нозологических форм;

в СанПиН 3.3686-21 список нозологических форм, способных формировать чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера (далее – Перечень), расширен до 26, часть из которых могут оказывать серьезное воздействие на здоровье населения, имеют потенциал к эпидемическому распространению и представляют угрозу не только национальному благополучию, но и способны быстро распространяться в международном масштабе. Остальные же представляют угрозы регионального значения, мониторинг за заболеваемостью которыми (зоонозные, трансмиссивные, природно-очаговые инфекционные болезни), а также контроль состояния природных очагов на территории страны, в свою очередь, необходимы для оценки возможности реализации эпидемических осложнений в случае заноса инфекции в целях санитарной охраны территории. В связи с этим данный Перечень требует детализации в классификации списка инфекционных болезней, представляющих риск заноса на территорию Российской Федерации с потенциалом к последующему распространению, и заболеваний, не представляющих риска антропогенного распространения.

Необходимо отметить, что высокая вероятность прибытия на территорию Российской Федерации лиц с инфекционными болезнями, не представляющими эпидемиологической опасности (например, бруцеллез), характеризует минимальную биологическую угрозу санитарно-эпидемиологическому благополучию населения России; напротив, завоз даже единичного случая высококонтагиозной инфекции определит наивысший риск ее дальнейшего распространения. В связи с этим усиление мероприятий в рамках санитарной охраны требует дифференциации инфекционных заболеваний по уровню риска дальнейшего распространения инфекции на территории России [12].

Такие высококонтагиозные геморрагические лихорадки, как Эбола, Марбург и Ласса, относятся к инфекционным болезням, даже единичный случай которых может привести к возникновению ЧС, и требуют проведения мероприятий по санитарной охране территории РФ. Вероятность заноса инфекции низкая, однако он все-таки возможен с прибытием больного с клинической симптоматикой или заболевшего человека, находящегося в инкубационном периоде; завозом инфицированных грызунов или товаров, контаминированных выделениями инфицированных грызунов (в случае лихорадки Ласса).

Такие инфекции, как оспа, человеческий грипп, вызванный новым подтипом, тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС), являются, по версии ММСП (2005), «необычным»/«неожиданным» событием, способным оказать серьезное воздействие на здоровье населения, в связи с чем каждый случай подозрения на данные заболевания подлежит СКК.

Холера представляет собой серьезную проблему общественному здравоохранению любой страны. История начала всех пандемий холеры – это история заносов этой инфекции из эндемичных очагов Азии

в различные страны и континенты мира с последующим распространением и поражением огромных масс населения. Только за период с 1961 по 2022 г. в мире зарегистрировано более 3500 случаев заносов этой инфекции. При этом в структуре заносов по континентам мира наибольший удельный вес приходится на страны Азии, из которых холера была импортирована в основном в тот же регион, а также в Европу и Америку [13, 14]. На современном этапе наибольшую опасность в плане заноса холеры представляют такие страны, как Гаити, Йемен, где продолжающиеся вспышки холеры признаны ВОЗ как тяжелейшие ЧС санитарно-эпидемиологического характера в мире. При этом сложная социальная и политическая обстановка в указанных странах не позволяет контролировать инфекцию. Активная миграция населения внутри стран и за их пределами способствует распространению холеры. Кроме того, эпидемиологический надзор за холерой в регионе Юго-Восточной Азии ограничен, регистрация случаев находится на низком уровне. ВОЗ подчеркивает, что эпидемиологический учет мировой заболеваемости холерой искажается из-за отсутствия полной отчетности из стран Азии с высоким уровнем заболеваемости (таких как Индия и Бангладеш), при этом постоянно сохраняется риск распространения холеры в другие регионы.

Серьезные опасения вызывают риски заноса чумы. В прошлом чума вызывала масштабные пандемии с высоким уровнем летальности. Сейчас чума легко поддается лечению антибиотиками, однако до сих пор периодически регистрируются вспышки этой болезни. Природные очаги чумы существуют сегодня на всех континентах (за исключением Австралии и Антарктиды) и занимают приблизительно 6–7 % территории суши. В Азии, Африке, Северной и Южной Америке и на океанских островах насчитывается 50 государств, на территории которых существуют природные очаги чумы. За последние 30 лет более 50 тыс. человек были инфицированы чумой по всему миру, летальность при этом составляла порядка 10 %. Наибольшую опасность в плане заноса и распространения болезни представляет человек с легочной формой чумы. Инкубационный период может быть чрезвычайно коротким (до 24 ч). Больной легочной чумой человек может легко передавать инфекцию окружающим воздушно-капельным путем. Современные вспышки чумы, как правило, своевременно купируются, что минимизирует риски распространения болезни. Выноса инфекции за пределы страны не было допущено даже в крупнейшей вспышке легочной чумы за последние 50 лет (Мадагаскар, 2017 г. – свыше 2 тыс. случаев) [15]. Риски заноса чумы (с инфицированным животным или заболевшим человеком) невозможно полностью исключить, однако серьезный подъем заболеваемости маловероятен.

БВРС остается относительно новым, малоизученным заболеванием (вспышка БВРС, 2012 г., Ближний Восток), в связи с чем представляет серьез-

ные риски в плане заноса инфекции. Опасность представляют как заболевшие люди, так и животные (в основном верблюды). В эпидемиологическом плане опасен тесный контакт с заболевшим человеком без средств индивидуальной защиты. Среди путей заражения не исключается контактно-бытовой, респираторный. Свободной циркуляции вируса в воздухе во время вспышки инфекции не зарегистрировано, следовательно, свободная передача вируса от человека человеку не подтверждена. Самая крупная вспышка БВРС, зарегистрированная за пределами Ближнего Востока, отмечена в 2015 г. в Южной Корее (распространение в медицинском учреждении). Всего в ходе вспышки зарегистрировано 186 случаев заболевания, из них 36 летальных. Опасность БВРС усугубляется тем, что в эндемичный регион ежегодно приезжают миллионы туристов и паломников-мусульман практически со всего мира, и в результате туристических, деловых поездок, а также хаджа вирус появился и в других регионах: случаи заболевания зарегистрированы к настоящему времени в 27 странах мира [16].

В перечень болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории, включены зоонозы: бруцеллез, сибирская язва, сальмонеллез (кроме легочной формы), мелиоидоз, – которые не представляют риска антропогенного распространения. Противоэпидемические мероприятия при выявлении таких больных направлены на установление источника инфекции (больное животное, объекты окружающей среды), лиц, находившихся в равных условиях с заболевшим по риску инфицирования, проведение экстренной профилактики антибактериальными препаратами и регламентируются действующими нормативно-методическими документами для каждой нозологической формы.

Боливийская (Мачупу, БГЛ) и Аргентинская (Хуни, АГЛ) лихорадки относятся к группе зоонозных геморрагических лихорадок. Природные очаги болезней располагаются только на территории Южной Америки. Источник инфекции – мышевидные грызуны. Антропогенное распространение возможно при контакте с кровью заболевшего (медицинские манипуляции). Возможен занос инфекции на неэндемичные территории с грызунами и больными людьми. Установлено, что крысы могут быть хронически инфицированы вирусом АГЛ. Возможна контаминация грузов и товаров инфицированными экскрементами грызунов. В связи с этим в случае завоза АГЛ и БГЛ на неэндемичную территорию необходимо осуществлять контроль перемещения людей и грузов, прибывающих из эндемичных районов. Риск широкого распространения инфекции на территории неэндемичных стран маловероятен.

Также в перечень болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории, включены трансмиссивные инфекции: желтая лихорадка, малярия, лихорадки Западного Нила (ЛЗН), денге, Рифт-Валли, болезнь, вызванная вирусом Зика, Крымская геморрагическая

лихорадка (КГЛ), эпидемический сыпной тиф. Обязательным условием реализации инфекции является наличие кровососущего переносчика. Как правило, заболевший человек не представляет эпидемиологической опасности для окружающих. Лица, зараженные такими инфекциями, подлежат госпитализации. Противоэпидемические мероприятия при выявлении больных заключаются в их изоляции от насекомых-переносчиков (в помещениях с застекленными окнами), мониторинге и контроле популяции переносчиков.

Для Российской Федерации эндемичными инфекционными болезнями из представленного списка являются ЛЗН и КГЛ. В случае реализации заноса больной ЛЗН не представляет эпидемиологической опасности. Заболевший человек не заразен и не является источником инфекции для окружающих. Даже в случае массового заноса болезни инфицированными людьми риск распространения инфекции отсутствует. В случае заноса КГЛ человек представляет опасность для окружающих только посредством контакта с кровью больного человека (как правило, медицинские работники или близкие контакты). Массовое распространение инфекции за счет включения местных переносчиков возбудителей инфекций маловероятно. В то же время в южных регионах России (Черноморское побережье Кавказа, Крым) климатические условия способствуют возрастанию эпидемиологического значения комаров – переносчиков возбудителей тропической малярии, желтой лихорадки, лихорадки денге, лихорадки Зика. На территории страны распространены комары, которые могут являться переносчиками возбудителей опасных инфекционных заболеваний. В настоящее время (с 2011 г.) на Северном Кавказе и Черноморском побережье России (Краснодарский край) сформировались стабильные самовоспроизводящиеся популяции инвазивных тропических комаров *Aedes (Stegomyia) albopictus* и *Aedes (Stegomyia) aegypti* (переносчики возбудителей желтой лихорадки, лихорадки денге, Зика, чикунгунья).

В случае заноса малярии, желтой лихорадки, лихорадки денге, Зика, Рифт-Валли эпидемиологическое значение имеет время регистрации больного. В сезон активности комаров-переносчиков (в зависимости от территории страны) больной человек представляет эпидемиологическую опасность и может явиться источником передачи инфекции (посредством укуса комара – переносчика вируса).

Вторичные от завозных, местные случаи инфекционных болезней с трансмиссивным механизмом могут возникать по причине переноса возбудителя кровососущими насекомыми или вследствие реализации искусственного (инокуляционно-шприцевого) пути передачи возбудителя инфекции. Кроме того, эпидемиологическое осложнение в случае заноса таких инфекционных болезней, как ЛЗН, лихорадка Зика, возможны на территории страны (без конкретной географической привязки к территории) в случаях реализации иных путей передачи: половой, верти-

кальный (от матери к плоду), искусственный (переливание крови).

В случае благоприятных природно-климатических условий и наличия местной циркуляции комаров-переносчиков единичные вторичные случаи возможны, но практически маловероятны. Без формирования устойчивой, круглогодичной местной циркуляции возбудителя инфекции в популяции комаров или клещей (появление нового природного очага, с высокой численностью специфических видов переносчиков в регионах юга России) массовые случаи инфицирования человека крайне маловероятны. Массовые вторичные случаи трансмиссивных инфекционных болезней, тем не менее, возможны при нарушении требований асептики при оказании медицинской помощи или нарушении процедур обеспечения безопасности донорской крови.

Одним из значимых вызовов в новейшей истории санитарной охраны территории Российской Федерации явилось пандемическое распространение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Пандемия потребовала принятия оперативных, масштабных и скоординированных мер, направленных на снижение риска заноса новой инфекционной болезни на территорию нашей страны, а в случае реализации заноса COVID-19 – оценки масштабов, характера распространенности, планирования и проведения профилактических и противоэпидемических мероприятий, направленных на снижение риска распространения заболевания среди населения [17]. Несмотря на предпринятый комплекс противоэпидемических (профилактических) мер, случаев заноса COVID-19 на территорию Российской Федерации избежать не удалось, как и во всех странах без исключения. Одним из ключевых факторов стремительного распространения COVID-19 через учреждения санитарного контроля по всему миру послужила способность возбудителя вызывать инфекцию без клинических проявлений (до 40 % случаев) при сохранении возможности передачи заразного начала [18]. Следует отметить, что спустя три года пандемии оценка эпидемиологического риска, связанного с COVID-19, может быть подвергнута пересмотру в соответствии с изменившимися условиями и значительным снижением ассоциированного социально-экономического ущерба. В настоящее время на фоне повсеместного распространения генетического варианта омикрон и приобретения населением высокого уровня постинфекционного и поствакцинального иммунитета (по состоянию на октябрь 2023 г. привито более 5 млрд человек, 72,2 % населения стран мира) проблема COVID-19 утрачивает приоритетность в аспекте СКК [19].

Случаи малярии и лихорадки денге носят только завозной характер. Они регистрируются ежегодно, без вторичной передачи инфекции. В 2021 г. случаи завоза малярии регистрировались в 32 субъектах Российской Федерации, в 2022 г. – на 41 территории страны. За последние десять лет в целом по России выявляется 57–132 завозных случаев малярии еже-

годно. Подавляющее большинство случаев регистрируется у граждан, прибывших из стран Африки и Азии. Случаи лихорадки денге зарегистрированы в 2020–2022 гг. в 35 субъектах Российской Федерации. Всего в 2020–2022 гг. выявлено 159 случаев этой инфекции.

К трансмиссивным инфекциям из Перечня также отнесен эпидемический сыпной тиф, представляющий серьезные риски распространения инфекции в случае заноса ее в социально неблагополучную когорту населения. В настоящее время высокая заболеваемость сыпным тифом сохранилась лишь в некоторых развивающихся странах. Однако многолетнее сохранение риккетсий у ранее переболевших сыпным тифом и периодическое появление рецидивов в виде болезни Брилля – Цинссера не исключает вероятность эпидемических вспышек сыпного тифа. Это возможно при ухудшении социальных условий (повышенная миграция населения, педикулез, ухудшение питания и другие факторы). Проявления сыпного тифа не регистрируются в России с 1999 г. С учетом этих обстоятельств занос инфекции возможен, но массовое распространение инфекции – маловероятно.

Полиомиелит, хотя и элиминирован на территории России, по-прежнему представляет серьезную угрозу санитарно-эпидемиологическому благополучию страны посредством вероятности заноса инфекции из эндемичных стран (Афганистан, Пакистан). Примером способности полиовируса легко импортироваться в любую страну с последующим быстрым распространением является вспышка в Таджикистане в апреле 2010 г. – первая вспышка в Европейском регионе ВОЗ после его сертификации в 2002 г. как свободного от полиомиелита. В общей сложности в Таджикистане было выявлено 706 заболевших, у 458 диагноз полиомиелита подтвержден лабораторно. Дальнейшее распространение вируса произошло в Россию (7 случаев), Туркменистан (3), Казахстан (1) [20]. В России последние случаи заболевания полиомиелитом были зарегистрированы в 1996 г., а в 2001 г. страна сертифицирована ВОЗ как свободная от циркуляции диких полиовирусов. В 2011 г. произошел занос вируса полиомиелита из Пакистана в Китай (зарегистрирован 21 случай заболевания с одним летальным исходом).

Оспа обезьян не включена в перечень инфекционных болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации. Вместе с тем возбудитель оспы обезьян относится к I группе патогенности (опасности) и имеет существенный потенциал к широкому распространению на неэндемичных территориях, что продемонстрировано в крупнейшей вспышке за пределами Африканского региона в 2022 г. – завоз и распространение на территориях 117 стран мира с совокупным числом заболевших, превышающим 93 тыс. человек [21]. При рассмотрении данной инфекционной болезни на предмет соответствия критериям актуальности для СКК становится очевидной

необходимость включения ее в перечень инфекционных болезней, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации.

Кроме того, перечень инфекционных болезней, ассоциируемых с ЧС санитарно-эпидемиологического характера, на сегодняшний день остается открытым, поскольку завершается рубрикой «и другие», как свидетельство постоянно сохраняющейся вероятности заноса новых, ранее неизвестных человечеству инфекционных болезней с невыясненной этиологией, показателями заболеваемости, летальности и потенциала к эпидемическому распространению, отсутствие готовности к которым может повлечь за собой разрушительные последствия для здоровья общества, экономики и торговли [22].

Проведенная экспертная оценка риска (табл. 1) позволила определить инфекционные болезни из Перечня, значимые для СКК, занос на территорию Российской Федерации которых способен вызвать ЧС за счет вероятности массового распространения. В качестве критериев значимости инфекционной болезни для СКК использована информация о регистрируемых в настоящее время вспышках инфекционных болезней в мире и способности возбудителя передаваться антропогенным путем.

Таким образом, к инфекционным болезням, актуальным в плане СКК территории Российской Федерации, относятся: оспа, оспа обезьян, полиомиелит, вызванный диким полиовирусом, человеческий грипп, вызванный новым подтипом, ТОРС, БВРС, холера, чума, геморрагические лихорадки Ласса, Эбола и Марбург, а также менингококковая инфекция. За остальными инфекционными болезнями из Перечня, в отношении которых СКК малоэффективен, необходим пристальный контроль в рамках реализуемого на территории страны эпидемиологического надзора.

Анализ угроз санитарно-эпидемиологическому благополучию населения Российской Федерации в части комплекса факторов, влияющих на вероятность реализации заноса опасных инфекционных болезней, на современном этапе позволил определить несколько ключевых вызовов санитарной охране территории. Ниже нами рассмотрены вызовы, связанные с динамикой эпидемиологической конъюнктуры в странах мира и тенденциями к изменению структуры международных пассажиропотоков в Российскую Федерацию.

Динамика эпидемиологической конъюнктуры как вызов санитарной охране территории РФ. Эпидемиологическая конъюнктура в мире характеризуется определенными изменениями, которые отражают общую тенденцию к эволюции и глобализации инфекционных болезней.

Рост населения планеты, наиболее интенсивно происходящий в регионах с санитарно-эпидемиологическим неблагополучием, усугубляет контакт человека с дикой природой, что создает условия для межвидового перехода возбудителей от животных к человеку. Анализ появления новых возбудите-

Таблица 1

Анализ актуальности инфекционной болезни для СЖК территории Российской Федерации

Инфекционная болезнь	Страна-источник	Распространение на территории России	Сезон	Вероятность завоза	Риск распространения	Вероятность массовой реализации завоза инфекции на территории России
1	2	3	4	5	6	7
Оспа	Элиминирована Демократическая Республика Конго (ДРК), Камерун, Кот-д'Ивуар, Габон, Либерия, Нигерия, Республика Конго, Сьерра-Леоне, Центральноафриканская Республика. 2022–2023 гг. – межконтинентальная вспышка	Повсеместно	Круглогодично	Низкая	Высокий	Присутствует
Полиомиелит, вызванный диким полиовирусом	Афганистан, Пакистан	Повсеместно	Круглогодично	Низкая	Высокий	Присутствует
Человеческий грипп, вызванный новым подвидом	Вероятность возникновения в любой стране	Повсеместно	Круглогодично	Высокая	Высокий	Присутствует
ТОРС	Элиминирован	Повсеместно	Круглогодично	Низкая	Высокий	Присутствует
Холера	Африканский регион: Ангола, Алжир, Бенин, Буркина-Фасо, Бурунди, Замбия, Зимбабве, ДРК, Камерун, Кения, Малави, Мозамбик, Нигер, Нигерия, Танзания, Уганда, Эфиопия, Южно-Африканская Республика, Южный Судан. Юго-Восточная Азия: Бангладеш, Индия, Непал, Таиланд. Восточно-Средиземноморский регион: Афганистан, Ирак, Иран, Йемен, Ливан, Пакистан, Сирия, Сомали. Западно-Тихоокеанский регион: Китай, Малайзия, Филиппины. Американский регион: Гаити, Доминиканская Республика	Повсеместно	Круглогодично	Высокая	Высокий	Присутствует
Чума	Африканский регион: ДРК, Мадагаскар, Танзания, Уганда. Американский регион: США. Западно-Тихоокеанский регион: Китай, Монголия	Повсеместно	Круглогодично	Низкая	Высокий	Присутствует
Желтая лихорадка	Африканский регион: Ангола, Бенин, Буркина-Фасо, Бурунди, Камерун, Центральноафриканская Республика, Кения, Конго, Кот-д'Ивуар, ДРК, Габон, Гана, Гамбия, Гвинея, Гвинея-Бисау, Либерия, Мали, Мавритания, Нигерия, Нигер, Руанда, Сан-Томе и Принсипи, Сенегал, Судан, Сьерра-Леоне, Того, Уганда, Чад, Эфиопия. Американский регион: Аргентина, Боливия, Бразилия, Колумбия, Эквадор, Французская Гвиана, Гайана, Панама, Парагвай, Перу, Суринам, Тринидад и Тобаго, Венесуэла. Восточно-Средиземноморский регион: Судан и Сомали	Северный Кавказ (субъекты Южного и Северо-Кавказского федеральных округов) и Черноморское побережье России (в основном Краснодарский край)	Летний (для южных регионов страны апрель – октябрь)	Высокая	Низкий	Присутствует на определенных территориях
Лихорадка Ласса	Африканский регион: Бенин, Гана, Гвинейская Республика, Либерия, Мали, Нигерия, Сьерра-Леоне	Повсеместно	Круглогодично	Высокая	Высокий	Присутствует
БВВМ	Африканский регион: Ангола, Гвинейская Республика, Гана, ДРК, Кения, Танзания, Уганда, Южно-Африканская Республика	Повсеместно	Круглогодично	Высокая	Высокий	Присутствует
БВВЭ	Африканский регион: Габон, Гвинейская Республика, ДРК, Кот-д'Ивуар, Либерия, Республика Конго, Сьерра-Леоне, Судан, Уганда	Повсеместно	Круглогодично	Высокая	Высокий	Присутствует

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
БВРС	Восточно-Средиземноморский регион: Иордания, Катар, Кувейт, Объединенные Арабские Эмираты, Оман, Саудовская Аравия	Повсеместно	Круглогодично	Высокая	Высокий	Присутствует
COVID-19	Все страны мира	Повсеместно	Круглогодично	Высокая	Высокий	Присутствует
Малярия	Практически все страны Африканского региона, Ближнего Востока и Латинской Америки	Переносчики малярии отсутствуют на территории России, однако в стране представлено 10 видов комаров рода <i>Anopheles</i> (способность которых передавать малярию на сегодняшний день не доказана, но и не исключена), которые широко распространены по берегам Волги, на Дальнем Востоке, в южных регионах страны	Сезон ограничен активностью комаров-переносчиков (различна в разных регионах страны)	Высокая	Низкий	Отсутствует
ЛЗН	Практически все страны Африканского региона, Средиземноморья, Ближнего Востока, Юго-Восточной Азии и ряд стран Европейского региона (Венгрия, Германия, Греция, Израиль, Испания, Италия, Кипр, Румыния, Сербия, Франция, Хорватия, Чехия)	Центральный федеральный округ (ФО): Воронежская, Владимирская, Курская, Липецкая, Тамбовская, Тверская, Тульская области, г. Москва. Южный ФО: Республика Крым, Краснодарский край, Астраханская, Волгоградская, Ростовская области. Северо-Кавказский ФО: Республика Дагестан, Карачаево-Черкесская Республика, Ставропольский край. Приволжский ФО: Ульяновская область. Уральский ФО: Ханты-Мансийский автономный округ. Сибирский ФО: Омская область	Сезон ограничен активностью комаров-переносчиков (различна в разных регионах страны)	Высокая	Низкий	Присутствует на определенных территориях
КГП	Африканский регион: ДРК, Мавритания, Намибия, Танзания, Уганда, Сенегал, Южно-Африканская Республика. Европейский регион: Албания, Болгария, Греция, Грузия, Казахстан, Северная Македония, Таджикистан, Туркменистан, Турция, Узбекистан. Восточно-Средиземноморский регион: Афганистан, Ирак, Иран, Оман, Пакистан, Саудовская Аравия. Западно-Тихоокеанский регион: Китай. Юго-Восточная Азия: Индия	Южный ФО: Ростовская, Волгоградская, Астраханская области, Республика Калмыкия и Краснодарский край. Северо-Кавказский ФО: Ставропольский край, Кабардино-Балкарская и Карачаево-Черкесская республики, Республика Дагестан и Ингушетия	Сезон ограничен активностью переносчиков (различна в разных регионах страны)	Высокая	Низкий	Отсутствует

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6	7
Лихорадка денге	Все страны Юго-Восточной Азии и Западно-Тихоокеанского региона	Северный Кавказ (субъекты Южного и Северокавказского ФО) и Черноморское побережье России (в основном Краснодарский край)	Летний (для южных регионов страны апрель – октябрь)	Высокая	Низкий	Присутствует на определенных территориях
Лихорадка Рифл-Валли	Страны Латинской Америки, Африки	Северный Кавказ (субъекты Южного и Северокавказского ФО) и Черноморское побережье России (в основном Краснодарский край)	Летний (для южных регионов страны апрель – октябрь)	Высокая	Низкий	Присутствует на определенных территориях
Лихорадка Зика	Страны Латинской Америки, Африки	Северный Кавказ (субъекты Южного и Северокавказского ФО) и Черноморское побережье России (в основном Краснодарский край)	Летний (для южных регионов страны апрель – октябрь)	Высокая	Низкий	Присутствует на определенных территориях
Менингококковая инфекция	Африканский «менингитный пояс»: Бенин, Буркина-Фасо, Бурунди, ДРК, Гамбия, Гана, Гвинея, Гвинея-Бисау, Камерун, Кения, Кот-д'Ивуар, Мали, Мавритания, Нигер, Нигерия, Руанда, Сенегал, Судан, Танзания, Того, Уганда, Центральноафриканская Республика, Чад, Эритрея, Эфиопия, Южный Судан	Повсеместно	Круглогодично	Высокая	Низкий	Присутствует
Сибирская язва	Практически повсеместно в сельскохозяйственных регионах Африки, Центральной и Южной Америки, Центральной и Юго-Западной Азии, а также Южной и Восточной Европы	Повсеместно	Круглогодично	Высокая	Низкий	Отсутствует
Бруцеллез	Практически повсеместно в сельскохозяйственных регионах Африки, Центральной и Южной Америки, Центральной и Юго-Западной Азии, а также Южной и Восточной Европы	Повсеместно	Круглогодично	Высокая	Низкий	Отсутствует
Сип	Европейский регион: Турция. Восточно-Средиземноморский регион: Иран, Ирак, Пакистан. Западно-Тихоокеанский регион: Китай, Монголия, Филиппины. Юго-Восточная Азия: Индия и Индонезия	Повсеместно	Круглогодично	Низкая	Низкий	Отсутствует
Мелииоз	Американский регион: США. Западно-Тихоокеанский регион: Австралия, Бруней, Вьетнам, Китай, Лаос, Малайзия, Сингапур. Юго-Восточная Азия: Индия, Мьянма, Таиланд	Повсеместно	Круглогодично	Низкая	Низкий	Отсутствует
Эпидемический сыпной тиф	Американский регион: Мексика, Перу, Эквадор. Африканский регион: Бурунди, Марокко, Руанда, Тунис, Эфиопия, Южно-Африканская Республика. Восточно-Средиземноморский регион: Афганистан, Иран, Ливия	Повсеместно	Круглогодично	Низкая	Низкая	Отсутствует
Хуния, АГЛ	Аргентина	Повсеместно	Круглогодично	Низкая	Низкая	Отсутствует
Мацупо, БГЛ	Боливия	Повсеместно	Круглогодично	Низкая	Низкая	Отсутствует

Примечание: В таблице приведена экспертная оценка риска, основанная на регистрируемых в настоящее время вспышках инфекционных болезней в мире и способности возбудителя передаваться антропогенным путем.

Table 1

Analysis of the relevance of infectious disease for SQC in the Russian Federation

Infectious disease	Source country	Distribution on the territory of Russia	Season	Probability of importation	Risk of spread	Probability of mass realization of infection on the territory of Russia
1	2	3	4	5	6	7
Smallpox	Eliminated	Countrywide	Year-round	Low	High	Present
Monkeypox	African region: Cameroon, Côte d'Ivoire, Central African Republic, Democratic Republic of the Congo (DRC), Gabon, Liberia, Nigeria, Republic of the Congo, Sierra Leone. 2022–2023 – intercontinental outbreak	Countrywide	Year-round	High	High	Present
Poliomyelitis caused by wild poliovirus	Afghanistan, Pakistan	Countrywide	Year-round	Low	High	Present
Human influenza caused by a new subspecies	Probability of occurrence in any country	Countrywide	Year-round	High	High	Present
SARS	Eliminated	Countrywide	Year-round	Low	High	Present
Cholera	African Region: Angola, Algeria, Benin, Burkina Faso, Burundi, Cameroon, DRC, Ethiopia, Kenya, Malawi, Mozambique, Niger, Nigeria, South Africa, South Sudan, Tanzania, Uganda, Zambia, Zimbabwe. Southeast Asia: Bangladesh, India, Nepal, Thailand. Eastern Mediterranean region: Afghanistan, Iraq, Iran, Lebanon, Pakistan, Somalia, Syria, Yemen. Western Pacific Region: China, Malaysia, Philippines. American Region: Haiti, Dominican Republic	Countrywide	Year-round	High	High	Present
Plague	African Region: DRC, Madagascar, Tanzania, Uganda. American Region: USA. Western Pacific region: China, Mongolia	Countrywide	Year-round	Low	High	Present
Yellow fever	African Region: Angola, Benin, Burkina Faso, Burundi, Cameroon, Central African Republic, Congo, Côte d'Ivoire, DRC, Gabon, Ghana, Chad, Ethiopia, Gambia, Guinea, Guinea-Bissau, Liberia, Mali, Mauritania, Nigeria, Niger, Rwanda, Sao Tome and Principe, Senegal, Sierra Leone, Sudan, Togo, Uganda. American Region: Argentina, Bolivia, Brazil, Colombia, Ecuador, French Guiana, Guyana, Panama, Paraguay, Peru, Suriname, Trinidad and Tobago, Venezuela. Eastern Mediterranean Region: Sudan and Somali	North Caucasus (constituent entities of the Southern and North Caucasian Federal Districts) and the Black Sea coast of Russia (mainly Krasnodar Territory)	Summer (for southern regions of the country April–October)	High	Low	Present on certain territories
Lassa fever	African Region: Benin, Ghana, Republic of Guinea, Liberia, Mali, Nigeria, Sierra Leone	Countrywide	Year-round	High	High	Present
MVD	African Region: Angola, DRC, Ghana, Guinea, Kenya, South Africa, Tanzania, Uganda	Countrywide	Year-round	High	High	Present

Continuation of the table 1

1	2	3	4	5	6	7
EVD	African Region: Côte d'Ivoire, DRC, Gabon, Guinea, Liberia, Republic of the Congo, Sierra Leone, Sudan, Uganda Eastern Mediterranean Region: Jordan, Kuwait, Oman, Qatar, Saudi Arabia, UAE and Qatar	Countrywide	Year-round	High	High	Present
MERS	All countries of the world	Countrywide	Year-round	High	High	Present
COVID-19	Almost all countries in the African Region, the Middle East and Latin America	Malaria vectors are absent in Russia, however there are 10 species of <i>Anopheles mosquitoes</i> (whose ability to transmit malaria has not been proven to date, but is not excluded) – widely distributed along the banks of the Volga river, in the Far East, and in the southern regions of the country	The season is limited by the activity of vector-mosquitoes (varies in different regions of the country)	High	Low	Absent
Malaria	Almost all countries in the African Region, the Mediterranean, the Middle East, Southeast Asia and a number of countries in the European Region (Croatia, Cyprus, the Czech Republic, France, Germany, Greece, Hungary, Israel, Italy, Romania, Spain, France, Serbia)	Central Federal District (FD): Voronezh, Vladimir, Kursk, Lipetsk, Tambov, Tver, Tula Regions, Moscow. Southern FD: the Republic of Crimea, Krasnodar Territory, Astrakhan, Volgograd, Rostov Regions. North Caucasian FD: Republic of Dagestan, Karachai-Cherkess Republic, Stavropol Territory. Volga FD: Ulyanovsk Region. Ural FD: Khanty-Mansi Autonomous District. Siberian FD: Omsk Region	The season is limited by the activity of vector-mosquitoes (varies in different regions of the country)	High	Low	Present on certain territories
WNF	African Region: DRC, Mauritania, Namibia, Tanzania, Uganda, Senegal, Republic of South Africa. European Region: Albania, Bulgaria, Georgia, Greece, Kazakhstan, North Macedonia, Tajikistan, Turkey, Turkmenistan, Uzbekistan. Eastern Mediterranean Region: Afghanistan, Iran, Iraq, Oman, Pakistan, Saudi Arabia. Western Pacific Region: China. Southeast Asia: India	Southern FD: Rostov, Volgograd, Astrakhan Regions, Republic of Kalmykia and Krasnodar Territory. North Caucasian FD: Stavropol Territory, Kabardino-Balkar Territory, Karachai-Cherkess Republics, the Republics of Dagestan and Ingushetia	The season is limited by the activity of vector-mosquitoes (varies in different regions of the country)	High	Low	Absent
CCHF	All countries of Western Pacific Region and Southeast Asia	North Caucasus (constituent entities of the Southern and North Caucasian FD) and the Black Sea coast of Russia (Krasnodar Territory)	Summer (for southern regions of the country April-October)	High	Low	Present on certain territories
Dengue fever						

Ending of the table

1	2	3	4	5	6	7
Rift Valley fever	Countries of Latin America, Africa	North Caucasus (constituent entities of the Southern and North Caucasian FD) and the Black Sea coast of Russia (Krasnodar Territory)	Summer (for southern regions of the country April-October)	High	Low	Present on certain territories
Zika fever	Countries of Latin America, Africa	North Caucasus (constituent entities of the Southern and North Caucasian FD) and the Black Sea coast of Russia (Krasnodar Territory)	Summer (for southern regions of the country April-October)	High	Low	Present on certain territories
Meningococcal disease	African "meningitis belt" : Benin, Burkina Faso, Burundi, Cameroon, Central African Republic, Chad, Côte d'Ivoire, DRC, Eritrea, Ethiopia, Gambia, Ghana, Guinea, Guinea-Bissau, Kenya, Mali, Mauritania, Niger, Nigeria, Rwanda, Senegal, South Sudan, Sudan, Tanzania, Togo, Uganda	Countrywide	Year-round	High	Low	Present
Anthrax	Almost ubiquitous in agricultural regions of Africa, Central and South America, Central and Southwest Asia, and Southern and Eastern Europe	Countrywide	Year-round	High	Low	Absent
Brucellosis	Almost ubiquitous in agricultural regions of Africa, Central and South America, Central and Southwest Asia, and Southern and Eastern Europe	Countrywide	Year-round	High	Low	Absent
Glanders	European Region : Turkey. Eastern Mediterranean Region : Iran, Iraq, Pakistan. Western Pacific Region : China, Mongolia, Philippines. Southeast Asia : India and Indonesia	Countrywide	Year-round	Low	Low	Absent
Melioidosis	American Region : USA. Western Pacific Region : Australia, Brunei, China, Laos, Malaysia, Singapore, Vietnam. Southeast Asia : India, Myanmar, Thailand	Countrywide	Year-round	Low	Low	Absent
Epidemic typhus	American Region : Mexico, Peru, Ecuador. African Region : Burundi, Ethiopia, Morocco, Rwanda, South Africa, Tunisia. Eastern Mediterranean Region : Afghanistan, Iran, Libya	Countrywide	Year-round	Low	Low	Absent
Junin hemorrhagic fever	Argentina	Countrywide	Year-round	Low	Low	Absent
Machupo hemorrhagic fever	Bolivia	Countrywide	Year-round	Low	Low	Absent

Note: The table summarizes expert risk assessment based on currently reported outbreaks of infectious diseases worldwide and the ability of the pathogen to be anthropogenically transmitted.

лей инфекционных болезней показывает, что большинство из них (>75 %) относятся именно к зоонозным инфекциям и имеют вирусную этиологию [23]. Учитывая развитие транспортных связей, рост туристического потока в страны мира и миграционную активность населения, опасность новых болезней, в первую очередь, обусловлена высоким риском быстрого международного распространения.

В качестве примера следует отметить, что с начала XXI в. население мира столкнулось с рядом вновь возникших инфекционных болезней, которые затронули значительные территории. Так, в ноябре 2002 г. в южно-китайской провинции Гуандун была зафиксирована вспышка атипичной пневмонии (ТОРС). Заболевание менее чем за год распространилось на территории 29 государств Европы, Азии, Северной и Южной Америки, Африки и Австралии, в общей сложности зарегистрировано более 8 тыс. случаев заболевания, более 700 смертей. В 2012 г. в Саудовской Аравии впервые диагностирован БВРС, регистрация случаев которого продолжается и в настоящее время. С апреля 2012 г. в 12 странах мира выявлено более 2,6 тыс. случаев, 947 смертей [24].

Сохраняются риски глобальной биологической безопасности, вызванные высокопатогенным гриппом. В 2022–2023 гг. зарегистрированы эпизоотии высокопатогенного гриппа птиц по всему миру, отмечается рост числа случаев заражения людей различными вариантами зоонозного вируса гриппа (2023 г. – Великобритания, Камбоджа, Эквадор, Чили).

Кроме того, продолжается регистрация случаев чумы (2023 г. – 83 случая), болезней, вызванных вирусами Эбола (2023 г. – вспышка в Уганде, ДРК), Марбург (2023 г., вспышки на ранее неэндемичных территориях – в Танзании, Экваториальной Гвинее). Отмечается расширение ареала возбудителей инфекционных болезней (лихорадка Ласса, денге, ЛЗН, желтая лихорадка и др.). Ежегодно реализуются случаи завоза опасных заболеваний на территории других стран.

Отдельного внимания заслуживает динамика заболеваемости холерой. За последние 10 лет зарегистрировано более 5 млн больных холерой в 97 странах. С 2021 г. в странах мира отмечается рост заболеваемости холерой и расширение ее географической распространенности. В 2022 г. (более 472 тыс. случаев) число заболевших в два раза превысило показатели 2021 г. (более 223 тыс.). В 2023 г. (по состоянию на октябрь) число случаев заболевания составляет более 800 тыс. в 31 стране мира, зарегистрировано более 5,5 тыс. летальных случаев, что является одним из самых высоких показателей за последние 10 лет [25].

Оценивая представленную эпидемиологическую конъюнктуру по опасным инфекционным болезням в аспекте вызова санитарной охране территории, следует отметить не только стабильное сохранение рисков по отдельным странам, но и увеличение вероятности трансграничного распро-

странения. Кроме того, следует принять во внимание, что фактическое число случаев инфекционных болезней может существенно отличаться от данных официальной статистики: эпидемиологический учет в мире искажается из-за отсутствия/сокрытия полной отчетности из стран с высоким уровнем заболеваемости. По данным ВОЗ, слабость систем эпидемиологического надзора, наблюдаемая в некоторых развивающихся странах, приводит к запаздыванию данных и недоучету инфекционной заболеваемости [26]. Эпидемиологический надзор за инфекционными болезнями в странах с продолжающимися социально-политическими конфликтами, низкой экономической способностью к массовой диагностике инфекционных заболеваний сильно ограничен. За счет этого данные, отражаемые в официальной статистике, малоинформативны.

Следствием указанных особенностей является то, что адекватная среднесрочная оценка риска ухудшения эпидемиологической обстановки и, как следствие, риска заноса на территорию неэндемичных стран по государствам с хроническим неблагополучием должна опираться не только на оперативные данные о количестве новых случаев, но и на комплекс критериев, определяющих санитарно-эпидемиологические условия в регионе. Пример оценки приведен в табл. 2. Данные критерии должны обеспечивать оценку:

- 1) эндемичности территории по конкретной нозологии;
- 2) информации о регистрации вспышек болезни в прошлом;
- 3) устойчивости циркуляции возбудителя в стране (наличие соответствующих условий для передачи возбудителя в настоящее время);
- 4) возможности антропогенного распространения в случае завоза на территорию Российской Федерации.

Описанный подход к оценке риска заноса инфекционных болезней, актуальных для СКК, заложен в алгоритм оценки риска АИС «Периметр», внедренной в 2022 г. во всех пунктах пропуска через государственную границу Российской Федерации, осуществляющих СКК.

Тенденции в изменении международных пассажиропотоков как вызов санитарной охране территории РФ. Отдельным фактором, влияющим на вероятность возникновения угрозы санитарно-эпидемиологическому благополучию населения, является изменение характера пассажиропотоков в Российскую Федерацию.

В период до пандемии COVID-19 (2018 г.) входящие пассажирские направления были представлены авиакомпаниями, осуществляющими перелеты из 185 стран (Европейский регион – 51, Африканский – 45, Американский – 33, Западно-Тихоокеанский – 26, Восточно-Средиземноморский – 20, Юго-Восточная Азия – 10). Наибольший пассажиропоток регистрировался из стран СНГ, Европы (Германия, Польша, Эстония, Финляндия) и Китая.

Таблица 2 / Table 2

Пример оценки риска заноса инфекционной болезни на территорию Российской Федерации
Example of risk assessment of infectious disease introduction into the territory of the Russian Federation

Инфекционная болезнь / Infectious disease	Холера / Cholera
Страна / Country	Йемен / Yemen
Актуальная официальная статистика / Current official statistics	Отсутствует / Absent
Установленная эндемичность / Established endemicity	Страна эндемична / Country is endemic
Наличие информации о крупных вспышках, регистрируемых ранее Available evidence on previous major outbreaks	2016–2021 гг. – более 2,5 млн случаев; 2022 г. – 4158 случаев с подозрением на холеру 2016–2021 – more than 2.5 million cases; 2022 – 4158 suspected cholera cases
Наличие условий для передачи возбудителя в настоящее время Existence of conditions for the transmission of the pathogen	Сохраняются / Persistent
Возможность антропогенного распространения в случае завоза Possibility of anthropogenic spread in case of importation	Присутствует / Present
Риск заноса на территорию РФ Risk of introduction into the territory of the Russian Federation	Присутствует / Present

В период пандемии мировая гражданская авиация, в том числе и российская, столкнулась с крупнейшим кризисом в своей истории. Пассажиропоток аэропортов России сократился практически на 90 %, компании закрыли полеты за рубеж и значительно снизилась интенсивность рейсов внутри страны. По данным статистической отчетности Росавиации, в допандемийный период в среднем российскими компаниями выполнялось почти 3,17 тыс. рейсов в сутки (международные и перелеты внутри страны), к апрелю 2020 г. их осталось менее 400. Ограничение авиасообщения переориентировало риски заноса инфекции с авиационного на наземные виды транспорта, в частности – автомобильный. Выявленный перевес СКК на наземном транспорте усугубился ввиду политических, экономических и санкционных вызовов, принятых Российской Федерацией с 2022 г. Введенные в отношении российского авиационного сектора санкции, в первую очередь закрытие воздушного пространства большинства европейских стран, определили новую угрозу санитарно-эпидемиологическому благополучию страны посредством перераспределения авиапотоков на внутрироссийских направлениях (рис. 1). В настоящее время полеты осуществляются по 598 внутренним маршрутам. По итогам 2022 г. перевезено 4,8 млн пассажиров. Границы Российской Федерации оста-

ются открытыми для всех иностранных граждан, въезжающих в страну альтернативными видами транспорта, а транспортировка по стране въезжающих граждан выполняется внутренними авиалиниями в обход СКК, осуществляющегося только на границе.

Несмотря на существенное ограничение авиасообщения, в настоящее время прямое авиасообщение сохранено с 34 иностранными государствами (Азербайджан, Алжир, Афганистан, Армения, Бахрейн, Беларусь, Венесуэла, Египет, Израиль, Индия, Ирак, Иран, Казахстан, Катар, Китай, Киргизия, Куба, Кувейт, Лаос, Мальдивы, Монголия, Объединенные Арабские Эмираты [ОАЭ], Оман, Сейшельские Острова, Сербия, Сирия, Таджикистан, Таиланд, Тунис, Туркменистан, Турция, Узбекистан, Шри-Ланка и Эфиопия). Полеты в Российскую Федерацию выполняют 53 иностранные авиакомпании из 27 стран. Российские перевозчики (14 авиакомпаний) выполняют полеты в 22 государства.

В 2023 г. при анализе общего числа рейсов и прибывающих лиц наблюдается укрупнение таких направлений, как «страны СНГ – Россия» и «Турция – Россия» (>84 % от общего пассажиропотока) (рис. 2) [27]. Основным направлением дальнего зарубежья для российских путешественников остается Турция, которая служит не только популяр-



Рис 1. Динамика пассажиропотока российских авиаперевозчиков по направлениям (источник: Росавиация, Минтранс России, оценка АКРА)

Fig. 1. Dynamics of passenger traffic of Russian air carriers by destination (source: Rosaviation, Ministry of Transport, ACRA assessment)

ным летним курортом, но и транзитным хабом, откуда можно лететь напрямую по многим западным направлениям. В туристический сезон российские авиакомпании выполняют до 720 еженедельных рейсов по 62 маршрутам, турецкие авиаперевозчики – 630 еженедельных рейсов по 37 маршрутам в Россию. По данным Министерства культуры и туризма Турции, в 2022 г. в страну прибыло 5,2 млн российских туристов, что на 13 % больше, чем годом ранее [28].

По данным информационной системы АИС «Периметр», число досмотренных лиц, прибывающих всеми видами транспорта на территорию России, за прошедший период 2023 г. (январь – ноябрь) составило 19,1 млн человек. Наибольшее количество транспортных средств, подлежащих СКК, зарегистрировано из Китая, Монголии и Турции (70,1 % от общего числа транспортных средств).

Необходимо отметить, что обоюдный пассажиропоток со странами СНГ (ближайшими приграничными государствами) во все времена оставался наиболее существенным. Только за I полугодие 2023 г. более 8 млн человек из стран постсоветского пространства пересекли государственную границу Российской Федерации [27]. При этом наибольшее количество прибывающих на территорию России (более 4 млн) зафиксировано из Казахстана, Узбекистана и Таджикистана (>70 % пассажиропотока). В настоящее время в странах СНГ сохраняются риски осложнения эпидемиологической обстановки, в основном связанные с высокой заболеваемостью

природно-очаговыми и зоонозными инфекциями (чума, туляремия, бруцеллез, сибирская язва, лептоспироз, КГЛ и др.). В условиях развития туристического сегмента, наличия прямого авиасообщения с рядом государств постсоветского пространства риск заноса инфекционных болезней на территорию нашей страны увеличен многократно. Кроме того, в соответствии с Договором о создании единой таможенной территории и формировании Таможенного союза на государственной границе Российской Федерации с Республикой Беларусь и Республикой Казахстан, СКК и иные виды контроля не проводятся, что увеличивает риск завоза инфекционных болезней на территорию России из других стран.

В условиях ограничения въезда российских граждан на территорию европейских стран все большую популярность среди российских туристов набирает направление Юго-Восточной Азии (Таиланд, Индия, Вьетнам). Только за I полугодие 2023 г. в страны Азии с туристической целью выехало более 250 тыс. российских туристов (на 33 % больше, чем годом ранее). В настоящее время в регионе сохраняются риски осложнения эпидемиологической обстановки по опасным инфекционным болезням (прежде всего по холере и трансмиссивным инфекциям: малярия, лихорадки денге, чикунгунья), что может привести к возникновению ЧС, в том числе и на территории России.

Менее заметной тенденцией является смещение вектора туристических и деловых поездок за рубеж со стран Европы на африканские государства.

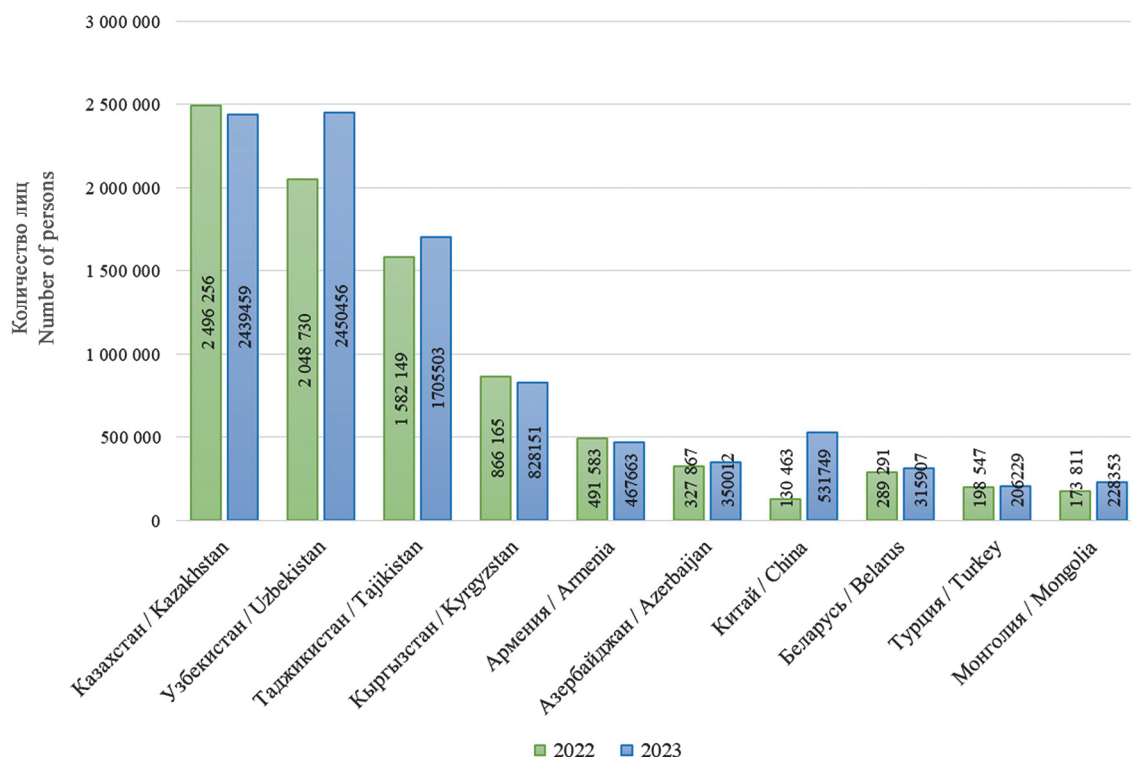


Рис. 2. Пассажиропоток в Российскую Федерацию с использованием различных видов транспорта, зарегистрированный из 10 наиболее загруженных направлений в 2022–2023 гг.

Fig. 2. Passenger traffic to the Russian Federation using different modes of transportation, registered from the most popular countries of the world (10), 2022–2023

Африканский континент регулярно сталкивается со вспышками опасных инфекционных болезней, таких как лихорадка Эбола, Марбург, Ласса, чума, холера, малярия, желтая лихорадка и другие болезни, истощающих финансовый и кадровый ресурс систем здравоохранения стран, что в значительной мере снижает потенциал реагирования. В настоящее время, в условиях переориентирования внешнеэкономической политики России, наращивания делового партнерства со странами Африки, развития туристического сегмента, роста вариантов прямого авиасообщения с рядом государств Африканского региона, в том числе выполняющих роль крупных транспортных международных хабов, риск заноса инфекционных болезней на территорию нашей страны увеличен многократно.

При осуществлении СКК (по данным АИС «Периметр») в текущем году выявлено 189 лиц с признаками, не исключающими опасную инфекционную болезнь (рис. 3). Наибольшее количество граждан с характерной клинической картиной прибыло из Турции, Таиланда, Египта, Китая, ОАЭ, Индии и стран СНГ.

В качестве ответной меры на отмеченные тенденции в эпидемиологической конъюнктуре по опасным инфекционным болезням в мире и показанную трансформацию входящих пассажиропотоков в Российскую Федерацию следует рассмотреть подход, обеспечивающий индивидуализацию оценки риска по отношению к каждому транспортному средству, подлежащему СКК. Такой подход на основе современных информационных технологий реализуется в АИС «Периметр» [29], что позволяет специалистам санитарно-карантинных пунктов в наглядной форме получать информацию по рейсам и адресно проводить мероприятия в отношении транспортных средств, пассажиров и членов экипажа в случае выявления риска заноса инфекции.

Таким образом, представленные данные в аспекте новых угроз системе санитарной охраны территории Российской Федерации позволяют заключить следующее:

- входящие в перечень инфекционные болезни, требующие проведения мероприятий по санитарной охране, необходимо дифференцировать на две категории на основе критериев значимости для осуществления СКК: инфекции, имеющие потенциал к массовой реализации заноса, и инфекции без возможности к массовой реализации заноса.

На основе выполненной дифференциации к инфекционным болезням, актуальным в плане СКК территории Российской Федерации, отнесены: оспа, полиомиелит, вызванный диким полиовирусом, человеческий грипп, вызванный новым подтипом, ТОРС, БВРС, холера, чума, геморрагические лихорадки Ласса, Эбола и Марбург, а также менингококковая инфекция. Кроме того, в данный перечень необходимо включить болезнь, вызванную вирусом оспы обезьян, ввиду полного ее соответствия критериям актуальности для СКК и исключить COVID-19 в связи с утратой приоритетности в аспекте СКК;

- сведения о динамике эпидемиологической конъюнктуры в мире указывают на то, что при оценке риска заноса инфекции необходимо ориентироваться не только на текущую официальную информацию об эпидемиологическом неблагополучии по инфекционной заболеваемости в стране, а использовать для наиболее актуальной среднесрочной оценки риска заноса комплекс критериев, включающий оценку таких данных, как ретроспективный анализ заболеваемости, наличие сохраняющихся условий устойчивой циркуляции возбудителя и возможность распространения от человека к человеку в случае завоза на территорию Российской Федерации;

- анализ тенденций в изменении международных пассажиропотоков выявил целый ряд угроз

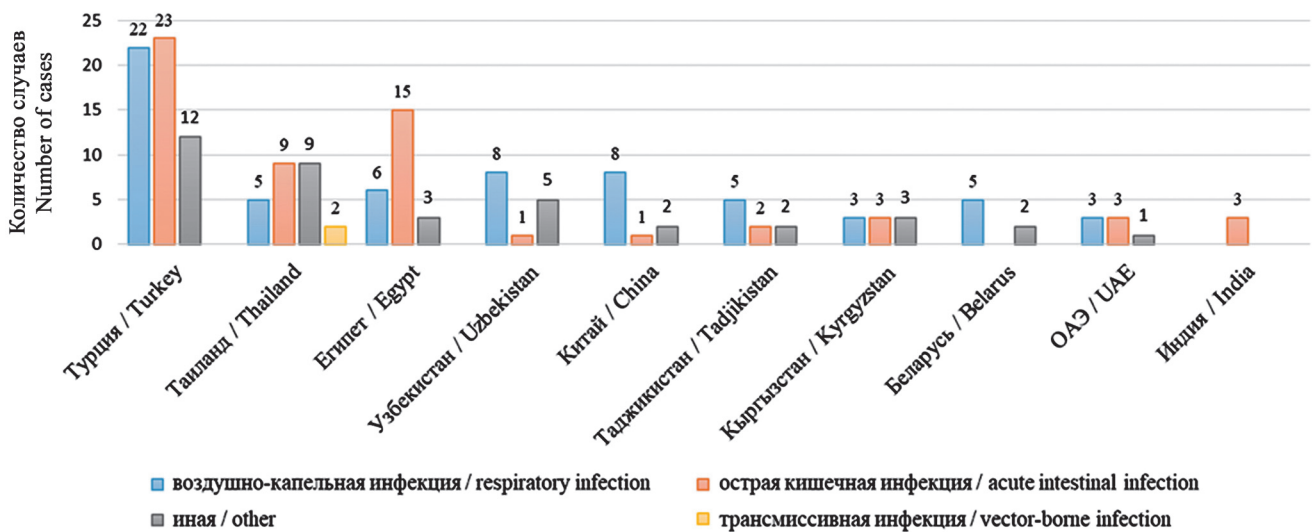


Рис. 3. Выявленные инфекционные болезни по странам отбытия, 2023 г. (январь – октябрь), по данным АИС «Периметр»

Fig. 3. Infectious diseases by country of departure, 2023 (January – October), according to AIS “Perimeter”

санитарно-эпидемиологическому благополучию населения Российской Федерации, требующих адекватных ответных мер:

а) сокращение международного авиасообщения переориентировало риски заноса опасных инфекционных болезней с авиационного на наземный вид транспорта, что увеличило нагрузку СКК на железнодорожных, морских, автомобильных и пешеходных пунктах пропуска;

б) перераспределение въезжающих пассажиропотоков альтернативными видами транспорта по территории страны за счет внутренних авиаперевозок увеличивает риск распространения инфекционной болезни, ввезенной инфицированным гражданином, в результате его неконтролируемого перемещения по территории РФ, в связи с чем требуется проработка дополнительного контроля за иностранными гражданами на внутренних рейсах;

в) смещение делового и туристического вектора на страны Юго-Восточной Азии и Африки многократно увеличивает риски заноса опасных инфекционных болезней из указанных регионов.

Дальнейшим развитием ответных мер на вызовы системе санитарной охраны территории Российской Федерации может быть более активное внедрение цифровых технологий на различных этапах оценки эпидемиологического риска, с использованием индивидуальной оценки риска применительно к каждому прибывающему рейсу любым видом транспорта, в каждый санитарно-карантинный пункт Российской Федерации, что позволит увеличить эффективность осуществления СКК и, как следствие, снизить риски завоза опасных инфекционных болезней.

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. Пакскина Н.Д., Шиянова А.Е., Топорков В.П. Санитарная охрана территории и эпидемиологический надзор за природно-очаговыми, зоонозными инфекционными болезнями как аспекты предупреждения чрезвычайных ситуаций биологического характера. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2016; 1:32–6.
2. Сушкова И.А. Соотношение и взаимосвязь понятий «вызов», «опасность», «угроза», «риск». *Экономическая безопасность и качество*. 2018; 4:10–5.
3. WHO. World Health Statistics 2022. [Электронный ресурс]. URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/356584/9789240051140-eng.pdf> (дата обращения 04.11.2023).
4. Организация Объединенных Наций. Инфекционные заболевания – реальная угроза для любой страны. [Электронный ресурс]. URL: <https://news.un.org/ru/story/2021/12/1416142>.
5. Малеев В.В. Некоторые аспекты эволюции инфекционной патологии на современном этапе. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2020; 27(4):18–26. DOI: 10.25207/1608-6228-2020-27-4-18-26.
6. Онищенко Г.Г., Топорков В.П., Смоленский В.Ю., Топорков А.В. Современные представления о биологической безопасности: эволюция взглядов, узкий и широкий формат содержания проблемы. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2016; 1:75–80.
7. Зубова А.А., Иванова А.В., Щербакова С.А., Куклев Е.В., Топорков В.П., Бойко А.В. Современные подходы к оценке риска завоза инфекционных болезней на территорию Российской

Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:120–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-120-126.

8. Chapter II: Highlights of world trade in 2022. In: World Trade Statistical Review 2023. [Электронный ресурс]. URL: https://www.wto.org/english/res_e/booksp_e/wtstr_2023_ch2_e.pdf (дата обращения 03.11.2023).

9. World Migration Report 2022. [Электронный ресурс]. URL: <https://worldmigrationreport.iom.int/wmr-2022-interactive/> (дата обращения 04.11.2023).

10. IATA. Passenger demand recovery continued in December 2022 & for the full year. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.iata.org/en/pressroom/2023-releases/2023-02-06-02/> (дата обращения 04.11.2023).

11. UN Tourism. The first global dashboard for tourism insights. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.unwto.org/tourism-data/un-tourism-tourism-dashboard> (дата обращения 04.11.2023).

12. Москвитина Э.А., Янович Е.Г., Курilenko М.Л., Кругликов В.Д., Титова С.В., Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Лопатин А.А., Иванова С.М., Мишанькин Б.М., Кривенко А.С., Анисимова Г.Б., Носков А.К. Холера: мониторинг эпидемиологической обстановки в мире и России (2010–2019 гг.). Прогноз на 2020 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:38–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-38-47.

13. Москвитина Э.А., Горобец А.В., Прометной В.И. Эпидемиологическое значение миграции населения при холере. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2003; 1:15–9.

14. Попова А.Ю., Кутырев В.В., Щербакова С.А., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Пакскина Н.Д., Топорков В.П., Попов Н.В., Сизова Я.В., Ерошенко Г.А., Бугоркова С.А., Шуковская Т.Н., Карнаухов И.Г., Осина Н.А., Поршаков А.М., Шарова И.Н., Удовиченко С.К., Иванова А.В. Вспышка легочной чумы на о. Мадагаскар в 2017 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2017; 4:5–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-5-14.

15. Онищенко Г.Г., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Топорков В.П., Топорков А.В., Ляпин М.Н., Кутырев В.В. Концептуальные основы биологической безопасности. Часть 1. *Вестник РАМН*. 2013; 68(10):4–13. DOI: 10.15690/vramn.v68i10.781.

16. ВОЗ. Коронавирус Ближневосточного респираторного синдрома (БВРС-КоВ). [Электронный ресурс]. URL: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov)) (дата обращения 09.11.2023).

17. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский В.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., Карнаухов И.Г., Иванова А.В., Щербакова С.А. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 2: особенности течения эпидемического процесса COVID-19 во взаимосвязи с проводимыми противэпидемическими мероприятиями в мире и Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 2:6–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12.

18. Coronavirus (COVID-19) vaccination. [Электронный ресурс]. URL: <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations> (дата обращения 04.11.2023).

19. Yakovenko M.L., Gmyl A.P., Ivanova O.E., Ereemeeva T.P., Ivanov A.P., Prostova M.A., Baykova O.Y., Isaeva O.V., Lipskaya G.Y., Shakaryan A.K., Kew O.M., Deshpande J.M., Agol V.I. The 2010 outbreak of poliomyelitis in Tajikistan: epidemiology and lessons learnt. *Euro Surveill*. 2014; 19(7):20706. DOI: 10.2807/1560-7917.es2014.19.7.20706.

20. WHO. 2022-23 Pox (Monkeypox) outbreak: Global trends. [Электронный ресурс]. URL: https://worldhealthorg.shinyapps.io/mpx_global/_w_35ad7f44/#section-global (дата обращения 04.11.2023).

21. Ma Q., Liu J., Liu Q., Kang L., Liu R., Jing W., Wu Y., Liu M. Global percentage of asymptomatic SARS-CoV-2 infections among the tested population and individuals with Confirmed COVID-19 diagnosis: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw. Open*. 2021; 4(12):e2137257. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.37257.

22. 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.

23. ECDC. MERS-CoV worldwide overview. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers-cov-situation-update> (дата обращения 04.11.2023).

24. ECDC. Cholera worldwide overview. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/en/all-topics-z/cholera-surveillance-and-disease-data/cholera-monthly> (дата обращения 04.11.2023).

25. UN Environment programme. Report “Preventing the next pandemic – Zoonotic diseases and how to break the chain of transmission”. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.unep.org/resources/report/preventing-future-zoonotic-disease-outbreaks-protecting-environment-animals-and> (дата обращения 04.11.2023).

26. ЕМИСС. Государственная статистика. Въезд иностранных граждан в РФ. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.fedstat.ru/indicator/38479> (дата обращения 05.11.2023).

27. Ассоциация туроператоров. Итоги 2022 г. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.atorus.ru/node/51177> (дата обращения 05.11.2023).

28. ВОЗ. Холера – ситуация в мире. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON437> (дата обращения 04.11.2023).

29. 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. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 3:6–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-6-14.

References

1. Paskina N.D., Shiyanova A.E., Toporkov V.P. [Sanitary protection of the territories and epidemiological surveillance over natural-focal, zoonotic infectious as aspects of prevention of emergency biological events]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2016; (1):32–6.

2. Sushkova I.A. [Correlation and interrelation of the concepts “challenge”, “hazard”, “threat”, “risk”]. *Ekonomicheskaya Bezopasnost' i Kachestvo [Economic Security and Quality]*. 2018; (4):10–5.

3. WHO. World Health Statistics 2022. (Cited 04 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/356584/9789240051140-eng.pdf>.

4. [United Nations. Infectious diseases are a real threat to any country]. [Internet]. Available from: <https://news.un.org/ru/story/2021/12/1416142>.

5. Maleyev V.V. [Selected aspects of infectious disease evolution in the modern world]. *Kubanskiy Nauchnyy Meditsinskiy Vestnik [Kuban Scientific Medical Bulletin]*. 2020; 27(4):18–26. DOI: 10.25207/1608-6228-2020-27-4-18-26.

6. Onishchenko G.G., Toporkov V.P., Smolensky V.Yu., Toporkov A.V. [Modern ideas about biological safety: evolution of views, broad and narrow understating of the problem]. *Infektsionnye Bolezni: Novosti, Mneniya, Obuchenie [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]*. 2016; (1):75–80.

7. Zубова А.А., Иванова А.В., Шчербак С.А., Куклев Е.В., Топорков В.П., Боико А.В. Advanced approaches to assessment of risk of infectious disease importation onto the territory of the Russian Federation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):120–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-120-126.

8. Chapter II: Highlights of world trade in 2022. In: World Trade Statistical Review 2023. (Cited 03 Nov 2023). [Internet]. Available from: https://www.wto.org/english/res_e/booksp_e/wtrsr_2023_ch2_e.pdf.

9. World Migration Report 2022. (Cited 04 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://worldmigrationreport.iom.int/wmr-2022-interactive/>.

10. IATA. Passenger Demand Recovery Continued in December 2022 & for the Full Year. (Cited 04 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://www.iata.org/en/pressroom/2023-releases/2023-02-06-02/>.

11. UN Tourism. The first global dashboard for tourism insights. (Cited 04 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://www.unwto.org/tourism-data/un-tourism-tourism-dashboard>.

12. Moskvitina E.A., Yanovich E.G., Kurilenko M.I., Kruglikov V.D., Titova S.V., Levchenko D.A., Vodop'yanov A.S., Lopatin A.A., Ivanova S.M., Mishan'kin B.M., Krivenko A.S., Anisimova G.B., Noskov A.K. [Cholera: monitoring of epidemiological situation around the world and in Russia (2010–2019). Forecast for 2020]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):38–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-38-47.

13. Moskvitina E.A., Gorobets A.V., Prometnoy V.I. [Epidemiological significance of population migration during cholera]. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni [Epidemiology and Infectious Diseases]*. 2003; (1):15–9.

14. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., Shcherbakova S.A., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Paskina N.D., Toporkov V.P., Popov N.V., Sizova Ya.V., Eroshenko G.A., Bugorkova S.A., Shchukovskaya T.N., Karnaukhov I.G., Osina N.A., Porshakov A.M., Sharova I.N., Udovichenko S.K., Ivanova A.V. [Outbreak of pneumonic plague in 2017 on Madagascar]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2017; (4):5–14. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-4-5-14.

15. Onishchenko G.G., Smolensky V.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Toporkov V.P., Toporkov A.V., Lyapin M.N.,

Kutyrev V.V. [Conceptual bases of biological safety. Part 1]. *Vestnik RAMN [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2013; 68(10):4–13. DOI: 10.15690/vramn.v68i10.781.

16. [WHO. Middle East Respiratory Syndrome coronavirus (MERS-CoV)]. (Cited 09 Nov 2023). [Internet]. Available from: [https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov)).

17. 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 peculiarities of new coronavirus infection (COVID-2019). Communication 2: Peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (2):6–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12.

18. Coronavirus (COVID-19) vaccination. (Cited 04 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations>.

19. Yakovenko M.L., Gmyl A.P., Ivanova O.E., Ereemeva T.P., Ivanov A.P., Prostova M.A., Baykova O.Y., Isaeva O.V., Lipskaya G.Y., Shakaryan A.K., Kew O.M., Deshpande J.M., Agol V.I. The 2010 outbreak of poliomyelitis in Tajikistan: epidemiology and lessons learnt. *Euro Surveill*. 2014; 19(7): 20706. DOI: 10.2807/1560-7917.es2014.19.7.20706.

20. WHO. 2022–23 Pox (Monkeypox) outbreak: Global trends. (Cited 04 Nov 2023). [Internet]. Available from: https://worldhealthorg.shinyapps.io/mpx_global/_w_35ad7f44/#section-global.

21. Ma Q., Liu J., Liu Q., Kang L., Liu R., Jing W., Wu Y., Liu M. Global percentage of asymptomatic SARS-CoV-2 infections among the tested population and individuals with Confirmed COVID-19 diagnosis: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw. Open*. 2021; 4(12):e2137257. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2021.37257.

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

23. ECDC. MERS-CoV worldwide overview. (Cited 04 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-mers-cov-situation-update>.

24. ECDC. Cholera worldwide overview. (Cited 04 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/all-topics-z/cholera/surveillance-and-disease-data/cholera-monthly>.

25. UN Environment programme. Report “Preventing the next pandemic – Zoonotic diseases and how to break the chain of transmission”. (Cited 04 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://www.unep.org/resources/report/preventing-future-zoonotic-disease-outbreaks-protecting-environment-animals-and>.

26. [Entry of foreign citizens into the Russian Federation]. (Cited 05 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://www.fedstat.ru/indicator/38479>.

27. [Association of Tour Operators]. Results of 2022. (Cited 05 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://www.atorus.ru/node/51177>.

28. [WHO. Cholera – Global situation]. (Cited 04 Nov 2023). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/ru/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON437>.

29. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Smolensky V.Yu., Letyushev A.N., Treskin A.A., Ivanova A.V., Safronov V.A., Zубова А.А., Карнаухов И.Г., Топорков В.П., Шчербак С.А., Кутырев В.В. [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. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-6-14.

Authors:

Zубова А.А., Иванова А.В., Сафронов В.А. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

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

Об авторах:

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

Трескин А.А., 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: 10.21055/0370-1069-2024-2-101-107

УДК 614.3+614.4

И.Г. Карнаухов, Ж.А. Касьян, С.А. Щербакова, В.В. Кутырев

Роль Координационного совета по проблемам санитарной охраны территорий государств – участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней в формировании единой системы мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера на пространстве СНГ

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

Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения невозможно без развития международного сотрудничества в области предупреждения и реагирования на чрезвычайные ситуации биологического характера. На сегодняшний день на пространстве Содружества Независимых Государств (СНГ) фактически сформирована единая система мониторинга и оперативного реагирования на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера. Для осуществления легитимного взаимодействия стран Содружества необходима разработка нормативно-методической базы. С этой целью Координационным советом по проблемам санитарной охраны территорий государств – участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней разработан ряд межгосударственных документов, которые в дальнейшем были введены в действие на пространстве СНГ. В статье представлена деятельность Координационного совета, направленная на создание и обеспечение функционирования единой системы мониторинга и оперативного реагирования на чрезвычайные ситуации и разработку нормативно-методической базы, позволяющей легитимно осуществлять взаимодействие стран Содружества.

Ключевые слова: обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия, чрезвычайная ситуация, эпидемиологический надзор, санитарная охрана территории.

Корреспондирующий автор: Карнаухов Игорь Геннадиевич, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Карнаухов И.Г., Касьян Ж.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Роль Координационного совета по проблемам санитарной охраны территорий государств – участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней в формировании единой системы мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера на пространстве СНГ. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 2:101–107. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-101-107

Поступила 29.01.2024. Принята к публ. 20.05.2024.

I.G. Karnaukhov, Zh.A. Kas'yan, S.A. Shcherbakova, V.V. Kutuyev

The Role of the Coordination Council on the Issues of Sanitary Protection of the Territories of the Member States of the Commonwealth of Independent States from the Importation and Spread of Particularly Dangerous Infectious Diseases in the Formation of a Unified System for Monitoring and Responding to Emergencies of Sanitary-Epidemiological Nature in the CIS

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

Abstract. Ensuring the sanitary and epidemiological well-being of the population is impossible without the development of international cooperation in the field of preventing and responding to biological emergency situations. To date, a unified system of monitoring and prompt response to emergencies in the field of public health of sanitary-epidemiological nature has almost been formed in the space of the Commonwealth of Independent States (CIS). To implement legitimate interaction between the Commonwealth countries, it is necessary to develop a regulatory and methodological framework. For this purpose, the Coordination Council on the issues of sanitary protection of the territories of the member states of the Commonwealth of Independent States from the importation and spread of particularly dangerous infectious diseases has drawn a number of interstate documents, which were subsequently put into effect in the CIS. The paper presents the activities of the Coordination Council aimed at establishing and maintaining the functioning of a unified system for monitoring and prompt response to emergency situations and developing a regulatory and methodological framework that allows legitimate interaction between the Commonwealth countries.

Key words: ensuring sanitary and epidemiological well-being, emergency situation, epidemiological surveillance, sanitary protection of the territory.

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

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

Corresponding author: Igor G. Karnaukhov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Karnaukhov I.G., Kas'yan Zh.A., Shcherbakova S.A., Kutuyev V.V. The Role of the Coordination Council on the Issues of Sanitary Protection of the Territories of the Member States of the Commonwealth of Independent States from the Importation and Spread of Particularly Dangerous Infectious Diseases in the Formation of a Unified System for Monitoring and Responding to Emergencies of Sanitary-Epidemiological Nature in the CIS. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:101–107. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-101-107

Received 29.01.2024. Accepted 20.05.2024.

Karnaukhov I.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8181-6727>
Kas'yan Zh.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9828-3277>

Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>
Kutuyev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

В современном мире при существующем риске критического осложнения эпидемиологической обстановки, обусловленной известными, возвращающимися и новыми (неизвестными) инфекционными болезнями с потенциалом глобального распространения, а также массовыми неинфекционными болезнями, связанными с действием биологических, химических и радиоактивных веществ, предупреждение и реагирование на угрозы биологической безопасности требуют укрепления международного сотрудничества и формирования единых региональных систем предупреждения и реагирования на чрезвычайные ситуации (ЧС) санитарно-эпидемиологического характера. При этом как никогда актуальным является совершенствование системного подхода к мониторингу, выявлению и реагированию на угрозы биологического характера.

Системный подход – принцип исследования, при котором любой объект или процесс рассматриваются как целая система, состоящая из ряда соподчиненных взаимосвязанных компонентов (подсистем разных уровней и составляющих их элементов) [1].

Если говорить о формировании единой системы мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера на пространстве Содружества Независимых Государств (СНГ), то подсистемами или элементами общей системы являются национальные системы мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера государств – участников СНГ.

От надежности и устойчивости национальных систем зависит способность реагирования на кризисы, вызванные биологическими угрозами, и устойчивость системы здравоохранения на пространстве СНГ в целом.

В связи с тем, что прототипом национальных систем мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера государств – участников СНГ была санитарно-эпидемиологическая служба СССР, эти системы в странах СНГ построены на одинаковых базовых принципах и включают, как правило, национальный, региональный и территориальный уровни реагирования, имеющие горизонтальные и вертикальные связи. Вопросы мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера регулируются на государственном уровне и входят в компетенцию ведомства, ответственного за обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения, что показано на примере Российской Федерации, Республики Беларусь, Республики Казахстан и Кыргызской Республики [2].

Национальные системы мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера государств – участников СНГ (далее – национальные системы реагирования) включают в себя как стационарные, территориально закрепленные учреждения санитарно-эпидемиологического профиля, так и мобильные противоэпидемические формирования.

Для обеспечения функционирования единой системы мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера на пространстве СНГ необходима организация эффективного взаимодействия национальных систем реагирования стран-участниц.

К основным направлениям взаимодействия можно отнести следующие:

1. Обмен информацией о регистрации инфекционных болезней, способных вызвать ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера.

2. Координация мер в рамках санитарной охраны территорий стран СНГ.

3. Использование единых алгоритмов и методических подходов в области эпидемиологического надзора за опасными инфекционными болезнями и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера.

4. Подготовка специалистов профильных учреждений стран СНГ для совместной работы в составе мобильных противоэпидемических формирований.

5. Совместная работа мобильных противоэпидемических формирований государств – участников СНГ при реагировании на ЧС санитарно-эпидемиологического характера.

Для осуществления легитимного взаимодействия стран Содружества по упомянутым направлениям необходима была разработка и принятие межгосударственных соглашений, нормативно-правовых и методических документов в рамках каждого направления.

Именно для выполнения этой задачи решением Совета по сотрудничеству в области здравоохранения государств – участников СНГ от 22 ноября 2000 г. (Душанбе, Таджикистан) создан Координационный совет по проблемам санитарной охраны территорий государств – участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней (далее – Координационный совет) [3].

Основными задачами Координационного совета как рабочего органа Совета по сотрудничеству в области здравоохранения государств – участников СНГ являются подготовка предложений по обеспечению межгосударственного взаимодействия и сотрудничества в области санитарной охраны территорий и обеспечения эпидемиологического благополучия населения на территории государств – участников СНГ, а также разработка рекомендаций по повышению эффективности противоэпидемических мероприятий.

Базовой организацией Координационного совета является ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (Саратов, Россия).

Координационный совет формируется из представителей министерств и ведомств государств –

участников СНГ, определяющих и реализующих государственную политику в сфере здравоохранения и обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, ведущих ученых и специалистов учреждений санитарно-эпидемиологического профиля. Председатель Координационного совета избирается членами Координационного совета и утверждается решением Совета по сотрудничеству в области здравоохранения СНГ сроком на четыре года. В настоящее время председателем является директор ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора академик РАН, доктор медицинских наук, профессор Владимир Викторович Кутырев.

Очередные заседания Координационного совета проводятся один раз в два года, параллельно с проведением межгосударственных научных конференций стран СНГ. Внеочередные заседания Координационного совета проводятся в режиме видеоконференцсвязи по мере необходимости.

С 2000 по 2024 г. проведено 17 очередных заседаний Координационного совета и 16 межгосударственных научных конференций, посвященных вопросам обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения в странах СНГ.

Актуальными направлениями работы Координационного совета являются:

- создание единого информационного эпидемиологического пространства для государств – участников СНГ в области санитарной охраны территорий, обеспечения биологической безопасности и санитарно-эпидемиологического благополучия населения, мониторинга и реагирования на ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера;

- организация и обеспечение функционирования системы межгосударственного информационного обмена о ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера;

- содействие в реализации на пространстве СНГ Международных медико-санитарных правил (ММСП) (2005 г.);

- гармонизация и унификация нормативно-методической базы в области санитарной охраны территорий стран СНГ, эпидемиологического надзора за особо опасными, зоонозными, природно-очаговыми инфекционными болезнями, мониторинга и реагирования на ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера;

- содействие в организации на пространстве СНГ единой системы мониторинга и оперативного реагирования на ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера;

- содействие в организации выполнения совместных научно-исследовательских работ, подготовки совместных научных публикаций и монографий, проведении научных конференций;

- содействие в организации проведения совместной экспедиционной работы в природных очагах инфекционных болезней;

- унификация современных диагностических технологий и методов лабораторного анализа;

- организация сотрудничества в области подготовки специалистов по всему спектру вопросов в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия;

- взаимодействие по вопросам производства медицинских иммунобиологических препаратов для диагностики и профилактики особо опасных инфекционных болезней.

В период 2000–2015 гг. в рамках деятельности Координационного совета разработаны проекты 18 документов межгосударственного уровня, из них девять утверждены. Активная работа по подготовке межгосударственных документов была продолжена в период 2018–2022 гг.

В рамках реализации первого направления взаимодействия национальных систем реагирования Координационным советом проводится работа по организации информационного обмена между странами СНГ по вопросам эпидемиологической обстановки по особо опасным, природно-очаговым, зоонозным инфекционным болезням, мониторингу ЧС санитарно-эпидемиологического характера. Работа направлена на создание единого информационного эпидемиологического пространства для государств – участников СНГ, повышение эффективности мер реагирования на ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера в рамках реализации ММСП (2005 г.) [4].

В связи с этим Координационным советом разработано Положение о порядке осуществления информационного обмена между государствами – участниками СНГ о чрезвычайных ситуациях в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера [5]. Положение утверждено решением Совета по сотрудничеству в области здравоохранения СНГ от 30 июня 2020 г. и введено в действие взамен устаревшего Положения от 3 июля 2003 г.

При осуществлении информационного обмена акцент сделан на возникновение ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Положение дополнено представлением экстренной информации при возникновении ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, наряду с очередной информацией (один раз в квартал); интегрированы положения ММСП (2005 г.) по перечню инфекционных болезней, по которым представляется экстренная информация о каждом случае, и перечню инфекционных болезней, требующих оценки их проявлений на предмет признания события ЧС.

В рамках реализации второго направления взаимодействия национальных систем реагирования при активном участии Координационного совета разра-

ботано Соглашение о сотрудничестве в области санитарной охраны территорий государств – участников Содружества Независимых Государств (принято решением Совета глав правительств СНГ от 28 мая 2021 г., Минск, Беларусь) [6]. Проектом Соглашения предусмотрено, что стороны будут проводить необходимые мероприятия по санитарной охране территорий государств – участников СНГ в отношении болезней, ассоциируемых с ЧС или с возможностью возникновения ЧС, согласно перечню, а также товаров, подлежащих санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю), согласно перечням, которые определяются в соответствии с законодательством и иными нормативными правовыми актами, составляющими право государств – участников Соглашения. Перечень болезней, ассоциируемых с чрезвычайными ситуациями или с возможностью возникновения чрезвычайных ситуаций, является неотъемлемой частью проекта Соглашения и сформирован с учетом Международной статистической классификации болезней и проблем, связанных со здоровьем. Проектом Соглашения определяются обязательства сторон по развитию сотрудничества в области санитарной охраны территорий и необходимость определения уполномоченного органа (органов) государства стороны.

После принятия Соглашения возникла необходимость разработки методического документа, более подробно регламентирующего проведение санитарно-карантинного контроля людей, товаров и грузов в пунктах пропуска через государственную границу государств – участников СНГ, вопросы межведомственного взаимодействия, мероприятия по предупреждению распространения инфекционных болезней на территории государств – участников СНГ, с целью унификации упомянутых мер в государствах Содружества.

В статье 4 Соглашения говорится, что «координация взаимодействия сторон по вопросам санитарной охраны территорий, разработка проектов нормативных и методических документов, исследовательских работ и практических мероприятий осуществляются Координационным советом по проблемам санитарной охраны территорий государств – участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней» [6].

Координационным советом разработаны методические рекомендации «Организация мероприятий по санитарной охране территорий государств – участников Содружества Независимых Государств» (утверждены решением XXXVI заседания Совета по сотрудничеству в области здравоохранения СНГ, 15 ноября 2023 г., Бишкек, Кыргызстан) [7].

В документе рассмотрены вопросы проведения санитарно-карантинного контроля в пунктах пропуска через государственную границу государств – участников СНГ, санитарно-карантинного контроля товаров и грузов в пунктах пропуска через государ-

ственную границу государств – участников СНГ, межведомственного взаимодействия, проведения мероприятий по предупреждению распространения опасных инфекционных болезней на территории государств – участников СНГ.

В рамках реализации третьего направления взаимодействия национальных систем реагирования пристальное внимание уделяется эпидемиологическому надзору за особо опасными инфекционными болезнями, прежде всего за чумой. В рамках деятельности Координационного совета разработаны методические рекомендации «Организация и проведение эпидемиологического надзора в природных очагах чумы на территории государств – участников Содружества Независимых Государств». Методические рекомендации утверждены решением XXX заседания Совета по сотрудничеству в области здравоохранения СНГ (8 ноября 2019 г., Душанбе, Таджикистан) [8].

Данный документ регламентирует содержание, последовательность и основные направления контроля и профилактики этой особо опасной инфекции на пространстве стран СНГ. Учитываются современные достижения и опыт государств – участников СНГ по отдельным направлениям надзора за чумой и профилактики этой опасной инфекции. Особое внимание в документе уделено необходимости внедрения в практику современных технологий геоинформационных систем (ГИС), методов лабораторной диагностики возбудителей чумы и других зоонозов, порядка оповещения о случаях заболевания населения и эпизоотологической обстановке по чуме, содержанию профилактических мероприятий, прогнозированию эпизоотической обстановки, оценке риска эпидемиологической опасности.

Внедрение в практику общепризнанных, унифицированных и согласованных методов и приемов эпидемиологического надзора в природных очагах чумы позволит объективно оценить факторы, территории, время и контингенты риска заболевания чумой в ее природных очагах, снизить уровень риска эпидемических осложнений, а в ряде случаев – предотвратить их.

В целях внедрения информационных технологий в эпидемиологический надзор за чумой и другими опасными природно-очаговыми инфекциями Координационным советом разработаны методические рекомендации «Использование информационных систем для мониторинга угроз санитарно-эпидемиологического характера на пространстве СНГ» [9]. Методические рекомендации утверждены решением XXXVI заседания Совета по сотрудничеству в области здравоохранения СНГ (15 ноября 2023 г., Бишкек, Кыргызстан). В документе предложен принцип зоологических и эпизоотологических исследований в природных очагах инфекционных болезней и порядок проведения отловов и учетов численности мелких млекопитающих и птиц, анализа и прогнозирования эпизоотологической ситуации с использованием автоматизированной электрон-

ной системы для мониторинга угроз санитарно-эпидемиологического характера EpiTracker, представленной в виде веб-ресурса и одноименного мобильного приложения.

В рамках реализации третьего и четвертого направлений взаимодействия национальных систем реагирования Координационным советом разработано Положение о базовой организации государств – участников Содружества Независимых Государств по мониторингу, оперативному оповещению и совместному реагированию на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера [10]. Статус базовой организации придан ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора решением 90-го заседания Экономического совета СНГ, состоявшегося 18 июня 2021 г. в г. Москве. Утверждено Положение о базовой организации.

Задачами базовой организации являются:

- информационное обеспечение по вопросам предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций на территориях государств – участников СНГ;

- научно-методическое обеспечение в области мониторинга и реагирования на ЧС, организации работы специализированных противозидемических формирований, эпидемиологии, лабораторной диагностики и профилактики инфекционных болезней, ассоциируемых с ЧС или с возможностью возникновения ЧС;

- проведение совместных научных исследований по вопросам предупреждения и ликвидации ЧС, эпидемиологии, лабораторной диагностики и профилактики инфекционных болезней, ассоциируемых с ЧС или с возможностью возникновения ЧС;

- повышение квалификации и переподготовка кадров, подготовка кадров высшей квалификации по вопросам предупреждения и ликвидации ЧС, эпидемиологии, лабораторной диагностики и профилактики инфекционных болезней, ассоциируемых с ЧС или с возможностью возникновения ЧС, а также координация разработки и осуществления информационно-образовательных программ в данной области;

- создание условий для взаимовыгодного использования информационных ресурсов, формируемых базовой организацией.

Также в рамках реализации третьего и четвертого направлений взаимодействия национальных систем реагирования Координационным советом разработан Порядок формирования реестра специалистов организаций санитарно-эпидемиологического профиля государств – участников Содружества Независимых Государств для совместной работы в зоне чрезвычайной ситуации санитарно-эпидемиологического характера [11]. Утвержден решением Совета по сотрудничеству в области здравоохранения СНГ от 13 октября 2021 г.

Реестр формируется и ведется базовой организацией государств – участников СНГ по мониторингу,

оперативному оповещению и совместному реагированию на ЧС в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера.

Реестр формируется на основании официальной информации, предоставленной министерствами здравоохранения государств – участников СНГ, из числа специалистов мобильных противозидемических формирований, учреждений санитарно-эпидемиологического профиля государств – участников СНГ, прошедших профессиональную подготовку по вопросам безопасной работы с возбудителями инфекционных болезней I–II групп патогенности.

В реестр вошли специалисты десяти специализированных противозидемических бригад (СПЭБ), функционирующих на базе пяти научно-исследовательских противочумных институтов Роспотребнадзора (250 специалистов).

Также по состоянию на конец 2023 г. в реестр включены 43 специалиста из профильных учреждений шести стран – партнеров России на пространстве СНГ.

При этом из 43 специалистов 12 – прошли обучение по программе подготовки специалистов СПЭБ на базе Российского противочумного института «Микроб» в 2022–2023 гг., 12 – приняли участие в выездных курсах по программе «СПЭБ: функции, оснащение, организация работы, подготовка специалистов», 16 – приняли участие в выездных учениях по вопросам биологической безопасности и оперативного реагирования с использованием мобильных лабораторий, 25 – принимали участие в международных учениях мобильных лабораторий в 2019–2023 гг. В общей сложности в обучении на базе Российского противочумного института «Микроб» / выездных курсах принял участие 21 человек. В крупных международных/выездных учениях приняли участие 28 человек.

Координационным советом также разработаны методические рекомендации «Тактика организации и проведения совместных международных учений СПЭБ Роспотребнадзора и СПЭБ государств – участников СНГ по ликвидации чрезвычайных ситуаций в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера» [12]. Утверждены решением Совета по сотрудничеству в области здравоохранения Содружества Независимых Государств от 23 сентября 2022 г. (г. Туркестан, Казахстан).

В методических рекомендациях раскрыты вопросы организации и проведения теоретических и практических тренировочных учений мобильных противозидемических формирований государств – участников СНГ. При разработке документа учитывался опыт работы профильных организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Проведение полевых учений – один из самых эффективных методов подготовки специалистов для работы в составе мобильных специализированных противозидемических формирований.

С 2019 по июнь 2024 г. при поддержке Правительства Российской Федерации проведено 18 международных учений различного формата с использованием мобильных лабораторий Роспотребнадзора, участие в которых приняли более 750 профильных специалистов учреждений здравоохранения из разных стран [13].

В рамках реализации пятого направления взаимодействия национальных систем реагирования, при активном участии Координационного совета, разработано Соглашение о сотрудничестве государств – участников Содружества Независимых Государств по предупреждению и реагированию на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера [14]. Соглашение принято на заседании Совета глав правительств СНГ 28 октября 2022 г. (Астана, Казахстан).

Документ регламентирует порядок оказания в случае необходимости содействия одному из государств – участников СНГ по ликвидации ЧС санитарно-эпидемиологического характера путем привлечения мобильных противоэпидемических формирований других государств – участников СНГ. В документе определяются порядок обмена информацией, источники финансирования, основные направления работы и условия использования мобильных противоэпидемических формирований на территории стран СНГ.

Таким образом, с использованием системного подхода определены приоритетные направления взаимодействия национальных систем мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера государств – участников СНГ в рамках создания и обеспечения функционирования единой системы мониторинга и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера на пространстве СНГ. В период 2019–2023 гг. Координационным советом по проблемам санитарной охраны территорий государств – участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней разработаны необходимые правовые и нормативно-методические межгосударственные документы, необходимые для обеспечения легитимного взаимодействия национальных систем реагирования по всем основным направлениям.

На сегодняшний день фактически сформирована единая система мониторинга и оперативного реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера, объединяющая более 15 профильных учреждений восьми стран СНГ с созданием координирующего ситуационного центра на базе подведомственного Роспотребнадзору учреждения (ФКУН Российский противочумный институт «Микроб»).

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. Черкасский Б.Л. Актуальные проблемы эпидемиологии в конце XX – начале XXI веков. М.; 2004. 49 с.
2. Кутырев В.В., Щербакова С.А., Карнаухова И.Г., Касьян Ж.А., Шиянова А.Е., Горбунов В.А., Красько А.Г., Лешкевич А.Л., Федорович Е.В., Семижон П.А., Рустамова Л.М., Петкевич А.С., Ерубаев 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.
3. Положение о Координационном совете по проблемам санитарной охраны территорий государств – участников Содружества Независимых Государств от завоза и распространения особо опасных инфекционных болезней. [Электронный ресурс]. URL: https://microbe.ru/files/15112023_Polozh_KS.pdf (дата обращения 17.01.2024).
4. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Международное сотрудничество по формированию единой системы мониторинга и оперативного реагирования на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера на пространстве СНГ. Саратов: Амирит; 2022. 164 с.
5. Положение о порядке осуществления информационного обмена между государствами – участниками СНГ о чрезвычайных ситуациях в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера. [Электронный ресурс]. URL: https://microbe.ru/files/Inform_regul_2020.pdf (дата обращения 17.01.2024).
6. Соглашение о сотрудничестве в области санитарной охраны территорий государств – участников Содружества Независимых Государств. [Электронный ресурс]. URL: https://microbe.ru/files/28052021_2_sogl.pdf (дата обращения 17.01.2024).
7. МР «Организация мероприятий по санитарной охране территорий государств – участников содружества независимых государств». [Электронный ресурс]. URL: https://microbe.ru/files/15112023_MR_SanOhran.pdf (дата обращения 17.01.2024).
8. МР «Организация и проведение эпидемиологического надзора в природных очагах чумы на территории государств – участников содружества независимых государств». [Электронный ресурс]. URL: https://microbe.ru/files/2019_MR_Plague_foci_CIS.pdf (дата обращения 17.01.2024).
9. МР «Использование информационных систем для мониторинга угроз санитарно-эпидемиологического характера на пространстве СНГ». [Электронный ресурс]. URL: https://microbe.ru/files/15112023_MR_inform.pdf (дата обращения 17.01.2024).
10. Положение о базовой организации государств – участников Содружества Независимых Государств по мониторингу, оперативному оповещению и совместному реагированию на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера. [Электронный ресурс]. URL: https://microbe.ru/files/18062021_2_poloj.pdf (дата обращения 17.01.2024).
11. Порядок формирования реестра специалистов организаций санитарно-эпидемиологического профиля государств – участников СНГ для совместной работы в зоне чрезвычайной ситуации санитарно-эпидемиологического характера. [Электронный ресурс]. URL: https://microbe.ru/files/13102021_por.pdf (дата обращения 17.01.2024).
12. МР «Тактика организации и проведения совместных международных учений СПЭБ Роспотребнадзора и СПЭБ государств – участников СНГ по ликвидации чрезвычайных ситуаций в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера». [Электронный ресурс]. URL: https://microbe.ru/files/MR_SPEB_2022.pdf (дата обращения 23.01.2024).
13. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Специализированные противоэпидемические бригады Роспотребнадзора: роль в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия населения на современном этапе. Саратов: Амирит; 2019. 200 с.
14. Соглашение о сотрудничестве государств – участников Содружества Независимых Государств по предупреждению и реагированию на чрезвычайные ситуации в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера. [Электронный ресурс]. URL: https://microbe.ru/files/Sogl_sotr_emerg_2022.pdf (дата обращения 23.01.2024).

References

1. Cherkassky B.L. [Relevant Problems of Epidemiology at the End of the 20th – Early 21st Centuries]. Moscow; 2004. 49 p.
2. Kutyrev V.V., Shcherbakova S.A., Karnaukhov I.G., Kas'yan Zh.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., Erubaev T.K., Ayazbaev T.Z., Turegeldieva D.A., Kovaleva G.G., Berdiev S.K., Usenbaev N.T., Kazybaeva Zh.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.
3. [Regulations on the Coordination Council on the issues of sanitary protection of the territories of the member states of the Commonwealth of Independent States from the importation and spread of particularly dangerous infectious diseases]. (Cited 17 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://microbe.ru/files/15112023_Poloj_KS.pdf.
4. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [International Cooperation on the Formation of a Unified System of Monitoring and Rapid Response to Public Health Emergencies of Sanitary-Epidemiological Nature in the Space of the CIS]. Saratov: "Amirit"; 2022. 164 p.
5. [Regulations on the procedure for information exchange between the CIS member states on emergency situations in the field of public health of sanitary-epidemiological nature]. (Cited 17 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://microbe.ru/files/Inform_regul_2020.pdf.
6. [Agreement on cooperation in the field of sanitary protection of the territories of member states of the Commonwealth of Independent States]. (Cited 17 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://microbe.ru/files/28052021_2_sogl.pdf.
7. [Methodological Recommendations "Organization of measures for sanitary protection of the territories of member states of the Commonwealth of Independent States"]. (Cited 17 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://microbe.ru/files/15112023_MR_SanOhran.pdf.
8. [Methodological Recommendations "Organization and conduct of epidemiological surveillance in natural plague foci on the territory of member states of the Commonwealth of Independent States"]. (Cited 17 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://microbe.ru/files/2019_MR_Plague_foci_CIS.pdf.
9. [Methodological Recommendations "Use of information systems for monitoring threats of a sanitary-epidemiological nature in the space of CIS"]. (Cited 17 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://microbe.ru/files/15112023_MR_inform.pdf.
10. [Regulations on the basic organization of member states of the Commonwealth of Independent States regarding monitoring, prompt notification and joint response to public health emergencies of sanitary-epidemiological nature]. (Cited 17 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://microbe.ru/files/18062021_2_poloj.pdf.
11. [The procedure for forming a register of specialists from sanitary-epidemiological organizations of the CIS member states for joint work in the zone of an emergency situation of sanitary-epidemiological nature]. (Cited 17 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://microbe.ru/files/13102021_por.pdf.
12. [Methodological Regulations "Tactics of organizing and conducting joint international exercises of the Rospotrebnadzor SAETs and SAETs of the CIS member states to eliminate emergency situations in the field of public health of sanitary-epidemiological nature"]. (Cited 23 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://microbe.ru/files/MR_SPEB_2022.pdf.
13. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Specialized Anti-Epidemic Teams of the Rospotrebnadzor: Role in the Provision of Sanitary-Epidemiological Well-Being of the Population at the Present Stage]. Saratov: "Amirit"; 2019. 200 p.
14. [Agreement on cooperation between member states of the Commonwealth of Independent States in preventing and responding to public health emergencies of sanitary-epidemiological nature]. (Cited 23 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://microbe.ru/files/Sogl_sotr_emerg_2022.pdf.

Authors:

Karnaukhov I.G., Kas'yan Zh.A., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-108-114

УДК 579.834.114:579.25

Е.С. Крупинская¹, Э.И. Коренберг¹, К.А. Голидонова¹, Н.Б. Горелова¹, В.А. Матросова²**Результаты апробации оптимизированного метода мультилокусного сиквенс-анализа патогенных боррелий группы *Borrelia burgdorferi sensu lato***¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация; ²ФГБУН «Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта» Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

Цель исследования – апробация возможности идентификации изолятов патогенных боррелий группы *Borrelia burgdorferi sensu lato* по специфичности сцепленных последовательностей локусов их генов *recA* и *ospA*, т.е. оптимизированным методом мультилокусного сиквенс-анализа (МЛСА). **Материалы и методы.** Исследовано 25 изолятов боррелий от взрослых голодных клещей *Ixodes ricinus*, отловленных в лесостепной части Воронежской области. Изоляты получены посевом материала кишечника клещей на среду BSK. Их первичная идентификация проведена путем анализа сцепленных последовательностей локусов генов *recA* и *ospA* общей длиной 360 п.н. Выборочный контроль видовой принадлежности изолятов проведен в соответствии с протоколом полного МЛСА путем анализа нуклеотидных последовательностей 6 генов (*recA*, *ospA*, *rrs*, *hbb*, *groEL*, *fla*) и межгенного спейсера *rrf-rrl* (общей длиной всех 7 локусов 1187 п.н.) с использованием платформы BLAST, программ Sequence scanner 2 и MEGA11. **Результаты и обсуждение.** Исследована гетерогенность нуклеотидных последовательностей генов *recA* и *ospA* у 25 изолятов боррелий. Путем построения дендрограмм среди изолятов выявлены пять различных вариантов последовательностей. Показано сходство изолятов внутри каждой из этих пяти групп, а также их отличие от аналогичных сцепленных последовательностей других видов патогенных боррелий комплекса *B. burgdorferi sensu lato*. Для подтверждения полученных результатов проведено выборочное исследование изолятов из каждой группы по полному протоколу МЛСА. Выявлено, что в исследованных экосистемах Воронежской области циркулируют боррелии пяти видов: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis*, *B. burgdorferi sensu stricto* и *B. valaisiana*.

Ключевые слова: иксодовые клещевые боррелиозы, МЛСА, идентификация возбудителя, лабораторная диагностика.

Корреспондирующий автор: Крупинская Екатерина Сергеевна, e-mail: katekrupp@yandex.ru.

Для цитирования: Крупинская Е.С., Коренберг Э.И., Голидонова К.А., Горелова Н.Б., Матросова В.А. Результаты апробации оптимизированного метода мультилокусного сиквенс-анализа патогенных боррелий группы *Borrelia burgdorferi sensu lato*. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 2:108–114. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-108-114

Поступила 17.01.2024. Принята к публ. 15.02.2024.

E.S. Krupinskaya¹, E.I. Korenberg¹, K.A. Golidonova¹, N.B. Gorelova¹, V.A. Matrosova²**Results of Practical Evaluation of the Optimized Method for Multilocus Sequence Analysis of Pathogenic *Borrelia burgdorferi sensu lato* Group**¹National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russian Federation;²Engelhardt Institute of Molecular Biology, Moscow, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to test the possibility of identifying isolates of pathogenic *Borrelia burgdorferi sensu lato* by the specificity of linked sequences of their *recA* and *ospA* gene loci, i.e. using the optimized multilocus sequence analysis (MLSA) method. **Materials and methods.** 25 *Borrelia* isolates from adult hungry *Ixodes ricinus* ticks collected in the forest-steppe part of the Voronezh Region were studied. Isolates were obtained through seeding the mid-gut of ticks on BSK medium. Their primary identification was performed by analyzing the linked sequences of the *recA* and *ospA* gene loci with a total length of 360 bp. Selective control of species affiliation of *Borrelia* isolates was carried out according to the protocol of full MLSA via assessment of the nucleotide sequences of 6 genes (*recA*, *ospA*, *rrs*, *hbb*, *groEL*, *fla*) and the intergenic spacer *rrf-rrl* (total length of all 7 loci being 1187 bp) using the BLAST platform, Sequence scanner 2 and MEGA11 programs. **Results and discussion.** The heterogeneity of the nucleotide sequences of *recA* and *ospA* genes in 25 *Borrelia* isolates has been investigated. Construction of dendrograms has revealed at least 5 different sequence variants among the isolates. The similarity of isolates within each of these five groups, as well as their distinction from comparable linked sequences of other pathogenic species of the *B. burgdorferi sensu lato* complex is demonstrated. To confirm the results obtained, a set of isolates from each group was sampled using the full MLSA protocol. It has been established that five *Borrelia* species circulate in the studied ecosystems of the Voronezh Region: *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis*, *B. burgdorferi sensu stricto*, and *B. valaisiana*.

Key words: Ixodidae tick-borne borrelioses, MLSA, identification of the pathogen, laboratory diagnostics.

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

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

Acknowledgements: The authors are grateful to Yu.V. Kovalevsky, D.V. Trankvilevsky, G.A. Rakhal'sky and M.R. Khaliluev for assistance at various stages of the study.

Corresponding author: Ekaterina S. Krupinskaya, e-mail: katekrupp@yandex.ru.

Citation: Krupinskaya E.S., Korenberg E.I., Golidonova K.A., Gorelova N.B., Matrosova V.A. Results of Practical Evaluation of the Optimized Method for Multilocus Sequence Analysis of Pathogenic *Borrelia burgdorferi* sensu lato Group. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:108–114. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-108-114

Received 17.01.2024. Accepted 15.02.2024.

Krupinskaya E.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1173-5590>

Korenberg E.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4452-4231>

Golidonova K.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4832-6248>

Matrosova V.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2325-8584>

Иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) – это группа этиологически самостоятельных спирохетозных природно-очаговых трансмиссивных инфекций, передающихся человеку иксодовыми клещами и поражающих различные системы органов [1]. Возбудители ИКБ – комплекс спирохет *Borrelia burgdorferi* sensu lato (s.l.), включающий более 22 видов, для 6 из которых (*B. burgdorferi* sensu stricto [s.s.], *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis*, *B. spielmanii* и *B. mayonii*) доказана патогенность для человека [2]. На территории России выявлены природные очаги всех перечисленных видов возбудителей ИКБ (за исключением *B. mayonii*), причем наибольшее эпидемическое значение имеют *B. garinii*, *B. afzelii* и *B. bavariensis* [1, 3]. Их основные переносчики – клещи *Ixodes persulcatus* и *I. ricinus*. В последние десятилетия по уровню заболеваемости ИКБ занимают первое место среди всех природно-очаговых инфекций. В 2022 г., например, в нашей стране зарегистрировано 7264 случая (4,98 на 100 тыс. населения) [4].

Для лабораторной диагностики ИКБ рекомендованы методы прямого выявления возбудителя или его ДНК: культивирование на питательной среде, обнаружение боррелий с помощью световой или электронной микроскопии, полимеразная цепная реакция (ПЦР), а также серологические методы [1, 5]. Результативным методом лабораторной идентификации возбудителей ИКБ оказалась ПЦР, для проведения которой анализируемым материалом могут быть различные биологические жидкости, а также биоптаты ряда органов и тканей. Использование ПЦР для индикации комплекса конкретных ДНК мишеней позволяет точно установить этиологию заболевания. Это важная задача дифференциальной лабораторной диагностики нозологических форм заболеваний группы ИКБ из-за возможных существенных различий в их клинических проявлениях на разных стадиях инфекционного процесса [2, 5–8].

В современных исследованиях для определения видовой принадлежности боррелий используют методы мультилокусного сиквенс-анализа (МЛСА) и сиквенс-типирования (МЛСТ), основанные на специфике выявленных ПЦР-методом нуклеотидных последовательностей ряда консервативных генов. Протокол МЛСА включает исследование локусов 6 генов (*rrs*, *hbb*, *groEL*, *recA*, *fla*, *ospA*) и локуса межгенного спейсера *rrf-rrl* [9]. Протокол МЛСТ включает анализ набора локусов 8 иных консервативных генов (*clpA*, *clpX*, *nifS*, *pepX*, *pyrG*, *recG*, *rplB* и *uvrA*) [10]. Контрольная идентификация изолятов боррелий двумя этими методами дала тождественные результаты [11]. Оба метода трудоемки и времяземки.

Для практической работы клинико-диагностических лабораторий, связанной с необходимостью идентификации проб от многих пациентов или из природных очагов, метод МЛСА представляется более рациональным, поскольку его протоколом предусмотрено исследование локусов меньшего числа генов.

Ранее путем анализа степени сходства нуклеотидных последовательностей локусов каждого из этих генов (перечислены выше) у репрезентативного пула изолятов одного заранее известного вида (*B. bavariensis*) выявлено, что гены *recA* и *ospA* дают наибольшее отличие от последовательностей аналогичных локусов типовых штаммов других патогенных видов боррелий. Показано также, что сцепленные нуклеотидные последовательности локусов всего двух этих генов позволяют подтвердить видовую принадлежность изолятов этого пула и их отличие от аналогичных сцепленных последовательностей боррелий других патогенных видов, вызывающих ИКБ. На основании полученных данных предложено оптимизировать МЛСА для определения видового статуса изолятов *B. burgdorferi* s.l. [12]. Однако возможность достоверной первичной идентификации предложенным методом патогенных боррелий различных видов оставалась неясной.

Цель исследования – апробация возможности идентификации видовой принадлежности изолятов патогенных боррелий группы *B. burgdorferi* s.l. по специфичности сцепленных последовательностей локусов их генов *recA* и *ospA*, т.е. оптимизированным методом МЛСА, который был предложен ранее [13].

Материалы и методы

Исследованы 25 неидентифицированных первичных изолятов *B. burgdorferi* s.l. из музея боррелий лаборатории переносчиков инфекций на базе Государственной коллекции микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней человека II–IV групп патогенности («ГКМ – Гамалеи»). Они были получены путем индивидуального посева на среду BSK материала кишечника взрослых голодных особей европейского лесного клеща (*I. ricinus* L.) – единственного основного переносчика боррелий в описываемом регионе. Большинство клещей, от которых получены изоляты, собраны весной 2021 г. на флаг с наземной растительности лесных экосистем лесостепной части Воронежской области: в Верхнехавском районе (51°53'54" с.ш. 39°45'07" в.д.) и Центральном районе г. Воронежа (51°74'59" с.ш. 39°22'78" в.д.). Несколько культур

изолированы ранее от клещей этого вида с территории Воронежского заповедника им. В.М. Пескова.

Культивирование боррелий осуществляли при температуре 32 °С в течение одного месяца. Выделение бактериальной ДНК и очистка ПЦР-продуктов проведены с помощью коммерческого набора «Проба-НК» («ДНК-технология», Россия) и HiPure Gel DNA Mini Kit (Magen, Китай). МЛСА и оптимизированный МЛСА выполнены по схемам, предложенным D. Richter *et al.* [9] и К.А. Голидоновой и соавт. [12]. ПЦР проведена в амплификаторе Eppendorf Mastercycler nexus (Eppendorf, Германия). Ампликоны секвенированы с помощью набора реактивов BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Scientific, США) на автоматическом секвенаторе 3500xL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) в Межинститутском Центре коллективного пользования «Геном» (Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва).

Выборочный контроль идентификации изолятов при помощи оптимизированного МЛСА осуществлен путем сравнения полученных результатов с данными их исследования по полному протоколу МЛСА. Анализ результатов секвенирования проведен с использованием платформы BLAST, программ Sequence scanner 2 и MEGA11. Соответствующие дендрограммы построены с включением аутгруппы нуклеотидных последовательностей локусов 6 генов типовых штаммов патогенных для человека боррелий, которые содержит база данных GenBank: *recA* (149 п.н.), *ospA* (211 п.н.), *rrs* (480 п.н.), *hbb* (327 п.н.), *groEL* (224 п.н.), *fla* (304 п.н.), а также межгенного спейсера *rrf-rrl* (181 п.н.). Сцепленные нуклеотидные последовательности генов *recA* и *ospA* исследуемых изолятов, а также последовательностей локусов этих генов у всех видов боррелий аутгруппы использованы для построения дендрограмм методом невзвешенного попарного среднего (UPGMA) при величине bootstrap 1000 повторов с поправкой Джукса – Кантора.

Результаты и обсуждение

Поскольку возможность идентификации видовой принадлежности патогенных боррелий группы *B. burgdorferi* s.l. оптимизированным методом МЛСА основана на сцепленных последовательностях генов *recA* и *ospA*, нами проанализирована степень гетерогенности локусов этих генов у 25 исследуемых изолятов. Соответственно по данным секвенирования построены две дендрограммы: по гену *recA* и по гену *ospA*. Нуклеотидные последовательности локусов гена *ospA* кластеризовались с соответствующими последовательностями этого гена у пяти различных видов аутгруппы: 11 – с *B. afzelii*, 10 – в одном кластере с *B. garinii* и *B. bavariensis*, 3 – с *B. valaisiana* и 1 – с *B. burgdorferi* s.s. (рис. 1). Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *ospA* выявил сходство изолятов, кластеризовавших-

ся с *B. afzelii*, на 92,2–100 %, *B. garinii* – 94,8–100 %, *B. bavariensis* – 92,6–100 %, *B. valaisiana* – 97,1–100 %. Аналогичная дендрограмма нуклеотидных последовательностей гена *recA*, опубликованная ранее [13] и не приведенная из-за ограничения объема статьи, дала в целом сходные результаты. Однако отмечены отличия в кластеризации некоторых конкретных изолятов. Так, по последовательности локуса гена *recA* изолят Ir-6364 был ближе к *B. afzelii*, а по сиквенсу локуса гена *ospA* – к *B. garinii*. Изоляты Ir-6370 и Ir-6397, находившиеся по результату секвенирования локусов этого гена в одном кластере с *B. garinii* и *B. bavariensis*, по последовательностям гена *ospA* кластеризовались с *B. afzelii*. Изложенные факты подтвердили, что результаты секвенирования локуса только одного из генов, *recA* или *ospA*, не позволяют четко идентифицировать видовую принадлежность изолята и стимулировали проверку такой возможности по сцепленным последовательностям этих генов, как это было предложено оптимизацией МЛСА [12]. Соответствующая дендрограмма (рис. 2) демонстрирует четкую кластеризацию сцепленной последовательности всех тестируемых изолятов и подтверждает наличие среди них по крайней мере пяти различных вариантов.

С аналогичными сцепленными последовательностями *B. afzelii* кластеризовались 12 изолятов, 5 – с *B. garinii*, 4 – с *B. bavariensis*, 3 – с *B. valaisiana* и 1 – с *B. burgdorferi* s.s. Максимальное сходство сцепленных нуклеотидных последовательностей изолятов в каждой из этих групп (без *B. burgdorferi* s.s.) составляло 100 % с незначительными отклонениями некоторых минимальных значений, кроме одного изолята *B. bavariensis*, для которого этот показатель составил 90,3 %. Отличия сцепленных последовательностей локусов генов *recA* и *ospA* каждого из пяти видов боррелий, обнаруженных среди тестируемых изолятов, от патогенных боррелий других видов составляли от 4 до 15 %.

Приведенные цифры получены в результате расчетов по всем исследуемым изолятам. Они сведены в таблицу (по аналогичной с табл. 1 форме), размеры которой не позволяют воспроизвести ее в данной статье. Эта рабочая таблица выявила большое сходство последовательностей локусов у изолятов внутри каждой группы и их вполне достоверные отличия по этим особенностям от большинства патогенных боррелий других видов группы *B. burgdorferi* s.l.

Контроль информации о видовой принадлежности изолятов, протестированных оптимизированным методом МЛСА, проведен тестированием части из них по полному протоколу МЛСА. Исходя из большого сходства между сиквенсами изолятов определенного вида, для случайного выборочного контроля отобраны по одному изоляту каждого из пяти выявленных видов боррелий: Ir-6448, Ir-6470, Ir-6485, Ir-6521, Ir-6522. О принадлежности каждого из них к тому виду боррелий, который установлен по сцепленным последовательностям локусов генов *recA* и

Таблица 1 / Table 1

Сходство (в %) сцепленных нуклеотидных последовательностей генов *recA* и *ospA* «контрольных» изолятов с аналогичными сцепленными последовательностями типовых штаммов боррелий выявленных видов

Similarity (in %) of linked nucleotide sequences of *recA* and *ospA* genes in “control” isolates with analogous linked sequences of typical *Borrelia* strains of identified species

Номера изолятов и виды боррелий Isolate number and <i>Borrelia</i> species	Ir-6448	Ir-6470	Ir-6485	Ir-6521	Ir-6522	<i>B. afzelii</i> (VS461T)	<i>B. bavariensis</i> (NT29)	<i>B. bavariensis</i> (PBi)	<i>B. burgdorferi</i> s.s. (B31T)	<i>B. garinii</i> (20047T)	<i>B. valaisiana</i> (VS116T)
Ir-6448	100										
Ir-6470	96,7	100									
Ir-6485	88,6	89,4	100								
Ir-6521	91,7	90,8	91,4	100							
Ir-6522	89,7	90,6	90,8	88,3	100						
<i>B. afzelii</i> (VS461T)	90,3	91,1	90,8	88,9	99,4	100					
<i>B. bavariensis</i> (NT29)	94,2	95,6	90,0	91,1	90,0	90,6	100				
<i>B. bavariensis</i> (PBi)	94,7	96,7	90,0	91,4	90,3	90,8	96,4	100			
<i>B. burgdorferi</i> s.s. (B31T)	89,2	90,0	99,4	91,4	91,4	91,4	90,6	90,6	100		
<i>B. garinii</i> (20047T)	93,6	94,4	89,2	89,7	89,7	90,3	92,5	94,7	89,7	100	
<i>B. valaisiana</i> (VS116T)	91,7	90,8	91,4	100,0	88,3	88,9	91,1	91,4	91,4	89,7	100

ospA, свидетельствует наибольшая степень сходства с аналогичной последовательностью одного из типовых штаммов боррелий (табл. 1). Контрольное тестирование перечисленных изолятов методом МЛСА также подтвердило видовой статус четырех из них, установленный изначально «слепым» определением (рис. 3). Но итоги опытной и контрольной идентификации изолята Ir-6470 совпали не вполне: сцепленные последовательности секвенированных участков генов *recA* и *ospA* оказались идентичными таковым у *B. bavariensis* (рис. 2), а по итогу полного МЛСА они кластеризовались между кладами типовых изолятов данного вида и чрезвычайно близкой к нему *B. garinii* (рис. 3). До придания одному из генотипов *B. garinii* самостоятельного видового ранга *B. bavariensis* [14] их считали одним видом. По сходству сцепленных сиквенсов локусов генов *recA* и *ospA* изолят Ir-6470 оказался ближе к виду *B. bavariensis* (95,6–96,7 %), к которому мы его относим, чем к *B. garinii* 20047T – 94,4 % (табл. 1).

Итак, апробация оптимизированного метода МЛСА [12] «слепой» идентификацией 25 изолятов боррелий от взрослых клещей *I. ricinus* позволила по отличиям сцепленных последовательностей локусов генов *recA* и *ospA* выявить пять различных видов группы *B. burgdorferi* s.l. Номера доступа депонированных в GenBank исходных сиквенсов этих локусов, по которым сделаны заключения о видовой принадлежности каждого изолята, представлены в табл. 2. Судя по полученным нами данным, в лесостепной части Воронежской области более распространены и, следовательно, могут чаще вызывать заболевание ИКБ *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis*.

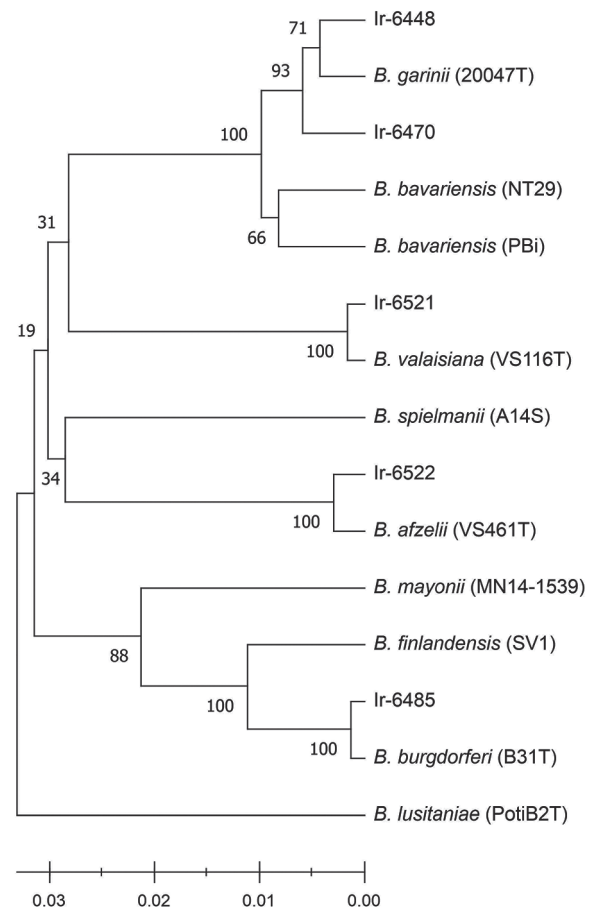


Рис. 3. Дендрограмма сцепленных сиквенсов выборочных изолятов боррелий, тестируемых по полному протоколу МЛСА (обозначения – в подписи к рис. 1)

Fig. 3. Dendrogram of linked sequences of selected *Borrelia* isolates tested through the full MLSA protocol (see designations to Fig. 1)

Таблица 2 / Table 2

Результаты идентификации 25 изолятов боррелий оптимизированным методом МЛСА
Results of identification of 25 *Borrelia* isolates using optimized MLSA

Изолят Isolate	Вид Species	Номер доступа GenBank / GenBank access number		
		Ген <i>recA</i> / <i>recA</i> gene	Ген <i>ospA</i> / <i>ospA</i> gene	
Ir-6358	<i>Borrelia afzelii</i>	–	OR257427	
Ir-6364		–	OR257429	
Ir-6370		OR340850	–	
Ir-6381		OR340843	MH935767	
Ir-6397		OR340849	MH935768	
Ir-6454		OR340844	OR257428	
Ir-6458		–	OR257423	
Ir-6461		OR340847	OR257424	
Ir-6471		OR340845	–	
Ir-6484		–	–	
Ir-6510		OR340848	OR257425	
Ir-6522		OR340846	OR257426	
Ir-6448		<i>Borrelia garinii</i>	OR340851	–
Ir-6453			OR340852	OR257432
Ir-6462	OR340853		OR257430	
Ir-6472	OR340855		OR257433	
Ir-6499	OR340854		OR257431	
Ir-6470	<i>Borrelia bavariensis</i>	OR340856	OR257434	
Ir-6475		OR340858	OR257436	
Ir-6476		OR340857	OR257435	
Ir-6508		–	–	
Ir-6465	<i>Borrelia valaisiana</i>	OR340859	OR257437	
Ir-6489		OR340860	OR257439	
Ir-6521		OR340861	OR257438	
Ir-6485	<i>Borrelia burgdorferi</i> s.s.	OR340862	OR257440	

В отличие от боррелий этих видов, которые разными методами были обнаружены здесь и ранее [14, 15], четвертый патогенный вид – *B. burgdorferi* s.s. – выявлен впервые и представлен в исследованном пуле одним изолятом. Его «удельное» значение в этиологии ИКБ нуждается в дальнейшем изучении, как и боррелий всех видов, циркулирующих в данном регионе, включая *B. valaisiana*, патогенность которой еще не вполне доказана [2]. Особую актуальность этой задачи подчеркивает возможность циркуляции боррелий нескольких видов в одной экосистеме при их единственном пути передачи человеку – клещом *I. ricinus*. Так, вблизи с. Большая Приваловка Верхнехавского района циркулируют все пять видов боррелий (табл. 2), а в Центральном районе г. Воронежа – минимум три вида (*B. afzelii*, *B. bavariensis*, *B. valaisiana*).

Представленные данные подтверждают возможность лабораторной идентификации патогенных видов боррелий группы *B. burgdorferi* s.l. предложенным ранее [12] оптимизированным методом МЛСА, основанным на анализе сцепленных нуклеотидных последовательностей локусов генов *recA* и *ospA*.

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

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

Благодарность. Авторы выражают благодарность Ю.В. Ковалевскому, Д.В. Транквилевскому, Г.А. Рахальскому и М.Р. Халилуеву за помощь на разных этапах проведения исследования.

Список литературы

1. Коренберг Э.И., Помелова В.Г., Осин Н.С. Природно-очаговые инфекции, передающиеся иксодовыми клещами. М.: Комментарий; 2013. 463 с.
2. Hunfeld K.-P., Gray J., editors. Lyme Borreliosis. Springer International Publishing: Cham, Switzerland; 2022. 236 p. DOI: 10.1007/978-3-030-93680-8.
3. Рудакова С.А., Теслова О.Е., Муталинова Н.Е., Пенъевская Н.А., Блох А.И., Рудаков Н.В., Савельев Д.А., Кузьменко Ю.Ф., Транквилевский Д.В. Обзор эпидемиологической ситуации по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2013–2022 гг. и прогноз на 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:75–87. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-75-87.
4. 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.

5. Guérin M., Shawky M., Zedan A., Octave S., Avallé B., Mafucci I., Padiolleau-Lefèvre S. Lyme borreliosis diagnosis: state of the art of improvements and innovations. *BMC Microbiol.* 2023; 23(1):204. DOI: 10.1186/s12866-023-02935-5.

6. Рудакова С.А., Теслова О.Е., Канешова Н.Е., Штрек С.В., Пен'евская Н.А., Рудаков Н.В. Основные итоги изучения иксодовых клещевых боррелиозов в Сибири по материалам Омского НИИ природно-очаговых инфекций. *Национальные приоритеты России.* 2021; 3:26–31.

7. Хаммадов Н.И., Хамидуллина А.И. Подбор генетических маркеров для выявления ДНК патогенных боррелий. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 2:134–41. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-134-141.

8. Воронкова О.В., Ильинских Е.Н., Рудиков А.А., Полторацкая Т.Н., Есимова И.Е., Лукашова Л.В., Карпова М.Р. Клинико-эпидемиологические проявления очагов иксодового клещевого боррелиоза в Томской области. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика.* 2022; 21(4):70–9. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-4-70-79.

9. Richter D., Postic D., Sertour N., Livey I., Matuschka F.-R., Baranton G. Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006; 56(Pt. 4):873–81. DOI: 10.1099/ijs.0.64050-0.

10. Margos G., Gatewood A.G., Aanensen D.M., Hanincová K., Terekhova D., Vollmer S.A., Cornet M., Piesman J., Donaghy M., Bormane A., Hurn M.A., Feil E.J., Fish D., Casjens S., Wormser G.P., Schwartz I., Kurtenbach K. MLST of housekeeping genes captures geographic population structure and suggests a European origin of *Borrelia burgdorferi*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105(25):8730–5. DOI: 10.1073/pnas.0800323105.

11. Голидонова К.А., Коренберг Э.И., Крупинская Е.С. Сравнительный анализ результатов исследования изолятов боррелий методами мультилокусного сиквенс-анализа (MLSA) и типирования (MLST). *Национальные приоритеты России.* 2021; 3:141–45.

12. Голидонова К.А., Коренберг Э.И., Гинцбург А.Л. Оптимизация мультилокусного сиквенс-анализа для лабораторной идентификации возбудителей иксодового клещевого боррелиоза. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2022; 99(5):514–24. DOI: 10.36233/0372-9311-296.

13. Крупинская Е.С., Голидонова К.А., Горелова Н.Б., Транквилевский Д.В. Предварительные результаты апробации оптимизированного метода мультилокусного сиквенс-анализа патогенных боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi* sensu lato. В кн.: Материалы Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой 180-летию со дня рождения К.А. Тимирязева, г. Москва, 5–7 июня 2023 г.: сборник статей. Т. 1. М.; 2023. С. 308–13. [Электронный ресурс]. URL: <http://elib.timacad.ru/dl/full/S10112023SMUiS1.pdf/view>.

14. Margos G., Wilske B., Sing A., Hizo-Teufel A., Cao W.C., Chu C., Scholz H., Straubinger R.K., Fingerle V. *Borrelia bavariensis* sp. nov. is widely distributed in Europe and Asia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2013; 63(Pt. 11):4284–8. DOI: 10.1099/ijs.0.052001-0.

15. Ромашов Б.В., Волгина Н.С., Штанников А.В., Ромашова Н.Б., Транквилевский Д.В., Бахметьева Ю.О. Иксодовый клещевой боррелиоз на территории Воронежской области: экологические и эпизоотологические особенности. *Российский паразитологический журнал.* 2012; 1:45–51.

References

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

2. Hunfeld K.-P., Gray J., editors. Lyme Borreliosis. Springer International Publishing: Cham, Switzerland; 2022. 236 p. DOI: 10.1007/978-3-030-93680-8.

3. Rudakova S.A., Teslova O.E., Mutalino N.E., Pen'evskaya N.A., Blokh A.I., Rudakov N.V., Savel'ev D.A., Kuz'menko Yu.F., Trankvilevsky D.V. [Review of the epidemiological situation on ixodid tick-borne borrelioses in the Russian Federation in 2013–2022 and Forecast for 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):75–87. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-75-87.

4. [On the State of Sanitary and Epidemiological Welfare 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.

5. Guérin M., Shawky M., Zedan A., Octave S., Avallé B., Mafucci I., Padiolleau-Lefèvre S. Lyme borreliosis diagnosis: state of the art of improvements and innovations. *BMC Microbiol.* 2023; 23(1):204. DOI: 10.1186/s12866-023-02935-5.

6. Rudakova S.A., Teslova O.E., Kaneshova N.E., Shtrek S.V., Pen'evskaya N.A. [Main results of the study of ixodid tick-borne borreliosis in Siberia based on the materials of the Omsk Research Institute of Natural Focal Infections]. *Natsional'nye Prioritety Rossii [National Priorities of Russia]*. 2021; (3):26–31.

7. Khammatov N.I., Khamidullina A.I. [Genetic markers for detecting the DNA of pathogenic *Borrelia*]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (2):134–41. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-2-134-141.

8. Voronkova O.V., Ilyinskikh E.N., Rudikov A.A., Poltoratskaya T.N., Esimova I.E., Lukashova L.V., Karpova M.R. [Clinical and epidemiological manifestations of ixodid tick-borne borreliosis foci in the Tomsk region]. *Epidemiologiya i Vaksino profilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2022; 21(4):70–9. DOI: 10.31631/2073-3046-2022-21-4-70-79.

9. Richter D., Postic D., Sertour N., Livey I., Matuschka F.-R., Baranton G. Delineation of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species by multilocus sequence analysis and confirmation of the delineation of *Borrelia spielmanii* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2006; 56(Pt. 4):873–81. DOI: 10.1099/ijs.0.64050-0.

10. Margos G., Gatewood A.G., Aanensen D.M., Hanincová K., Terekhova D., Vollmer S.A., Cornet M., Piesman J., Donaghy M., Bormane A., Hurn M.A., Feil E.J., Fish D., Casjens S., Wormser G.P., Schwartz I., Kurtenbach K. MLST of housekeeping genes captures geographic population structure and suggests a European origin of *Borrelia burgdorferi*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008; 105(25):8730–5. DOI: 10.1073/pnas.0800323105.

11. Golidonova K.A., Korenberg E.I., Krupinskaya E.S. [Comparative analysis of the results of studying *Borrelia* isolates by multilocus sequencing analysis (MLSA) and typing (MLST)]. *Natsional'nye Prioritety Rossii [National Priorities of Russia]*. 2021; (3):141–45.

12. Golidonova K.A., Korenberg E.I., Gintsburg A.L. [Optimized multilocus sequence analysis for laboratory identification of pathogens of ixodid tick-borne borreliosis]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2022; 99(5):514–24. DOI: 10.36233/0372-9311-296.

13. Krupinskaya E.S., Golidonova K.A., Gorelova N.B., Trankvilevsky D.V. [Preliminary results of approbation of the optimized method for multilocus sequencing analysis of pathogenic *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex]. In: [Proceedings of the International Scientific Conference of Young Scientists and Specialists, Dedicated to the 180th Anniversary of Birth of K.A. Timiryazev, Moscow, June 5–7, 2023. Collection of Articles]. Vol. 1. Moscow; 2023. P. 308–13. [Internet]. Available from: <http://elib.timacad.ru/dl/full/S10112023SMUiS1.pdf/view>.

14. Margos G., Wilske B., Sing A., Hizo-Teufel A., Cao W.C., Chu C., Scholz H., Straubinger R.K., Fingerle V. *Borrelia bavariensis* sp. nov. is widely distributed in Europe and Asia. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2013; 63(Pt. 11):4284–8. DOI: 10.1099/ijs.0.052001-0.

15. Romashov B.V., Volgina N.S., Shtannikov A.V., Romashova N.B., Trankvilevsky D.V., Bakhmet'eva Yu.O. [Ixodid tick-borne borreliosis on the territory of the Voronezh Region: ecological and epizootiological peculiarities]. *Rossiiskij Parazitologičeskij Žurnal [Russian Journal of Parasitology]*. 2012; (1):45–51.

Authors:

Krupinskaya E.S., Korenberg E.I., Golidonova K.A., Gorelova N.B. National Research Center of Epidemiology and Microbiology named after Honorary Academician N.F. Gamaleya. 18, Gamaleya St., Moscow, 123098, Russian Federation. E-mail: info@gamaleya.org.

Matrosova V.A. Engelhardt Institute of Molecular Biology. 32, Vavilova St., Moscow, 119334, Russian Federation. E-mail: isinfo@eimb.ru.

Об авторах:

Крупинская Е.С., Коренберг Э.И., Голидонова К.А., Горелова Н.Б. Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи. Российская Федерация, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18. E-mail: info@gamaleya.org.

Матросова В.А. Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта. Российская Федерация, 119334, Москва, ул. Вавилова, 32. E-mail: isinfo@eimb.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-115-121

УДК 614.8(470+87)

В.В. Кутырев, С.А. Щербакова, А.В. Иванова, В.Е. Куклев, Ж.А. Касьян, И.Г. Карнауков

Россия и Венесуэла: новое стратегическое партнерство в области реагирования на биологические угрозы и перспективы сотрудничества*ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация*

Рассмотрены ключевые направления международной деятельности Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по укреплению взаимодействия с профильными ведомствами иностранных государств в вопросах глобального обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения на современном этапе. Представлена последовательная работа по укреплению международной сети противодействия чрезвычайным ситуациям санитарно-эпидемиологического характера за счет эффективного взаимодействия в области оперативного реагирования со странами-партнерами в ближнем и дальнем зарубежье, в том числе посредством организации совместных научно-практических центров по изучению и профилактике инфекционных болезней. Показано, что реализуемые программы направлены на усиление национальных структур здравоохранения стран-партнеров для достижения самостоятельности в реализации мониторинговых и противоэпидемических мероприятий и построение единого эпидемиологического пространства, независимого от влияния глобальных и региональных геополитических колебаний. Рассмотрена актуальность наращивания межгосударственного взаимодействия в области анализа и купирования биологических угроз, прежде всего инфекционных болезней с потенциалом возникновения чрезвычайных ситуаций санитарно-эпидемиологического характера международного значения, в Южно-Американском регионе. Описано расширяющееся в настоящее время стратегическое сотрудничество в сфере биологической безопасности с Боливарианской Республикой Венесуэла посредством создания первого совместного научного центра в регионе Южной Америки. Приводятся первые результаты совместной работы российских и венесуэльских специалистов, подтверждающие успешную интеграцию российского опыта мониторинга и предотвращения биологических угроз в систему обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Венесуэлы. Обсуждаются перспективные направления для дальнейших совместных исследований.

Ключевые слова: Боливарианская Республика Венесуэла, биологические угрозы, межгосударственное взаимодействие, инфекционные болезни.

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

Для цитирования: Кутырев В.В., Щербакова С.А., Иванова А.В., Куклев В.Е., Касьян Ж.А., Карнауков И.Г. Россия и Венесуэла: новое стратегическое партнерство в области реагирования на биологические угрозы и перспективы сотрудничества. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 2:115–121. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-115-121

Поступила 30.05.2024. Принята к публ. 03.06.2024.

V.V. Kutyrev, S.A. Shcherbakova, A.V. Ivanova, V.E. Kuklev, Zh.A. Kas'yan, I.G. Karnaukhov

Russia and Venezuela: New Strategic Partnership in the Field of Response to Biological Threats and Prospects for Cooperation*Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation*

Abstract. The paper considers the key areas of international activities of the Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being in strengthening cooperation with specialized agencies of foreign countries in the global provision of sanitary-epidemiological welfare of the population at the current stage. Consistent work to strengthen the international network to counter emergency situations of a sanitary and epidemiological nature through effective interaction in the field of rapid response with partner countries in the near and far abroad, including through the organization of joint scientific and practical centers for the study and prevention of infectious diseases is presented. It is shown that the programs being implemented are aimed at strengthening the national healthcare structures of partner countries to achieve independence in the implementation of monitoring and anti-epidemic measures and building a single epidemiological space, independent of the influence of global and regional geopolitical fluctuations. The relevance of increasing interstate cooperation in the field of analysis and control of biological threats, primarily infectious diseases with the potential for emergencies of a sanitary and epidemiological nature of international concern, in the South American region is considered. The currently expanding strategic biosecurity collaboration with the Bolivarian Republic of Venezuela through the establishment of the first joint research center in the South American region is described. The first results of the joint work of Russian and Venezuelan specialists are presented, confirming the successful integration of Russian experience in monitoring and preventing biological threats into the system of ensuring the sanitary and epidemiological well-being of the Venezuelan population. Promising areas for further joint research are discussed.

Key words: Bolivarian Republic of Venezuela, biological threats, interstate cooperation, 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: Kutyrev V.V., Shcherbakova S.A., Ivanova A.V., Kuklev V.E., Kas'yan Zh.A., Karnaukhov I.G. Russia and Venezuela: New Strategic Partnership in the Field of Response to Biological Threats and Prospects for Cooperation. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:115–121. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-115-121

Received 30.05.2024. Accepted 03.06.2024.

Kutyrev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>
Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>
Ivanova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4849-3866>

Kuklev V.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9834-8544>
Kas'yan Zh.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9828-3277>
Karnaukhov I.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8181-6727>

Номенклатура современных угроз и вызовов в области обеспечения биологической безопасности чрезвычайно широка [1]. Наиболее острыми из них являются инфекционные болезни, представляющие потенциальную угрозу для любой страны мира в контексте трансграничного распространения, способные в короткий промежуток времени перерасти из локальной проблемы в чрезвычайную ситуацию (далее – ЧС) санитарно-эпидемиологического характера международного значения [2]. В ответ на современные биологические вызовы необходимо совершенствовать систему противодействия инфекционным болезням на международном уровне, прежде всего за счет наращивания национального и регионального потенциала в области обеспечения готовности и реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера [3, 4]. Очевидно, что для противостояния биологическим угрозам важно выстраивать общемировую систему мер реагирования, в том числе обеспечивать биологическую независимость стран, создавать собственные лаборатории, укреплять механизмы внутригосударственного и международного взаимодействия.

Содействие международному развитию как один из эффективных механизмов решения проблем противодействия новым вызовам и угрозам закреплено в Концепции государственной политики Российской Федерации, утвержденной Указом Президента РФ от 20 апреля 2014 г. № 259. Сегодня стратегия страны по противодействию современным угрозам и вызовам на глобальном уровне строится на основе системного подхода и посредством различных форматов международного сотрудничества: на уровне ООН, ВОЗ, межгосударственных объединений (ЕАЭС, СНГ, ШОС, БРИКС) и двусторонних соглашений между странами.

Укрепление взаимодействия с профильными ведомствами иностранных государств, международными организациями и объединениями по вопросам обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения всегда оставалось ключевым направлением международной деятельности Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (далее – Роспотребнадзор). Уже более 10 лет Роспотребнадзором проводится последовательная работа по укреплению сети реагирования на ЧС санитарно-эпидемиологического характера на пространстве Содружества Независимых Государств, развивая эффективный компонент международной сети противодействия ЧС санитарно-эпидемиологического характера, за счет эффективно-

го взаимодействия в области оперативного реагирования со странами-партнерами в ближнем и дальнем зарубежье, в том числе посредством организации совместных научно-практических центров по изучению и профилактике инфекционных болезней.

Функционирование центров позволяет своевременно получать информацию о выявлении инфекционных болезней (в том числе о вызванных новыми, ранее неизвестными патогенами) с потенциалом глобального распространения, обеспечивать своевременную разработку диагностических и профилактических средств (в качестве примера – более 20 новых тест-систем разработано при реализации российско-гвинейского сотрудничества, в том числе препараты для диагностики лихорадки Эбола, Ласса, денге и др.) [5], наладить оперативное получение критически важной в эпидемиологическом плане информации для организации превентивных мероприятий по недопущению завоза инфекционных болезней на территорию Российской Федерации.

Россия последовательно наращивает усилия по реализации программ содействия странам-партнерам, направленных на усиление национальных структур для достижения самостоятельности в реализации мониторинговых и противоэпидемических мероприятий и построении единого эпидемиологического пространства, независимого от влияния глобальных и региональных геополитических колебаний.

Главные направления взаимодействия предусматривают реализацию трех основных компонентов оказания поддержки:

1. Целевое научное сотрудничество по совершенствованию системы эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями, представляющими угрозу глобальной безопасности.

2. Укрепление кадрового потенциала служб обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения стран-партнеров на основе использования российского опыта, экспорта российских технологий мониторинга биологических угроз, а также образовательных услуг по подготовке специалистов в области эпидемиологии и биологической безопасности.

3. Укрепление материально-технической базы профильных учреждений, в том числе за счет целевого оснащения мобильными лабораториями, поставок лабораторного оборудования, диагностических препаратов, средств индивидуальной защиты.

Сегодня такие центры, полностью оснащенные всем необходимым современным лабораторным оборудованием и расходными материалами,

уже организованы и успешно функционируют в регионах с наиболее сложной эпидемиологической обстановкой: в Юго-Восточной Азии (Российско-Вьетнамский центр) и на Африканском континенте (Российско-Гвинейский и Российско-Бурундийский центры). На фоне общемировых и региональных вызовов биологической безопасности дальнейшее расширение системы центров и совместная работа будут способствовать существенному укреплению глобальных возможностей по эпидемиологическому надзору и ответным мерам на ЧС в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения. Несомненный интерес в плане изучения биологических угроз представляет регион Южной Америки.

Актуальность наращивания взаимодействия в области анализа и купирования угроз биологического характера в Южно-Американском регионе определяется значительным вкладом стран региона в общемировые показатели заболеваемости по ряду инфекционных болезней, в том числе особо опасных. На территориях шести стран Южной Америки располагаются природные очаги чумы [6]. За период с 1990 по 2024 г. в регионе зарегистрировано 1945 случаев чумы (3,4 % от заболеваемости в мире) и 118 смертельных исходов (6,1 %) [7, 8]. Наибольший вклад в неблагополучие по чуме вносит Перу (последний случай – в 2013 г.), где диагностировано 82,8 % от всех случаев чумы в регионе. В Боливии вспышки чумы зарегистрированы в 1990 г. (10 случаев, 2 смерти) и 1996 г. (26 случаев, 4 смерти), после чего сообщалось о спорадических случаях в 1997, 2010, 2018 гг. (по 1 случаю), 2014 г. (2 случая). В Эквадоре в 1998 г. отмечена единственная вспышка чумы, легочной формы (13 случаев). В Бразилии случаи заболевания чумой не регистрируются с 2000 г., в Аргентине – с 1959 г., Венесуэле – с 1964 г. Необходимо отметить, что в ряде эндемичных стран Южной Америки природные очаги чумы остаются малоизученными [9].

Одной из значимых угроз биологического характера в регионе остается холера. Несмотря на достаточно спокойную в настоящее время ситуацию по холере в странах Латинской Америки [10], в прошлом крупномасштабные эпидемии холеры неоднократно возникали именно в Американском регионе. Эпидемические проявления болезни в 1991–1996 гг. затронули все страны региона, кроме Уругвая [11]. С 2000 г. болезнь проявляла себя лишь спорадическими случаями в Эквадоре, Бразилии и Парагвае (до 2010 г.). Отдельные завозные случаи, связанные с крупнейшей вспышкой на Гаити, отмечали в Чили (2014 г.) и Венесуэле (2011, 2013 гг.) [12].

Высокую социальную значимость в регионе имеет малярия. Эндемичными в настоящее время являются все страны региона, кроме Уругвая и Чили. К наиболее неблагополучным территориям относят Венесуэлу, Бразилию, Колумбию и Перу, где заболеваемость регистрируют практически круг-

логодично [13]. На Венесуэле приходится более 60 % летальных исходов от малярии в регионе [14]. Стойкое неблагополучие по малярии на вышеуказанных территориях связано с прекращением или недостаточно эффективным функционированием национальных программ по борьбе малярией. В Колумбии и Венесуэле распространению малярии также способствует перемещение больших групп населения из высокоэндемичных сельских районов в города, в том числе вследствие интенсивно развивающейся добычи золота и полезных ископаемых.

Наиболее актуальными инфекционными болезнями для региона являются арбовирусные лихорадки. Желтая лихорадка является эндемичной болезнью практически во всех странах Латинской Америки, кроме Чили и Уругвая [15]. В период с 1990 по 2023 г. официально зарегистрировано более 5,5 тыс. случаев желтой лихорадки и 2,4 тыс. смертей (43,9 % от общемировых показателей).

Нарастающую угрозу общественному здравоохранению представляет высокая заболеваемость лихорадкой денге. В современный период местная передача возбудителя денге происходит во всех странах региона, за исключением континентальной части Чили. Случаи денге регистрируются в течение всего года. За период 1990–2023 гг. во всех странах региона диагностировано более 30,4 млн случаев. Наиболее пораженными территориями являются Бразилия (63 % от общего числа случаев в Южной Америке), Колумбия (6 %) и Венесуэла (4 %) [16].

После крупнейшей вспышки лихорадки Зика в Бразилии 2015 г., когда возбудитель впервые вышел за пределы своей обычной циркуляции (ранее ареал болезни ограничивался странами Африки и Юго-Восточной Азии), болезнь стремительно распространилась по всему континенту. Проявления эпидемического процесса лихорадки Зика отмечены во всех странах региона (в совокупности более 443,5 тыс. случаев болезни за анализируемый период) [17]. Оценка эпидемиологической значимости проблемы лихорадки Западного Нила (ЛЗН) для региона на сегодняшний день ограничивается выявлением маркеров возбудителя в объектах внешней среды и наличием иммунной прослойки у населения в Панаме, Колумбии, Венесуэле, Бразилии, Боливии [18]. Единичные случаи болезни зарегистрированы в Аргентине (2006, 2014–2015 и 2020 гг.), Боливии (2012 г.) и Бразилии (2014, 2017, 2019 и 2020 гг.). Низкий уровень официально регистрируемой заболеваемости, по всей видимости, связан с недостаточно эффективно организованным эпидемиологическим надзором за ЛЗН и приоритетным вниманием служб здравоохранения к другим, более актуальным для региона арбовирусным лихорадкам.

Обобщая сказанное, можно сделать вывод, что Южно-Американский континент регулярно сталкивается со вспышками опасных инфекционных болезней, таких как лихорадка денге, холера, малярия, желтая лихорадка и других болезней, истощающих

финансовый и кадровый ресурс систем здравоохранения стран, что в значительной мере снижает потенциал реагирования. Отсутствие возможности своевременного купирования эпидемического процесса крупных вспышек опасных инфекционных болезней способствует распространению инфекции за пределы региона. Данное обстоятельство характеризует континент Южной Америки как эффективно-го донора завоза инфекционных болезней в страны мира [2].

Учитывая сложную эпидемиологическую ситуацию в регионе по ряду инфекционных болезней и складывающиеся на сегодняшний день геополитические обстоятельства, участие России в содействии международному развитию в Американском регионе по ряду ключевых направлений в области обеспечения глобальной биологической безопасности ориентировано в первую очередь на взаимодействие со странами Южной Америки.

В последние годы сотрудничество в регионе достигло уверенных результатов в построении прочного каркаса российско-латиноамериканских отношений. Сегодня стремительно развивающиеся отношения между Российской Федерацией и странами Латинской Америки на международной арене носят характер взаимовыгодного партнерства, основанного на общих ценностях, совпадении политических взглядов в отношении плодотворного сотрудничества с соблюдением баланса интересов в международных отношениях, обоюдным стремлением к всемерному наращиванию потенциала торгово-экономических, культурно-гуманитарных связей, а также вопросов укрепления международной стабильности и безопасности, в том числе биологической [19].

Задачи оценки текущих и вновь возникающих угроз биологической безопасности в регионе, обсуждения существующих и перспективных механизмов и инструментов противодействия, выработки конкретных мер, основанных на расширяющемся сотрудничестве государственного, частного и научного секторов в сфере биологической безопасности, становятся, по сути, стратегическими.

Документы о всеобъемлющем стратегическом партнерстве подписаны со многими странами региона, в том числе с Аргентиной [20], Бразилией [21], Кубой [22], Никарагуа [23], Перу [24] и одним из ключевых партнеров для России в вопросах обеспечения глобальной биологической безопасности в Южно-Американском регионе – Венесуэлой [25].

14 декабря 2022 г. на 16-м заседании Межправительственной Российско-Венесуэльской комиссии высокого уровня (г. Каракас) Роспотребнадзором и министерствами народной власти по здравоохранению и по науке и технологиям Боливарианской Республики Венесуэла (далее – БРВ) был подписан «Меморандум о взаимопонимании по вопросам сотрудничества в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, профилактики и борьбы с инфекционными заболе-

ваниями». Документ предусматривал двустороннее взаимодействие по различным направлениям:

- содействие в области профилактики инфекционных болезней, в том числе оказание помощи в повышении технической оснащенности Национальной сети лабораторий государственной системы здравоохранения БРВ;

- оказание помощи в оценке имеющихся, а также разработке новых вакцин против инфекционных заболеваний;

- оказание помощи в осуществлении санитарно-эпидемиологического надзора за инфекционными и паразитарными заболеваниями;

- подготовка специалистов и проведение совместных научных исследований.

Особая роль в укреплении сотрудничества отведена противочумным и научно-исследовательским организациям Роспотребнадзора и научным учреждениям БРВ, ответственным за обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения: Национальному институту гигиены Рафаэля Ранхеля (далее – INHRR), Министерству народной власти по вопросам здравоохранения и Венесуэльскому институту научных исследований (далее – IVIC) Министерства народной власти по науке и технологиям.

В ходе рабочих визитов российских специалистов в Венесуэлу (2022–2023 гг.) оценены текущие возможности обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения страны и определен дальнейший вектор развития наиболее перспективных направлений сотрудничества. Среди них особое внимание отведено содействию в совершенствовании мониторинговых и диагностических исследований, проводимых в рамках национального эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями. В качестве актуальных для БРВ инфекционных болезней определены зоонозные природно-очаговые инфекции, арбовирусные лихорадки, малярия, острые кишечные инфекции, в том числе холера, и вакциноуправляемые социально значимые инфекции (грипп, корь, краснуха и др.).

В целях оперативной координации совместных научных исследований на функциональной основе на базе научных организаций России и Венесуэлы организован Российско-Венесуэльский центр по изучению и профилактике инфекционных болезней в Боливарианской Республике Венесуэла. Соглашение о создании Центра подписано 22 декабря 2022 г. руководителями трех научно-исследовательских институтов: Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» Роспотребнадзора, Национального института гигиены Рафаэля Ранхеля (INHRR) Министерства народной власти по вопросам здравоохранения и Венесуэльского института научных исследований (IVIC) Министерства народной власти по науке и технологиям. Подписание базового документа о научном сотрудничестве позволило в соответствии с планом работы (на 2023–2024 гг.)

Центра начать реализацию первых пяти совместных научных проектов, связанных с совершенствованием эпидемиологического надзора и лабораторной диагностики актуальных для страны инфекционных болезней.

На сегодняшний день совместные исследовательские проекты реализуются при участии пяти противочумных научно-исследовательских институтов и четырех научных организаций Роспотребнадзора (Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии, Государственный научный центр микробиологии и биотехнологии, Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера).

В рамках данных проектов совместными усилиями российских и венесуэльских специалистов проводится мониторинг по актуальным для Венесуэлы особо опасным и природно-очаговым инфекционным болезням, вакциноуправляемым инфекциям (корь, краснуха, дифтерия, коклюш), вирусным гепатитам. Полученные в 2023 г. данные о распространенности и характеристиках возбудителей инфекционных болезней (денге, хантавирусные болезни, бруцеллез и др.), циркулирующих на территории БРВ, дают возможность повысить эффективность эпидемиологического надзора и мониторинга за этими инфекциями как в БРВ, так и в РФ. Результаты исследований структуры иммунитета населения различных районов БРВ в отношении ряда инфекционных болезней (лихорадки денге, Западного Нила, чикунгунья, Синдбис, Батаи и ряд природно-очаговых инфекций) расширяют спектр актуальных для совместного изучения инфекций. Начата работа по созданию новых препаратов для диагностики Венесуэльской геморрагической лихорадки (Гуанарито). Первые прототипы диагностических тест-систем уже проходят испытания на базе венесуэльских институтов.

Материально-техническое обеспечение проводимых исследований осуществлено за счет оснащения научных учреждений Венесуэлы (INHRR и IVIC), на базе которых функционирует Центр, необходимым набором лабораторного, инженерно-технического и вспомогательного оборудования, а также диагностическими препаратами, расходными материалами и средствами индивидуальной защиты, поставленными Российской Федерацией.

Особое внимание в межгосударственном сотрудничестве уделяется вопросам подготовки кадров. За период 2022–2023 гг. организациями Роспотребнадзора в рамках повышения квалификации обучено 69 специалистов БРВ по вопросам мониторинга за возбудителями инфекционных болезней современным технологиям эпидемиологического надзора, методам лабораторной диагностики опасных инфекционных болезней и обеспечению биологической безопасности. Для отработки навыков совместного оперативного реагирования на

биологические угрозы представители Венесуэлы впервые приняли участие во II Международных учениях команд быстрого реагирования на чрезвычайные ситуации санитарно-эпидемиологического характера с использованием мобильных лабораторий Роспотребнадзора в России (г. Астрахань, 26–29 сентября 2023 г.). Кроме того, в рамках обмена опытом специалисты из Венесуэлы принимают участие в научно-практических форумах различного формата, организованных Российской Федерацией.

Таким образом, реализация обозначенных выше направлений позволила начать успешную модернизацию системы обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Венесуэлы с учетом использования российского опыта мониторинга и предотвращения биологических угроз. Совместная российско-венесуэльская работа по противодействию угрозам санитарно-эпидемиологического характера будет продолжаться и развиваться, что несомненно внесет значительный вклад в повышение национальных возможностей наших стран на фоне современных биологических вызовов и угроз, а также будет способствовать дальнейшему закреплению роли Российской Федерации как одного из основных участников глобальных программ содействия международному развитию и основных партнеров в вопросах обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия в Южно-Американском регионе.

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., Попова А.Ю., Топорков В.П., Смоленский В.Ю., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Современные угрозы и вызовы в области биологической безопасности и стратегия противодействия. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 3:5–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-3-5-9.
2. Иванова А.В., Зубова А.А., Касьян Ж.А., Дмитриева Л.Н., Чумачкова Е.А., Зимирова А.А., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Обзор актуальных рисков заноса инфекционных болезней на территорию Российской Федерации из стран Африканского континента. *Дезинфекционное дело*. 2023; 4:33–45. DOI: 10.35411/2076-457X-2023-4-33-45.
3. Хижняк В.С. Глобализация как фактор развития международно-правовой политики Российской Федерации. *Правовая политика и правовая жизнь*. 2020; 2:8–15.
4. Романовский Г.Б. Биологическая безопасность в системе глобальных угроз: правовые основы противодействия. *Наука. Общество. Государство*. 2021; 9(1):94–101. DOI: 10.21685/2307-9525-2021-9-1-12.
5. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Россия – Африка: опыт работы Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней. Элиста: ООО «Прощет»; 2023. 244 с.
6. Попова А.Ю., Кутырев В.В., редакторы. Атлас природных очагов чумы России и зарубежных государств. Калининград: РА Полиграфичъ; 2022. 348 с.
7. Попов Н.В., Карнаухов И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Иванова А.В., Марцоха К.С., Куклев Е.В., Корзун В.М., Вержущкий Д.Б., Чипанин Е.В., Холин А.В., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Ашибоков У.М., Газиева А.Ю., Кутырев И.В., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпидемиологическая ситуация по чуме в мире. Прогноз эпизоотической активности природных очагов чумы Российской

Федерации на 2024 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 1:67–75. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-67-75.

8. Топорков В.П., Величко Л.Н., Шиянова А.Е., Кедрова О.В. Динамика заболеваемости чумой в мире. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2008; 3:22–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2008-3(97)-22-25.

9. Козлов М.П., Султанов Г.В. Эпидемические проявления чумы в прошлом и настоящем. Махачкала: Дагестанское кн. изд-во; 1993. 336 с.

10. WHO. Cholera – Global situation. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON426> (дата обращения 20.04.2024).

11. Deen J., Mengel M.A., Clemens J.D. Epidemiology of cholera. *Vaccine*. 2020; 38 Suppl. 1:A31–A40. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.07.078.

12. Venezuela reports 37 cholera cases. [Электронный ресурс]. URL: <https://web.archive.org/web/20110130182153/http://edition.cnn.com/2011/WORLD/americas/01/27/venezuela.cholera/> (дата обращения 20.04.2024).

13. Conn J.E., Grillet M.E., Correa M.M., Sallum M.A. Malaria transmission in South America – present status and prospects for elimination. In: Manguin S., Dev V., editors. *Towards Malaria Elimination – A Leap Forward*. DOI: 10.5772/intechopen.76964.

14. WHO. World Malaria Report 2021. [Электронный ресурс]. URL: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/malaria/world-malaria-reports/978924004049-eng.pdf?sfvrsn=8f4af712_5&download=true (дата обращения 18.05.2024).

15. CDC. Countries at risk for yellow fever: South America. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.cdc.gov/yellow-fever/south-america/index.html> (дата обращения 20.05.2024).

16. WHO. Dengue – the Region of the Americas. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON475> (дата обращения 20.05.2024).

17. Musso D., Gubler D.J. Zika virus. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016; 29(3):487–524. DOI: 10.1128/CMR.00072-15.

18. Komar N., Clark G.G. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Rev. Panam. Salud Publica*. 2006; 19(2):112–7. DOI: 10.1590/s1020-49892006000200006.

19. Коновалова К.А. Стратегические партнерства России и государств Латинской Америки в новых геополитических условиях. *Мировая политика*. 2023; 1:37–51. DOI: 10.25136/2409-8671.203.1.39954.

20. Яковлева Н.М. Россия и Аргентина на пути к всеобъемлющему стратегическому партнерству. *Латинская Америка*. 2015; 9:31–43.

21. Дальнейшие шаги по выполнению Плана действий стратегического партнерства между Российской Федерацией и Федеративной Республикой Бразилией (Москва, 14 декабря 2012 г.). [Электронный ресурс]. URL: <https://base.garant.ru/70299294/> (дата обращения 20.04.2024).

22. Министерство иностранных дел Российской Федерации. Вступительное слово Министра иностранных дел Российской Федерации С.В. Лаврова в ходе встречи с Заместителем Премьер-министра Кубы Р. Кабрисасом, Москва, 18 марта 2024 года. [Электронный ресурс]. URL: https://www.mid.ru/ru/press_service/video/posledniye_dobavlnenniye/1939428/ (дата обращения 21.04.2024).

23. Министерство иностранных дел Российской Федерации. О подписании Соглашения между Правительством Российской Федерации и Правительством Республики Никарагуа о сотрудничестве в области обеспечения международной информационной безопасности. [Электронный ресурс]. URL: https://www.mid.ru/ru/foreign_policy/international_safety/mezhdunarodnaa-informacionnaa-bezopasnost/1767964/ (дата обращения 21.04.2024).

24. Посольство Российской Федерации в Республики Перу. Россия – Перу: страницы истории. [Электронный ресурс]. URL: <https://peru.mid.ru/ru/countries/bilateral-relations/history/> (дата обращения 21.04.2024).

25. Министерство иностранных дел Российской Федерации. Протокол о внесении изменений в Соглашение между Российской Федерацией и Боливарианской Республикой Венесуэла о сотрудничестве в области реализации совместных стратегических проектов от 10 сентября 2009 г. [Электронный ресурс]. URL: https://www.mid.ru/ru/foreign_policy/international_contracts/international_contracts/2_contract/57923/ (дата обращения 20.04.2024).

References

1. Onishchenko G.G., Popova A.Yu., Toporkov V.P., Smolensky V.Yu., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Present-day menaces and challenges in the sphere of biological safety and strategy of countermeasures]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; (3):5–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-3-5-9.

2. Ivanova A.V., Zubova A.A., Kas'jan Zh.A., Dmitrieva L.N., Chumachkova E.A., Zimirova A.A., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. [Review of current epidemiological risks of introducing infectious diseases into the Russian Federation from the African continent]. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]*. 2023; (4):33–45. DOI: 10.35411/2076-457X-2023-4-33-45.

3. Khizhnyak V.S. [Globalization as a factor in the development of international legal policy of the Russian Federation]. *Pravovaya Politika i Pravovaya Zhizn' [Legal Policy and Legal Life]*. 2020; (2):8–15.

4. Romanovsky G.B. [Biological safety in the system of global threats: legal basis for counteraction]. *Nauka. Obshchestvo. Gosudarstvo [Science. Society. State]*. 2021; 9(1):94–101. DOI: 10.21685/2307-9525-2021-9-1-12.

5. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Russia – Africa: Operational Expertise of the Russian-Guinean Research Center for Epidemiology and Prevention of Infectious Diseases]. Elista: “Protsvet” Ltd; 2023. 244 p.

6. Popova A.Yu., Kutyrev V.V., editors. [Atlas of Natural Plague Foci in Russia and Foreign Countries]. Kaliningrad: “RA Poligrafyč”; 2022. 348 p.

7. Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Ivanova A.V., Martsokha K.S., Kuklev E.V., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Kholin A.V., Lopatin A.A., Dubyansky V.M., Ashibokov U.M., Gazieva A.Yu., Kutyrev I.V., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. [Epidemiological situation on plague around the world. Forecast of epizootic activity of natural plague foci in the Russian Federation for 2024]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; (1):67–75. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-67-75.

8. Toporkov V.P., Velichko L.N., Shiyanova A.E., Kedrova O.V. [The tendency of plague morbidity dynamics in the world]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2008; (3):22–5. DOI: 10.21055/0370-1069-2008-3(97)-22-25.

9. Kozlov M.P., Sultanov G.V. [Epidemic Manifestations of Plague in the Past and Present]. Makhachkala: Dagestan book publishing house; 1993. 336 p.

10. WHO. Cholera – Global situation. (Cited 20 Apr 2024). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON426>.

11. Deen J., Mengel M.A., Clemens J.D. Epidemiology of cholera. *Vaccine*. 2020; 38 Suppl. 1:A31–A40. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.07.078.

12. Venezuela reports 37 cholera cases. (Cited 20 Apr 2024). [Internet]. Available from: <https://web.archive.org/web/20110130182153/http://edition.cnn.com/2011/WORLD/americas/01/27/venezuela.cholera/>.

13. Conn J.E., Grillet M.E., Correa M.M., Sallum M.A. Malaria transmission in South America – present status and prospects for elimination. In: Manguin S., Dev V., editors. *Towards Malaria Elimination – A Leap Forward*. DOI: 10.5772/intechopen.76964.

14. WHO. World Malaria Report 2021. (Cited 18 May 2024). [Internet]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/malaria/world-malaria-reports/978924004049-eng.pdf?sfvrsn=8f4af712_5&download=true.

15. CDC. Countries at risk for yellow fever: South America. (Cited 20 May 2024). [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/yellow-fever/south-america/index.html>.

16. WHO. Dengue – the Region of the Americas. (Cited 20 May 2024). [Internet]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON475>.

17. Musso D., Gubler D.J. Zika virus. *Clin. Microbiol. Rev.* 2016; 29(3):487–524. DOI: 10.1128/CMR.00072-15.

18. Komar N., Clark G.G. West Nile virus activity in Latin America and the Caribbean. *Rev. Panam. Salud Publica*. 2006; 19(2):112–7. DOI: 10.1590/s1020-49892006000200006.

19. Konovalova K.A. [Strategic partnerships of Russia and Latin American states under new geopolitical conditions]. *Mirovaya Politika [World Politics]*. 2023; (1):37–51. DOI: 10.25136/2409-8671.203.1.39954.

20. Yakovleva N.M. [Russia and Argentina on the way to a comprehensive strategic partnership]. *Latinskaya Amerika [Latin America]*. 2015; (9):31–43.

21. Further steps to implement the Action Plan of Strategic Partnership between the Russian Federation and the Federative Republic of Brazil (Moscow, December 14, 2012). (Cited 20 Apr 2024). [Internet]. Available from: <https://base.garant.ru/70299294/>.

22. Ministry of Foreign Affairs of the Russian Federation. Opening speech of S.V. Lavrov, the Minister of Foreign Affairs of the Russian Federation, during the meeting with R. Cabrisas, the Deputy Prime Minister of the Republic of Cuba, (Moscow, March 18, 2024) (Cited 21 Apr 2024). [Internet]. Available from: https://www.mid.ru/ru/press_service/video/posledniye_dobavlnenniye/1939428/.

23. Ministry of Foreign Affairs of the Russian Federation. On signing the Agreement between the Government of the Russian Federation and the Government of the Republic of Nicaragua on

cooperation in the field of international information security. (Cited 21 Apr 2024). [Internet]. Available from: https://www.mid.ru/ru/foreign_policy/international_safety/mezdunarodnaa-informacionnaa-bezopasnost/1767964/.

24. Embassy of the Russian Federation in the Republic of Peru. Russia – Peru: pages of history. (Cited 21 Apr 2024). [Internet]. Available from: <https://peru.mid.ru/ru/countries/bilateral-relations/history/>.

25. Ministry of Foreign Affairs of the Russian Federation. Protocol on Amendments to the Agreement between the Russian Federation and the Bolivarian Republic of Venezuela on Cooperation in the Implementation of Joint Strategic Projects Dated September 10, 2009. (Cited 20 Apr 2024). [Internet]. Available from: https://www.mid.ru/ru/foreign_policy/international_contracts/international_contracts/2_contract/57923/.

Authors:

Kutyrev V.V., Shcherbakova S.A., Ivanova A.V., Kuklev V.E., Kas'yan Zh.A., Karnaukhov I.G. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-122-131

УДК 616.932:579.25(571.6+571.1/.5)

Л.В. Миронова¹, И.С. Федотова¹, Ю.П. Галачьянц^{1,2}, А.С. Пономарева¹, С.В. Эрдынеев¹,
Ж.Ю. Хунхеева¹, Е.А. Басов¹, А.В. Фортунатова¹, С.В. Балахонов¹

Геномный анализ штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в Сибири и на Дальнем Востоке в период седьмой пандемии холеры: идентификация принадлежности к глобальным филогенетическим линиям

¹ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Иркутск, Российская Федерация; ²ФГБУН «Лимнологический институт» Сибирского отделения Российской академии наук, Иркутск, Российская Федерация

Цель исследования – определение филогенетического положения и особенностей организации геномов отдельных групп штаммов *Vibrio cholerae*, изолированных в Сибири и на Дальнем Востоке при разных эпидемиологических ситуациях в период седьмой пандемии холеры. **Материалы и методы.** В исследование включено 275 штаммов *V. cholerae*, изолированных при эпидемических осложнениях или в благополучный по холере период в Сибири и на Дальнем Востоке, с разными профилями по основным геномным локусам патогенности. Для филогенетического анализа использованы геномы 969 изолятов *V. cholerae* из GenBank. Реконструкция филогении осуществлена методом расчета дистанций между штаммами на основе встречаемости *k*-меров. Поиск, анализ и визуализация структуры локусов мобильных генетических элементов в геномах *V. cholerae* осуществлены программами blastn и Prokka, а также авторскими скриптами R и Python. **Результаты и обсуждение.** Выделенные на территории Сибири и Дальнего Востока штаммы холерного вибриона вошли в состав трех глобальных филогенетических линий – L2, L3, L4. Распределение штаммов на филогенетические линии согласуется с эпидемиологической ситуацией, при которой они были изолированы. Прослеживается распределение штаммов на группы с дифференциацией на глобальные волны распространения этиологического агента седьмой пандемии холеры и предварительным определением потенциальных направлений завоза возбудителя на территорию. Выявлено, что, наряду с токсигенными вибрионами Эль Тор, к филогенетической линии L2 относятся и спонтанные мутанты, утратившие гены холерного токсина при хранении и пассаже на питательных средах. Структурный анализ подтверждает различия их геномной организации со штаммами, не имеющими профага СТХ при первичном ПЦР-скрининге. Целесообразен двухэтапный алгоритм филогенетического анализа в рамках геномного мониторинга возбудителя холеры: первый этап – упрощенный подход на основе встречаемости *k*-меров для оперативного эпидемиологического анализа; второй этап – углубленный анализ геномов с применением комплекса филогенетических методов для реконструкции звеньев эпидемической цепи в пределах отдельных эпидосложнений, установления закономерностей происхождения и времени дивергенции клонов возбудителя.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, полногеномное секвенирование, филогенетические линии, структурный анализ.

Корреспондирующий автор: Миронова Лилия Валерьевна, e-mail: mironova-lv@yandex.ru.

Для цитирования: Миронова Л.В., Федотова И.С., Галачьянц Ю.П., Пономарева А.С., Эрдынеев С.В., Хунхеева Ж.Ю., Басов Е.А., Фортунатова А.В., Балахонов С.В. Геномный анализ штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в Сибири и на Дальнем Востоке в период седьмой пандемии холеры: идентификация принадлежности к глобальным филогенетическим линиям. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 2:122–131. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-122-131

Поступила 27.12.2023. Отправлена на доработку 23.01.2024. Принята к публ. 05.02.2024.

L.V. Mironova¹, I.S. Fedotova¹, Yu.P. Galach'yants^{1,2}, A.S. Ponomareva¹, S.V. Erdyneev¹,
Zh.Yu. Khunkheeva¹, E.A. Basov¹, A.V. Fortunatova¹, S.V. Balakhonov¹

Genomic Analysis of *Vibrio cholerae* Strains Isolated in Siberia and the Far East during the Seventh Cholera Pandemic: Determining the Appurtenance to Global Phylogenetic Lines

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

²Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. The aim was to determine the phylogenetic position and features of the genome organization of individual groups of *Vibrio cholerae* strains isolated in Siberia and the Far East under different epidemiological situations during the seventh cholera pandemic. **Materials and methods.** We examined 275 *V. cholerae* strains, isolated during epidemic complications and during the cholera-free period in Siberia and the Far East, with different profiles of the main genomic loci of pathogenicity. The genomes of 969 *V. cholerae* strains from GenBank were used for phylogenetic analysis. The phylogeny reconstruction was carried out through calculating the distances between strains based on the occurrence of *k*-mers. The search, analysis and visualization of the loci structure in mobile genetic elements in *V. cholerae* genomes were performed using the blastn and Prokka programs and the author's R and Python scripts. **Results and discussion.** Strains of *V. cholerae* isolated in Siberia and the Far East have been included in three global phylogenetic lines – L2, L3, L4. The distribution of strains from Siberia and the Far East along phylogenetic lines corresponds to the epidemiological situation in which they were isolated. We have identified the differentiation of strains by groups consistent with the global waves of spread of the etiological agent of the seventh cholera pandemic. We also traced potential paths for the import of the cholera pathogen into the territory of the Russian Federation. It has been revealed that spontaneous mutants

that lost cholera toxin genes during storage and cultivation on nutrient media belong to the L2 phylogenetic lineage as well as toxigenic El Tor vibrios. The structural analysis confirms the differences in their genome organization and strains that do not have a CTX prophage during primary PCR screening. We recommend a two-stage algorithm of phylogenetic analysis within the framework of genomic monitoring of cholera agent: the first stage is a simplified assessment based on the occurrence of *k*-mers for express epidemiological analysis; the second stage is an in-depth analysis of genomes using a complex of phylogenetic methods for the reconstruction of links in individual epidemic complications, to establish patterns of origin and time of divergence of the pathogen clones.

Key words: *Vibrio cholerae*, whole genome sequencing, phylogenetic lines, structural analysis.

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

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

Corresponding author: Lilia V. Mironova, e-mail: mironova-lv@yandex.ru.

Citation: Mironova L.V., Fedotova I.S., Galach'yants Yu.P., Ponomareva A.S., Erdynееv S.V., Khunkheeva Zh.Yu., Basov E.A., Fortunatova A.V., Balakhonov S.V. Genomic Analysis of *Vibrio cholerae* Strains Isolated in Siberia and the Far East during the Seventh Cholera Pandemic: Determining the Appurtenance to Global Phylogenetic Lines. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:122–131. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-122-131

Received 27.12.2023. Revised 23.01.2024. Accepted 05.02.2024.

Mironova L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8481-6442>
Fedotova I.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9890-0960>
Galach'yants Yu.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4764-6330>
Ponomareva A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0674-6159>
Erdynееv S.V., ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-7937-1382>

Khunkheeva Zh.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5388-4300>
Basov E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8358-2880>
Fortunatova A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1167-7864>
Balakhonov S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

В Сибирском и Дальневосточном регионах Российской Федерации холера в период седьмой пандемии была зарегистрирована в виде отдельных случаев завоза инфекции или обусловленных завозом острых вспышек с преимущественно водным путем передачи возбудителя. Так, случаи завоза инфекции имели место в 1970-х гг. (Якутск – 1970 г., Красноярск, Томск – 1973 г., Новокузнецк – 1975 г.) и в 1990-х гг. (Новосибирск, Омск, Барнаул – 1994 г., Иркутск, Ачинск – 1997 г., Владивосток, Уссурийск, Южно-Сахалинск – 1999 г.). Эпидемические осложнения в виде ассоциированных с завозом острых вспышек также пришлись на 1970-е и 1990-е гг.: Омск – 1972 г., Новосибирск и Барнаул – 1973 г., Южно-Сахалинск и Владивосток – 1999 г. [1–3].

Наряду с этим, в благополучный по холере период в поверхностных водоемах Сибири и Дальнего Востока начиная с 1970-х гг. обнаруживаются нетоксигенные *Vibrio cholerae* O1-серогруппы. В отдельных субъектах наблюдается практически ежегодное (Забайкальский край) или длительное (Приморский край, Иркутская область) выделение таких вариантов холерного вибриона. В 1970–1980-х гг. на территории были зарегистрированы спорадические случаи транзитного носительства нетоксигенных штаммов *V. cholerae* у лиц без клинических проявлений инфекции. В современный период (2011, 2013, 2016, 2019 гг.) имели место единичные случаи обнаружения в объектах окружающей среды (поверхностные водоемы в зоне рекреационного водопользования и в месте сброса сточных вод, сточные воды) нетоксигенных вибрионов O1-серогруппы, содержащих ген токсин-корректируемых пилей адгезии (генотип *ctxAB tcpA⁺*).

Следует сказать, что по основным таксономическим характеристикам: принадлежность к виду, биовару, серогруппе – холерный вибрион, являющийся этиологическим агентом холеры, и нетоксигенные вибрионы, обнаруживаемые в объектах окружающей

среды (ООС) на эндемичных по холере территориях в благополучный период или при обусловленной *V. cholerae* острой кишечной инфекции и транзитном вибрионосительстве, характеризуются сходством или идентичностью. Принципиальные отличия заключаются в наличии/отсутствии в геноме мобильных генетических элементов, несущих основные детерминанты патогенности. В 1990-х гг., когда впервые была установлена мобильная природа основных детерминирующих патогенность холерного вибриона локусов генома (профаг CTX с генами холерного токсина, остров патогенности VPI-I с генами токсин-корректируемых пилей адгезии), при отсутствии исчерпывающих данных о структуре геномов разных групп *V. cholerae* исследователями активно обсуждался вопрос о возможности трансформации непатогенных вариантов вибриона в патогенные эпидемически значимые посредством горизонтальной передачи мобильных генетических элементов (МГЭ) [4–6].

Вместе с тем изучение возбудителя холеры на геномном уровне обеспечило новые возможности по определению происхождения разных групп штаммов, оценке их филогенетических связей, закономерностей формирования и распространения патогенного клона возбудителя. Так, в 2011 г. A. Mutreja *et al.* [7] на основании анализа полных геномов холерного вибриона идентифицировали восемь филогенетических линий (L1 – L8): изоляты классического биовара сформировали значительно дистанцированную от других линию L1; варианты этиологического агента текущей пандемии холеры – *V. cholerae* El Tor объединились в линию L2 с тремя крупными группами в структуре линии, соответствующими глобальным волнам распространения инфекции; линии L3, L5, L6, L8 обнаружили сходство корового генома с L2 с присущими для каждой из них особенностями структурной организации и набора мобильных генетических элементов, определяющими патогенный

и эпидемический потенциал входящих в линии изолятов; L4 и L7 – самостоятельные линии на филогенетическом древе с характерной уникальностью геномной организации входящих в них штаммов. Позднее Н. Wang *et al.* [8] в результате изучения распространения нетоксигенных холерных вибрионов в Китае и мире в целом идентифицировали дополнительную филогенетическую линию L9, образованную изолятами *ctxAB-tcpA*⁺.

При анализе закономерностей распространения холерного вибриона в мире исследователями определены направления и время импорта штаммов линии L2 (клона седьмой пандемии) в Африку в период седьмой пандемии, а также пути продвижения возбудителя внутри континента с формированием сублиний [9, 10]. Показано, что эпидосложнения в Йемене обусловлены сублинией пандемического клона вибриона Эль Тор из Южной Азии с предварительным распространением этой сублинии в Восточной Африке [11]. В Китае, наряду с относящимися к L2 штаммами, выявлено распространение холерного вибриона филогенетических линий L3 и L9, представители которых обнаружены как при клинически выраженной форме инфекции и вибрионосительстве, так и в ООС [8, 12, 13].

Разнообразие генетических линий холерного вибриона, дифференцирующихся по значимым генотипическим характеристикам, определяет важность установления филогенетического положения изолятов в рамках геномного надзора за патогенами с эпидемическим и пандемическим потенциалом, к числу которых относится возбудитель холеры.

Цель исследования – определение филогенетического положения и особенностей организации геномов отдельных групп штаммов *V. cholerae*, изолированных в Сибири и на Дальнем Востоке при разных эпидемиологических ситуациях в период седьмой пандемии холеры.

Материалы и методы

Исследуемые штаммы. В исследование включено 275 охарактеризованных ранее по комплексу фенотипических свойств и эпидзначимости штаммов холерного вибриона из коллекции патогенных бактерий ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. Исследуемая группа включает 61 токсигенный штамм *V. cholerae* O1-серогруппы, выделенные от инфицированных лиц (больные и вибрионосители) и из объектов ООС при эпидемических осложнениях в Сибири и на Дальнем Востоке в 1970-х и 1990-х гг., 3 спонтанных мутанта (СМ) токсигенных штаммов *V. cholerae* O1-серогруппы (*V. cholerae* И-719, И-1488, И-1362), утратившие гены биосинтеза холерного токсина при хранении и пассаже на питательных средах (*ctxAB-tcpA*⁺/СМ). Из группы штаммов благополучного по холере периода в исследование включено 209, в том чис-

ле 205 – не содержащих гены холерного токсина и токсин-корегулируемых пилей адгезии, и 4 – с генотипом *ctxAB-tcpA*⁺ из ООС (*ctxAB-tcpA*⁺/ООС). Кроме того, исследовано 2 штамма *V. cholerae* классического биовара.

Референсные нуклеотидные последовательности геномов из международной базы данных GenBank. Для проведения филогенетического анализа и позиционирования штаммов из исследуемой группы (Сибирь, Дальний Восток) на глобальном филогенетическом древе в качестве референсного набора использованы геномы 969 изолятов холерного вибриона, принадлежащих к различным филогенетическим линиям L1 – L9, которые представлены в работе Н. Wang *et al.* [8].

Выделение суммарной ДНК. Для выделения тотальной ДНК использовались 18-часовые культуры исследуемых штаммов *V. cholerae*, выращенные на щелочном агаре для культивирования холерного вибриона. Экстракция осуществлялась на спин-колонках наборами реагентов DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) и HiPure Universal DNA Kit (Magen). Качество выделенной ДНК оценивалось методами сканирующей спектрофотометрии и флуориметрии.

Секвенирование геномов. Полногеномное секвенирование штаммов *V. cholerae*, изолированных в Сибири и на Дальнем Востоке, проводилось на высокопроизводительных секвенаторах 2-го и 3-го поколений: MiSeq (Illumina, США), DNBSEQ-G50RS (MGI, Китай) и MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Подготовка ДНК-библиотек и их секвенирование проводились в соответствии с актуальными версиями протоколов производителей с использованием наборов Illumina DNA Prep и MiSeq Reagent Kit v3 (600 cycle); MGIEasy FS DNA Library Prep Set и DNBSEQ-G50 High-throughput Sequencing Set (FCL, PE100); Ligation Sequencing Kit 1D (LSK-109), Native Barcoding Kit 1D 1-12/13-24 и SpotON Flow Cell (R.9.4).

Сборка геномов. Предобработка полученных данных секвенирования выполнялась путем выявления прочтений низкого качества и их фильтрации, выбор используемого программного обеспечения осуществлялся в зависимости от модели секвенатора: платформы MiSeq, DNBSEQ-G50RS – программы FastQC и Trimmomatic; платформа MinION – программы MinionQC.R и Guppy. Геномные сборки *de novo* получены инструментом SPAdes с выставлением строгих параметров, для исключения ошибок ассемблера применялась программа полировки контигов Pilon. Геномы штаммов *V. cholerae* 121-19, 200-16, И-719, И-1362, И-1471, И-1488, И-1501 для проведения структурного анализа ассоциированных с патогенностью локусов собирались до уровня хромосом с помощью инструмента Ragout (reference-assisted genome ordering utility) [14, 15]. Сборка хромосом осуществлялась по референсному геному *V. cholerae* N16961 (NCBI assembly GCF_000006745.1).

Анализ результатов секвенирования и реконструкция филогении. Для позиционирования анализируемых штаммов среди разнообразия филогенетических линий *V. cholerae* использовали метод, основанный на расчете дистанций между штаммами на основе встречаемости k -меров в геномных последовательностях с помощью программы PopPUNK [16]. Референсную базу данных k -меров индексировали с шагом длины k -меров, равным двум, и размером словаря 100000 (параметры `--k-step 2` и `--sketch-size 100000`). При классификации штаммов минимальная встречаемость k -меров составляла 20 (параметр `--min-kmer-count 20`).

Для филогеномного анализа полногеномное выравнивание референсной геномной последовательности и набора NGS-данных анализируемых штаммов проводили с помощью программы snippy [17]. Идентификацию фрагментов полногеномного выравнивания, имеющих повышенную плотность нуклеотидных замен в какой-либо из филогенетических линий, производили с помощью программы gubbins [18]. Поскольку области генома, картированные gubbins, нельзя рассматривать как ортологичные геномные локусы, их исключали из дальнейшего анализа. Молекулярно-филогенетический анализ полученного SNP-выравнивания проводили с помощью программы iqtree [19] с использованием модели замен K3P+ASC – трехпараметрической модели Кимура-81 [20] с коррекцией ошибок, вызванных смещением частот нуклеотидов при анализе SNP-выравнивания [21].

Поиск и анализ структуры локусов МГЭ в геномах *V. cholerae* осуществляли в сравнении с геномом референсного штамма *V. cholerae* N16961 (NC_002505.1) с помощью программы blastn [22]. Результаты обрабатывались авторским скриптом на языке программирования R для получения консенсусных последовательностей локусов RS1, CTXφ, TLC, VSP-I и VSP-II. Для дальнейшей визуализации консенсусные последовательности сравниваемых штаммов холерного вибриона аннотировали с помощью программы Prokka с параметрами по умолчанию [23]. Визуализация анализируемых локусов осуществлялась скриптом на языке Python с применением библиотеки pyGenomeViz [24].

Результаты и обсуждение

Учитывая тот факт, что все зарегистрированные на территории Сибири и Дальнего Востока случаи холеры имеют завозное происхождение (завозные очаги, ассоциированные с завозом острые вспышки), а для периода эпидблагополучия характерно обнаружение в водоемах нетоксигенных вариантов *V. cholerae*, крайне важно при выделении штамма от больного/вибриононосителя установить вероятные пути его завоза и распространения или определить типичность/нетипичность для данной территории генотипов штаммов, изолированных из поверхност-

ных водоемов. В данном аспекте решающее значение приобретает системный геномный надзор за возбудителем с ретроспективным и оперативным анализом распространения отдельных генотипов *V. cholerae* и формированием баз данных геномов в территориальном и глобальном масштабах.

Для установления принадлежности изолированных в Сибири и на Дальнем Востоке в период седьмой пандемии штаммов холерного вибриона к глобальной филогенетической линии на первом этапе работы проводился скрининговый анализ геномов с использованием подхода, основанного на анализе встречаемости k -меров в исследуемых геномах, обозначенный как «скрининговая филогения». В филогенетическую реконструкцию включены геномы 275 штаммов, выделенных на территории Сибири и Дальнего Востока, и 969 геномов штаммов, изолированных на разных территориях в мире и отражающих разнообразие генетических вариантов холерного вибриона.

В результате на дендрограмме, рассчитанной с помощью встречаемости k -меров в полногеномных данных, все штаммы выборки распределились на глобальные филогенетические линии L1 – L9. Сибирские и дальневосточные изоляты вошли в состав трех линий – L2, L3, L4 (рис. 1). Необходимо отметить, что распределение на филогенетические линии штаммов из Сибири и Дальнего Востока согласуется с эпидемиологической ситуацией, при которой они были изолированы.

Так, в состав линии L2 вошли токсигенные эпидемически опасные штаммы холерного вибриона (геномный профиль по основным генам патогенности *ctxAB⁺tcpA⁺*), выделенные при эпидемических осложнениях по холере, зарегистрированных в 1970-х и 1990-х гг. в Сибирском и Дальневосточном регионах ($n=61$). При этом на дендрограмме прослеживается распределение на группы с дифференциацией на глобальные волны распространения этиологического агента седьмой пандемии холеры и предварительным определением потенциальных направлений завоза возбудителя на территорию. Вместе с тем более детальный анализ закономерностей кластеризации штаммов в структуре данной линии при отдельных эпидемических осложнениях обеспечивается проведением дополнительного изучения взаимосвязей штаммов с применением методов углубленного филогенетического анализа (метод максимального правдоподобия, датированная филогения и др.) целевых групп штаммов.

Наряду с токсигенными вибрионами Эль Тор, к филогенетической линии L2 отнесены и спонтанные мутанты выделенных при эпидемических осложнениях токсигенных штаммов, утратившие гены холерного токсина при хранении и пассаже на питательных средах (генотип *ctxAB tcpA⁺*) (рис. 2).

Нетоксигенные штаммы холерного вибриона из поверхностных водоемов при отсутствии зарегистрированных случаев холеры на территории

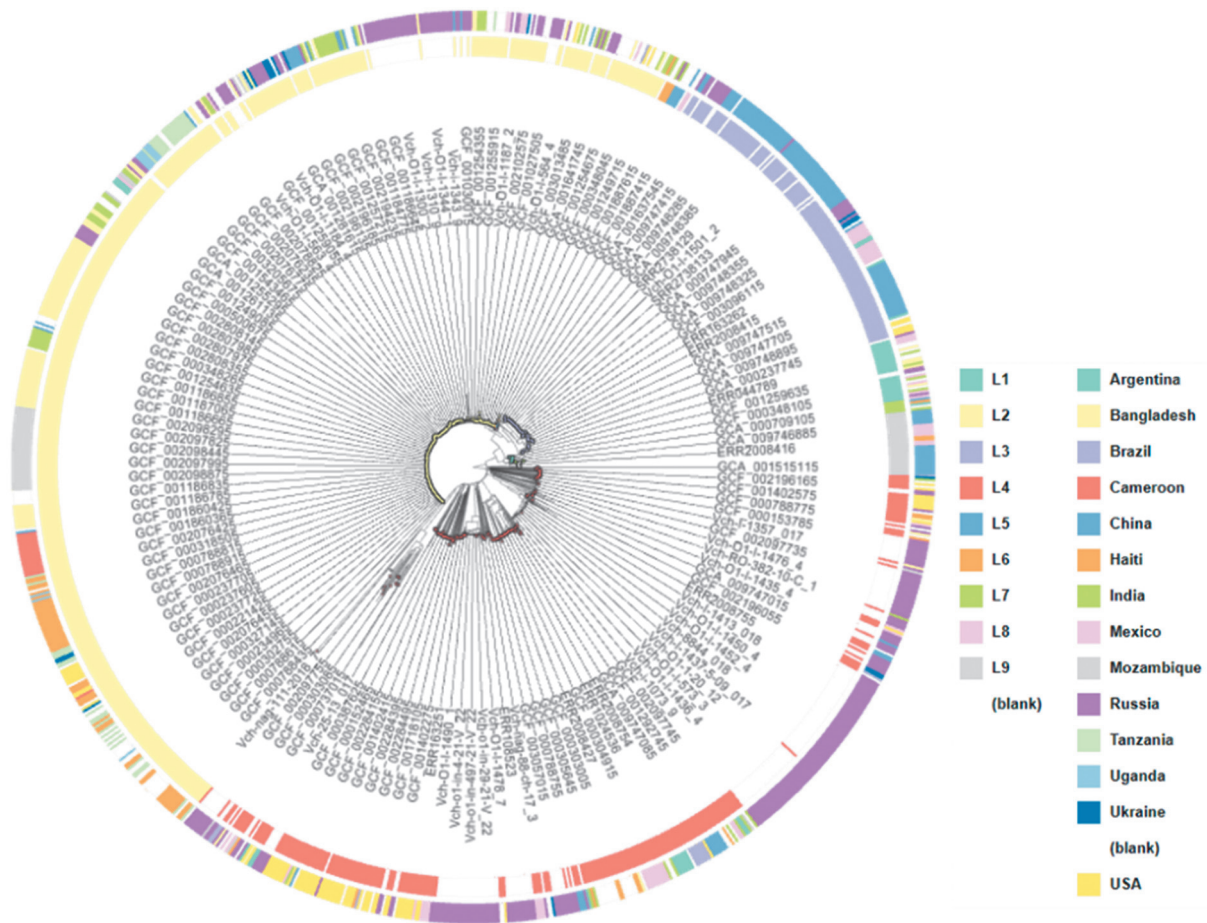


Рис. 1. Дендрограмма, реконструированная на основе встречаемости *k*-меров в геномных последовательностях *V. cholerae*

Fig. 1. Tree diagram reconstructed on the basis of occurrence of *k*-mers in *V. cholerae* genomic sequences

демонстрируют принадлежность к двум филогенетическим линиям – L3 и L4. В состав линии L3 вошли четыре штамма холерного вибриона с генотипом *ctxAB⁻tcpA⁺*, выделенные в Хабаровском крае в 2013, 2016, 2019 гг. из проб воды р. Черной в месте сброса сточных вод и непосредственно из проб сточных вод, а также в 2011 г. в Алтайском крае из воды р. Барнаулки (в зоне неорганизованного рекреационного водопользования). Ранее нами была показана принадлежность этих штаммов к US Gulf-подобной филогенетической линии и установлено сходство генетической организации с изолятами подобного генотипа из Китая [25]. На полученной по результатам скрининговой филогении дендрограмме также прослеживается объединение китайских и российских изолятов в сублинию L3b в составе линии L3. Вместе с тем уточнение направлений распространения и времени дивергенции отдельных клонов требует проведения дальнейшего анализа с применением байесовского метода и датированной филогении.

Следует отметить, что возможность распределения вариантов *ctxAB⁻tcpA⁺* *V. cholerae* (спонтанные мутанты токсигенных штаммов – *ctxAB⁻tcpA⁺/CM* и штаммы с исходным генотипом *ctxAB⁻tcpA⁺* из OOC – *ctxAB⁻tcpA⁺/OOC*) на различные филогенетические линии – крайне значимый результат скрининговой филогении, поскольку при первичной оценке

эпидемической значимости по результатам ПЦР данные штаммы будут отнесены к одной группе. При этом объем и тактика профилактических (противоэпидемических) мероприятий в случае обнаружения штаммов этих групп должны быть различными, учитывая различия в их происхождении и, вероятно, патогенном, эпидемическом и трансформационном потенциале.

Дальнейший структурный анализ геномов *ctxAB⁻tcpA⁺/CM* (линия L2) и *ctxAB⁻tcpA⁺/OOC* (линия L3) штаммов подтверждает различия их геномной организации. Установлено, что у обеих групп штаммов отсутствует блок генов, детерминирующих биосинтез холерного токсина (рис. 3).

Однако в случае с группой *ctxAB⁻tcpA⁺/CM* наблюдается вариабельность структуры генома в отношении профага CTX – установлена утрата всех коровых генов профага при сохранении RS2-элемента (И-719, И-1362) или его полная элиминация (И-1488), тогда как у всех исследованных *ctxAB⁻tcpA⁺/OOC* профаг CTX отсутствует. Что касается других ассоциированных с патогенностью областей генома, то у двух взятых в исследование *ctxAB⁻tcpA⁺/CM* штаммов установлено присутствие области RS1 и токсин-связанного криптического элемента TLC. Один из спонтанных мутантов – И-1488 (производное штамма И-1185, выделенного от больного холерой в заносном

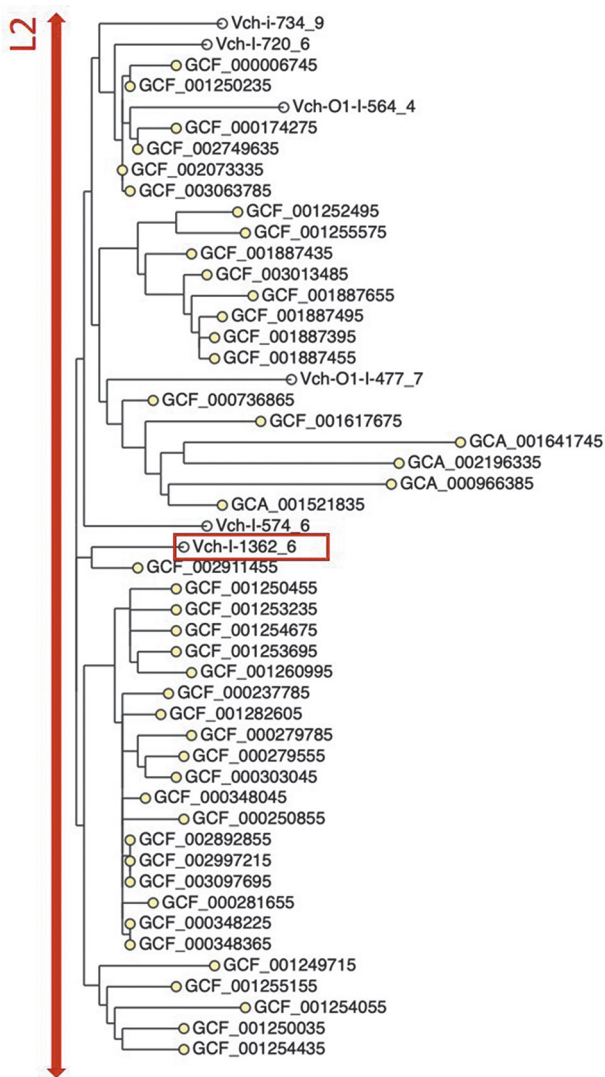


Рис. 2. Фрагмент реконструированной на основе встречаемости *k*-меров в геномных последовательностях *V. cholerae* дендрограммы, включающий штаммы линии L2 и спонтанный мутант токсигенного штамма холерного вибриона И-1362 (выделен рамкой)

Fig. 2. The fragment of a tree diagram reconstructed on the basis of the occurrence of *k*-mers in the genomic sequences of *V. cholerae*, including strains of the L2 line and a spontaneous mutant of the toxigenic *V. cholerae* strain I-1362 (highlighted by a frame)

очаге в Омске, 1994 г.), утративший полную последовательность профага CTX, оказался лишен и других ассоциированных с патогенностью мобильных генетических элементов – RS1, TLC при сохранении островов пандемичности VSP-I и VSP-II. Тем не менее по результатам скрининговой филогении он отнесен к линии эпидемически опасных вариантов вибриона Эль Тор (линия L2), что подтверждает информативность данного подхода к анализу для оперативного определения происхождения штаммов *V. cholerae*, в том числе штаммов с особенностями организации основных геномных кластеров патогенности.

В геноме всех *ctxAB tcpA*⁺/OOC обнаружен генетический элемент TLC (рис. 3), у части штаммов присутствует один из островов пандемичности – VSP-I. Роль указанных элементов в геномной организации и формировании функциональных особенностей

данной группы штаммов – предмет дальнейших исследований по изучению геномных особенностей, закономерностей происхождения и распространения, а также эпидемической и клинической значимости *ctxAB tcpA*⁺/OOC *V. cholerae*.

К линии L4 при скрининговой филогении отнесены *V. cholerae* серогрупп O1, O139 и неO1/O139, лишенные как генов холерного токсина, так и токсин-корегулируемых пилей (генотип *ctxAB tcpA*⁻). Штаммы холерного вибриона с указанным генотипом выделены преимущественно из поверхностных водоемов в благополучный по холере период. Исключение составляет один нетоксигенный штамм от вибриононосителя (И-1299), прибывшего авиарейсом в Южно-Сахалинск из Китая в 1999 г. и обследованного в связи с предшествующим осложнением эпидобстановки по холере на Дальнем Востоке (зарегистрированные случаи завоза инфекции в Усурийск и Владивосток из Китая). Указанный штамм на дендрограмме, реконструированной по результатам анализа *k*-меров, входит в один кластер с клиническими изолятами *V. cholerae* из Китая (2000, 2001, 2009 гг.) (рис. 4, а). При дополнительном филогенетическом анализе целевой группы штаммов, включающей данный изолят и наиболее близкие к нему кластеры, топология дендрограммы не изменилась, прослеживаются те же закономерности кластеризации (рис. 4, б).

В составе L4 идентифицированы отдельные клональные группы штаммов, объединенные территорией и временем выделения. В частности, в самостоятельную группу вошли выделенные в 2021 г. из воды р. Седанки в Приморском крае штаммы *V. cholerae* O1-серогруппы (рис. 5, а, б).

Несмотря на продолжительность обнаружения (в течение двух недель), практически все штаммы характеризовались идентичным MLVA-профилем (данные не представлены) и принадлежностью к одному не идентифицированному ранее на территории кластеру по данным анализа геномов, что дает основание предполагать заносное происхождение этого клона. Отдельные кластеры генотипов также образованы штаммами 2011 и 2017 гг. выделения из поверхностных водоемов Иркутска. Выявленные закономерности группировки штаммов при скрининговой филогении сохраняются и при анализе целевых групп с использованием алгоритма ML (рис. 5, б).

Наряду с клональными группами, образованными изолятами одного года выделения, идентифицированы кластеры, объединяющие изоляты с одной территории в динамике на протяжении ряда лет, подтверждая возможность закрепления клонов в определенных участках водоемов и формирование там локальных популяций холерного вибриона. Однако выявлены случаи формирования кластеров со сходной геномной организацией штаммами холерного вибриона, выделенными на различных территориях. Дальнейшее изучение филогеографических аспектов и динамики популяций нетоксигенных *V. cholerae*

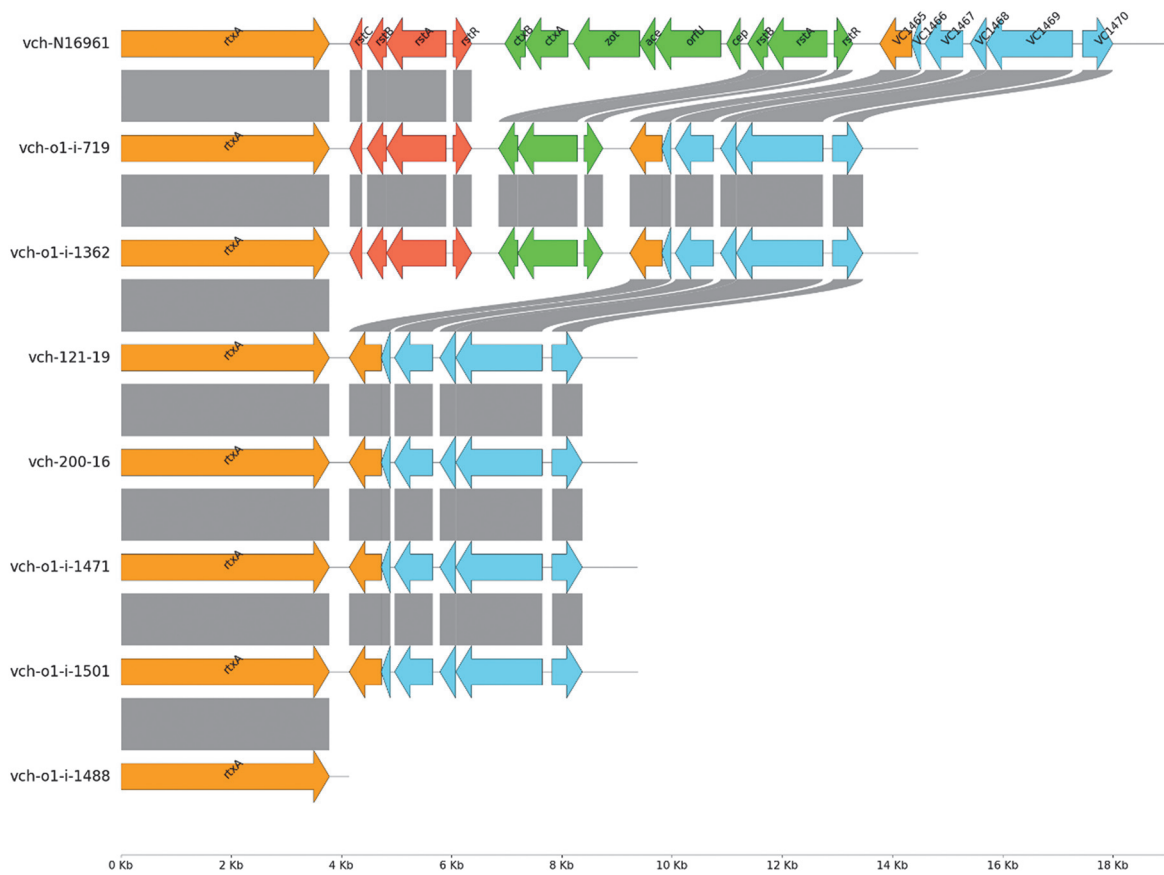


Рис. 3. Структура ассоциированных с патогенностью локусов генома исследованных штаммов *V. cholerae*: красный – RS1; зеленый – CTX; голубой – TLC

Fig. 3. The structure of the genomic loci associated with pathogenicity in the studied *V. cholerae* strains: red – RS1; green – CTX; blue – TLC

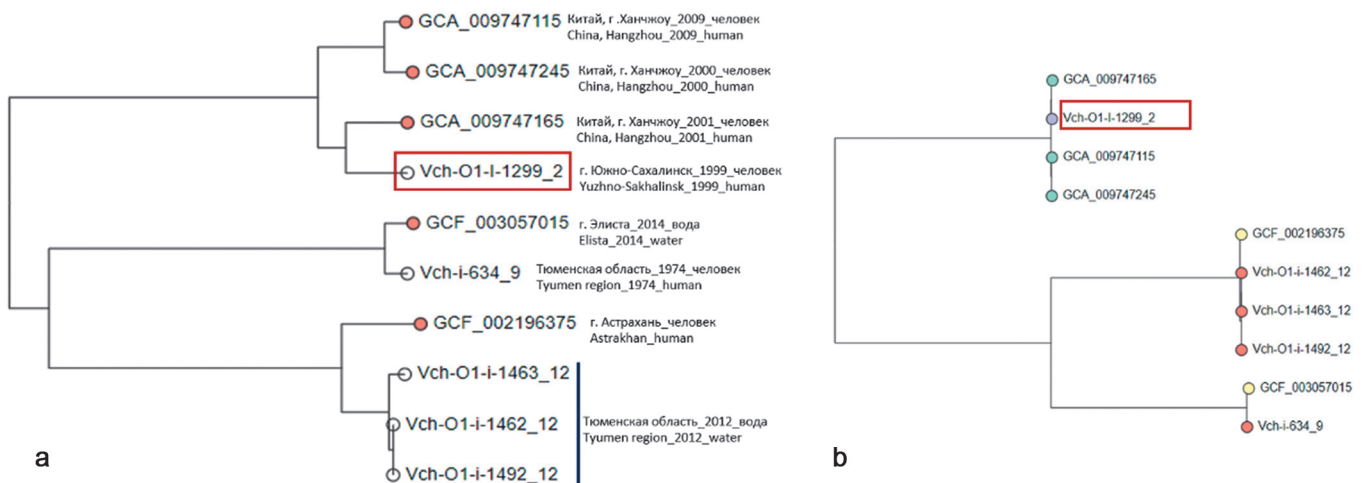


Рис. 4. Фрагменты дендрограмм, реконструированных на основе встречаемости *k*-меров в геномах (а) и с использованием филогеномного подхода (b), включающие штамм, выделенный от вибрионосителя в г. Южно-Сахалинске в 1999 г. (выделен рамкой)

Fig. 4. Fragments of dendrograms reconstructed on the basis of occurrence of *k*-mers in the genomes (a) and using a phylogenomic approach (b), including a strain isolated from a vibrio carrier in Yuzhno-Sakhalinsk in 1999 (highlighted by a frame)

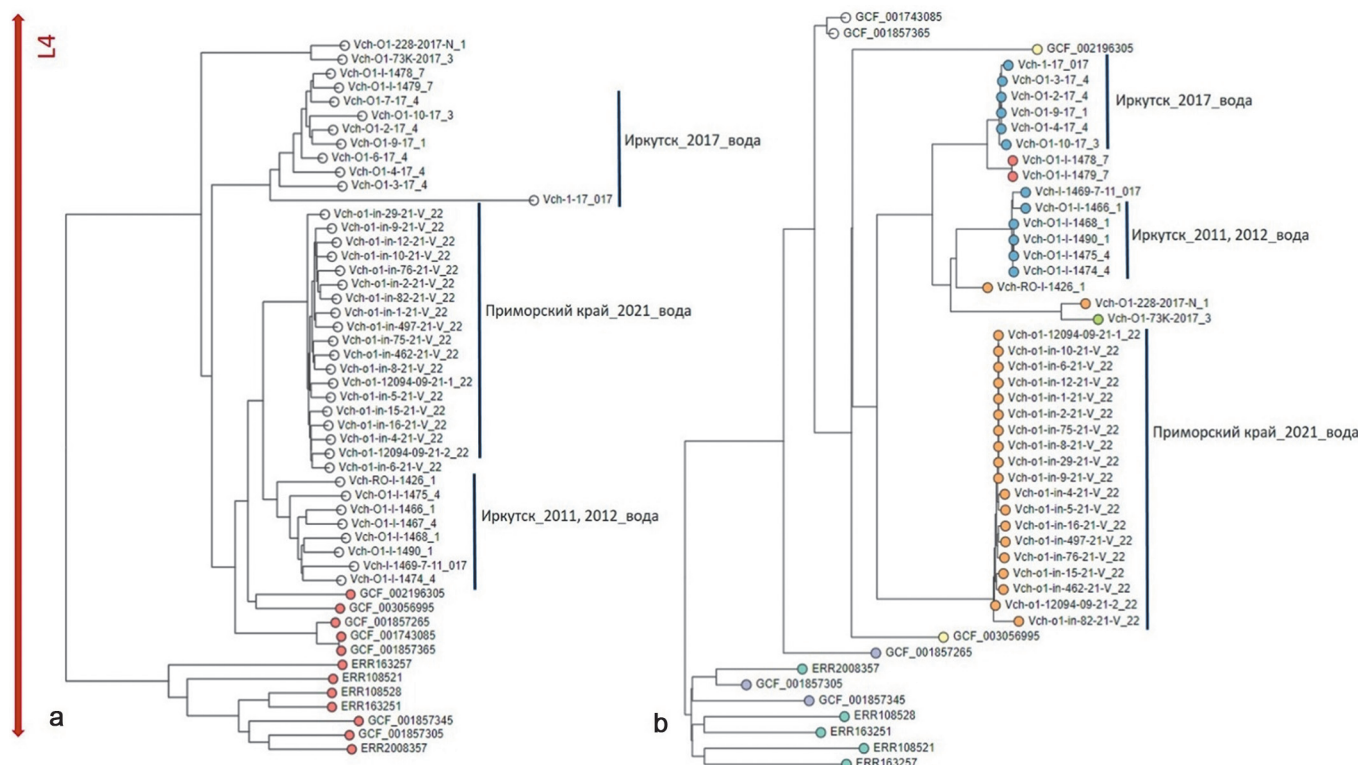


Рис. 5. Фрагменты дендрограмм, реконструированных на основе встречаемости *k*-меров в геномах (а) и с использованием филогеномного подхода (б), включающие клональные группы штаммов *V. cholerae*

Fig. 5. Fragments of dendrograms reconstructed on the basis of occurrence of *k*-mers in the genomes (a) and using a phylogenomic approach (b), including clonal groups of *V. cholerae* strains

в ООС позволит подойти к пониманию причин подобной кластеризации и выяснению молекулярных механизмов адаптации и геномной трансформации вибрионов в природных экологических нишах.

В целом в результате проведенного исследования определено филогенетическое положение разных групп штаммов холерного вибриона, выделенных в Сибири и на Дальнем Востоке в период седьмой пандемии, в глобальной популяции возбудителя и сформирована база геномов разных филогенетических групп. Обращает на себя внимание подтвержденная характерная для холерного вибриона значительная внутривидовая геномная дивергенция. По данным А. Mutreja *et al.* [7], различия в коровом геноме между филогенетической линией L2 и линией L4, образованной непатогенными вариантами холерного вибриона серогрупп O1 и неO1/O139, составляет более 55 тыс. однонуклеотидных замен, что свидетельствует об их существенной дистанцированности. Учитывая значимую удаленность указанных линий на филогенетическом древе и различия в структуре их корового генома, трансформация *ctxAB-tcpA* *V. cholerae* линии L4 в варианты линии L2 представляется маловероятной. Однако нельзя исключить другие варианты внутривидовых трансформационных событий, которые могут привести к изменению патогенного потенциала микроорганизма при наличии внешних доноров генетических элементов в оптимальных для обмена генетической информацией экологических нишах.

В то же время нетоксигенные *V. cholerae* с генотипом *ctxAB-tcpA*⁺ из ООС, отнесенные к линии L3, демонстрируют большее сходство геномной организации с L2. Исследователями было показано, что относящиеся к этой группе холерные вибрионы дивергировали в самостоятельную линию на одном из этапов эволюции патогенного клона седьмой пандемии [26]. Учитывая данные об обнаружении среди представителей данной линии, а также сходной с ней линии L9 изолятов с генами холерного токсина, не исключена их эпидемическая и клиническая значимость, соответственно, принадлежность к указанным линиям должна учитываться при определении тактики и объема мероприятий в случае выделения штамма в рамках микробиологического мониторинга холеры.

Что касается рекомендуемых подходов к филогенетическому исследованию геномов *V. cholerae*, то, учитывая проблемные вопросы анализа гетерогенных групп холерного вибриона, различия в нуклеотидной последовательности которых могут быть существенными, и необходимость одновременной обработки больших объемов данных для достоверного определения генотипа штамма, наиболее эффективным представляется двухэтапный алгоритм анализа в рамках геномного мониторинга возбудителя холеры. На первом этапе целесообразен скрининговый анализ с помощью определения встречаемости *k*-меров, позволяющий одновременно характеризовать большие объемы данных. Этот этап обеспечи-

вает возможность оперативного определения принадлежности выделенного штамма к той или иной филогенетической линии и установление общих закономерностей кластеризации внутри отдельных линий. Полученные на этом этапе данные могут применяться в рамках оперативного эпидемиологического анализа для установления направления завоза возбудителя на территорию, дифференциации сходных по профилю генов патогенности, но отличающихся по коровому геному и происхождению вариантов холерного вибриона. С их учетом может быть скорректирована тактика первичных противоэпидемических мероприятий при выделении *V. cholerae*. Филогеномный анализ на основе SNP-выравнивания (в том числе анализ дискретных признаков, датированная филогения) на втором этапе представляется более эффективным и информативным в отношении определенных целевых групп штаммов и может быть использован для реконструкции звеньев эпидемической цепи в пределах отдельных эпидемических очагов, установления закономерностей происхождения и времени дивергенции клонов возбудителя, а также характеристики мобилома, в том числе патогенома, и резистома возбудителя.

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., Марамонович А.С., Голубинский Е.П., Маслов Д.В., Вершкова Т.И., Урбанович Л.Я., Алленов А.В., Мурначев Г.П., Гарковенко Л.Е., Воронок В.М. Холера на Дальнем Востоке России. Сообщение 1. Эпидемиологическая характеристика вспышки холеры эльтор в г. Владивосток. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2000; 5:26–31.
2. Онищенко Г.Г., Марамонович А.С., Голубинский Е.П., Папиренко Е.В., Ганин В.С., Бурый В.Л., Морозова И.В., Мартынова Т.М. Холера на Дальнем Востоке России. Сообщение 2. Эпидемиологическая характеристика вспышки холеры эльтор в г. Южно-Сахалинск. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2000; 5:31–35.
3. Марамонович А.С., Пинигин А.Ф. Современные эпидемиологические аспекты холеры Эль Тор. *Журнал инфекционной патологии*. 1994; 1:6–11.
4. Faruque S.M., Asadulghani, Rahman M.M., Waldor M.K., Sack D.A. Sunlight-induced propagation of the lysogenic phage encoding cholera toxin. *Infect. Immun.* 2000; 68(8):4795–801. DOI: 10.1128/IAI.68.8.4795-4801.2000.
5. Faruque S.M., Mekalanos J.J. Phage-bacterial interactions in the evolution of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Virulence*. 2012; 3(7):556–65. DOI: 10.4161/viru.22351.
6. Karaolis D.K., Somara S., Maneval D.R. Jr, Johnson J.A., Kaper J.B. A bacteriophage encoding a pathogenicity island, a type-IV pilus and a phage receptor in cholera bacteria. *Nature*. 1999; 399(6734):375–9. DOI: 10.1038/20715.
7. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Levens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477(7365):462–5. DOI: 10.1038/nature10392.
8. Wang H., Yang C., Sun Z., Zheng W., Zhang W., Yu H., Wu Y., Didelot X., Yang R., Pan J., Cui Y. Genomic epidemiology of *Vibrio cholerae* reveals the regional and global spread of two epidemic non-toxicogenic lineages. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2020; 14(2):e0008046. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008046.
9. Breurec S., Franck T., Njamkepo E., Mbecko J.R., Rauzier J., Sanke-Waigana H., Kamwiziku G., Piarroux R., Quilici M.L., Weill F.X. Seventh pandemic *Vibrio cholerae* O1 sublineages, Central African Republic. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(1):262–6. DOI: 10.3201/eid2701.200375.
10. Smith A.M., Sekwadi P., Erasmus L.K., Lee C.C., Stroika S.G., Ndzabandzaba S., Alex V., Nel J., Njamkepo E., Thomas J., Weill F.-X. Imported cholera cases, South Africa, 2023. *Emerg. Infect. Dis.* 2023; 29(8):1687–90. DOI: 10.3201/eid2908.230750.
11. Weill F.-X., Domman D., Njamkepo E., Almesbahi A.A., Naji M., Nasher S.S., Rakesh A., Assiri A.M., Sharma N.C., Kariuki S., Pourshafie M.R., Rauzier J., Abubakar A., Carter J.Y., Wamala J.F., Seguin C., Bouchier C., Malliavin T., Bakhshi B., Abulmaali H.H.N., Kumar D., Njoroge S.M., Malik M.R., Kiiru J., Luquero F.J., Azman A.S., Ramamurthy T., Thomson N.R., Quilici M.-L. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature*. 2019; 565(7738):230–3. DOI: 10.1038/s41586-018-0818-3.
12. Hao T., Zheng W., Wu Y., Yu H., Qian X., Yang C., Zheng Z., Zhang X., Guo Y., Cui M., Wang H., Pan J., Cui Y. Population genomics implies potential public health risk of two non-toxicogenic *Vibrio cholerae* lineages. *Infect. Genet. Evol.* 2023; 112:105441. DOI: 10.1016/j.meegid.2023.105441.
13. Yan H., Pang B., Lu X., Gao Z., Lu P., Zhang X., Wang M., Shen L.S., Zhao W., Zhao J., Liang W., Jia L., Zhou H., Cui Z., Du X., Kan B., Wang Q. Cholera caused by a new clone of serogroup O1 *Vibrio cholerae* – Beijing Municipality, China, June 2021. *China CDC Wkly.* 2022; 4(2):31–2. DOI: 10.46234/ccdcw2021.279.
14. Kolmogorov M., Armstrong J., Raney B.J., Streeter I., Dunn M., Yang F., Odom D., Flicek P., Keane T.M., Thybert D., Paten B., Pham S. Chromosome assembly of large and complex genomes using multiple references. *Genome Res.* 2018; 28(11):1720–32. DOI: 10.1101/gr.236273.118.
15. Kolmogorov M., Raney B., Paten B., Pham S. Ragout – a reference-assisted assembly tool for bacterial genomes. *Bioinformatics*. 2014; 30(12):i302–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu280.
16. Lees J.A., Harris S.R., Tonkin-Hill G., Gladstone R.A., Lo S.W., Weiser J.N., Corander J., Bentley S.D., Croucher N.J. Fast and flexible bacterial genomic epidemiology with PopUNK. *Genome Res.* 2019; 29(2):304–16. DOI: 10.1101/gr.241455.118.
17. GitHub – tseemann/snippy: :scissors: Rapid haploid variant calling and core genome alignment. [Электронный ресурс]. URL: <https://github.com/tseemann/snippy> (дата обращения 15.08.2023).
18. Croucher N.J., Page A.J., Connor T.R., Delaney A.J., Keane J.A., Bentley S.D., Parkhill J., Harris S.R. Rapid phylogenetic analysis of large samples of recombinant bacterial whole genome sequences using Gubbins. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43(3):e15. DOI: 10.1093/nar/gku1196.
19. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 2015; 32(1):268–74. DOI: 10.1093/molbev/msu300.
20. Kimura M. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1981; 78(1):454–8. DOI: 10.1073/pnas.78.1.454.
21. Lewis P.O. A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Syst. Biol.* 2001; 50(6):913–25. DOI: 10.1080/106351501753462876.
22. Camacho C., Coulouris G., Avagyan V., Ma N., Papadopoulos J., Bealer K., Madden T.L. BLAST+: Architecture and applications. *BMC Bioinformatics*. 2009; 10:421. DOI: 10.1186/1471-2105-10-421.
23. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 2014; 30(14):2068–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu153.
24. pyGenomeViz: A genome visualization python package for comparative genomics. [Электронный ресурс]. URL: <https://github.com/moshi4/pyGenomeViz> (дата обращения 07.08.2023).
25. Миронова Л.В., Бочалгин Н.О., Гладких А.С., Феранчук С.И., Пономарева А.С., Балахонов С.В. Филогенетическое положение и особенности структуры геномов *ctxAB-tcpA+ Vibrio cholerae* из поверхностных водоемов на эндемичной по холере территории. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 1:115–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-115-123.
26. Hu D., Liu B., Feng L., Ding P., Guo X., Wang M., Cao B., Reeves P.R., Wang L. Origins of the current seventh cholera pandemic. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2016; 113(48):E7730–E7739. DOI: 10.1073/pnas.1608732113.

References

1. Onishchenko G.G., Maramovich A.S., Golubinsky E.P., Maslov D.V., Vershкова T.I., Urbanovich L.Ya., Allenov A.V., Murmachev G.P., Garkovenko L.E., Voronok V.M. [Cholera in the Russian Far East. Communication 1. Epidemiological characteristics of the El Tor cholera outbreak in Vladivostok]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2000; (5):26–31.
2. Onishchenko G.G., Maramovich A.S., Golubinsky E.P., Papirenko E.V., Ganin V.S., Bury V.L., Morozova I.V., Martynova T.M.

- [Cholera in the Russian Far East. Communication 2. Epidemiological characteristics of the El Tor cholera outbreak in Yuzhno-Sakhalinsk]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2000; (5):31–5.
3. Maramovich A.S., Pinigin A.F. [Modern epidemiological aspects of cholera El Tor]. *Zhurnal Infektsionnoj Patologii [Journal of Infectious Pathology]*. 1994; (1):6–11.
4. Faruque S.M., Asadulghani, Rahman M.M., Waldor M.K., Sack D.A. Sunlight-induced propagation of the lysogenic phage encoding cholera toxin. *Infect. Immun.* 2000; 68(8):4795–801. DOI: 10.1128/IAI.68.8.4795-4801.2000.
5. Faruque S.M., Mekalanos J.J. Phage-bacterial interactions in the evolution of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Virulence*. 2012; 3(7):556–65. DOI: 10.4161/viru.22351.
6. Karaolis D.K., Somara S., Maneval D.R. Jr, Johnson J.A., Kaper J.B. A bacteriophage encoding a pathogenicity island, a type-IV pilus and a phage receptor in cholera bacteria. *Nature*. 1999; 399(6734):375–9. DOI: 10.1038/20715.
7. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477(7365):462–5. DOI: 10.1038/nature10392.
8. Wang H., Yang C., Sun Z., Zheng W., Zhang W., Yu H., Wu Y., Didelot X., Yang R., Pan J., Cui Y. Genomic epidemiology of *Vibrio cholerae* reveals the regional and global spread of two epidemic non-toxigenic lineages. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2020; 14(2):e0008046. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008046.
9. Breurec S., Franck T., Njamkepo E., Mbecko J.R., Rauzier J., Sanke-Waigana H., Kamwiziku G., Piarroux R., Quilici M.L., Weill F.X. Seventh pandemic *Vibrio cholerae* O1 sublineages, Central African Republic. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(1):262–6. DOI: 10.3201/eid2701.200375.
10. Smith A.M., Sekwadi P., Erasmus L.K., Lee C.C., Stroika S.G., Ndzabandzaba S., Alex V., Nel J., Njamkepo E., Thomas J., Weill F.-X. Imported cholera cases, South Africa, 2023. *Emerg. Infect. Dis.* 2023; 29(8):1687–90. DOI: 10.3201/eid2908.230750.
11. Weill F.-X., Domman D., Njamkepo E., Almesbahi A.A., Naji M., Nasher S.S., Rakesh A., Assiri A.M., Sharma N.C., Kariuki S., Pourshafie M.R., Rauzier J., Abubakar A., Carter J.Y., Wamala J.F., Seguin C., Bouchier C., Malliavin T., Bakhshi B., Abulmaali H.H.N., Kumar D., Njoroge S.M., Malik M.R., Kiiru J., Luquero F.J., Azman A.S., Ramamurthy T., Thomson N.R., Quilici M.-L. Genomic insights into the 2016–2017 cholera epidemic in Yemen. *Nature*. 2019; 565(7738):230–3. DOI: 10.1038/s41586-018-0818-3.
12. Hao T., Zheng W., Wu Y., Yu H., Qian X., Yang C., Zheng Z., Zhang X., Guo Y., Cui M., Wang H., Pan J., Cui Y. Population genomics implies potential public health risk of two non-toxigenic *Vibrio cholerae* lineages. *Infect. Genet. Evol.* 2023; 112:105441. DOI: 10.1016/j.meegid.2023.105441.
13. Yan H., Pang B., Lu X., Gao Z., Lu P., Zhang X., Wang M., Shen L., Zhao W., Zhao J., Liang W., Jia L., Zhou H., Cui Z., Du X., Kan B., Wang Q. Cholera caused by a new clone of serogroup O1 *Vibrio cholerae* – Beijing Municipality, China, June 2021. *China CDC Wkly.* 2022; 4(2):31–2. DOI: 10.46234/ccdcw2021.279.
14. Kolmogorov M., Armstrong J., Raney B.J., Streeter I., Dunn M., Yang F., Odum D., Flicek P., Keane T.M., Thybert D., Paten B., Pham S. Chromosome assembly of large and complex genomes using multiple references. *Genome Res.* 2018; 28(11):1720–32. DOI: 10.1101/gr.236273.118.
15. Kolmogorov M., Raney B., Paten B., Pham S. Ragout – a reference-assisted assembly tool for bacterial genomes. *Bioinformatics*. 2014; 30(12):i302–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu280.
16. Lees J.A., Harris S.R., Tonkin-Hill G., Gladstone R.A., Lo S.W., Weiser J.N., Corander J., Bentley S.D., Croucher N.J. Fast and flexible bacterial genomic epidemiology with PopPUNK. *Genome Res.* 2019; 29(2):304–16. DOI: 10.1101/gr.241455.118.
17. GitHub – tseemann/snippy: :scissors: Rapid haploid variant calling and core genome alignment. [Электронный ресурс]. URL: <https://github.com/tseemann/snippy> (дата обращения 15.08.2023).
18. Croucher N.J., Page A.J., Connor T.R., Delaney A.J., Keane J.A., Bentley S.D., Parkhill J., Harris S.R. Rapid phylogenetic analysis of large samples of recombinant bacterial whole genome sequences using Gubbins. *Nucleic Acids Res.* 2015; 43(3):e15. DOI: 10.1093/nar/gku1196.
19. Nguyen L.T., Schmidt H.A., von Haeseler A., Minh B.Q. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 2015; 32(1):268–74. DOI: 10.1093/molbev/msu300.
20. Kimura M. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequences. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1981; 78(1):454–8. DOI: 10.1073/pnas.78.1.454.
21. Lewis P.O. A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Syst. Biol.* 2001; 50(6):913–25. DOI: 10.1080/106351501753462876.
22. Camacho C., Coulouris G., Avagyan V., Ma N., Papadopoulos J., Bealer K., Madden T.L. BLAST+: Architecture and applications. *BMC Bioinformatics*. 2009; 10:421. DOI: 10.1186/1471-2105-10-421.
23. Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 2014; 30(14):2068–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu153.
24. pyGenomeViz: A genome visualization python package for comparative genomics. (Cited 07 Aug 2023). [Internet]. Available from: <https://github.com/moshi4/pyGenomeViz>.
25. Mironova L.V., Bochalgin N.O., Gladkikh A.S., Feranchuk S.I., Ponomareva A.S., Balakhonov S.V. [Phylogenetic affinity and genome structure features of *ctxAB*⁺ *tcpA*⁺ *Vibrio cholerae* from the surface waterbodies in the territory that is non-endemic as regards cholera]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; (1):115–23. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-115-123.
26. Hu D., Liu B., Feng L., Ding P., Guo X., Wang M., Cao B., Reeves P.R., Wang L. Origins of the current seventh cholera pandemic. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2016; 113(48):E7730–E7739. DOI: 10.1073/pnas.1608732113.

Authors:

Mironova L.V., Fedotova I.S., Ponomareva A.S., Erdyneev S.V., Khunkheeva Zh.Yu., Basov E.A., Fortunatova A.V., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute, 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.
Galach'yants Yu.P. Irkutsk Research Anti-Plague Institute; 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Linnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; 3, Ulaanbaatar St., Irkutsk, 664033, Russian Federation.

Об авторах:

Миронова Л.В., Федотова И.С., Пономарева А.С., Эрдынеев С.В., Хункеева Ж.Ю., Басов Е.А., Fortunatova A.V., Балахонов С.В. ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.
Галачьянц Ю.П. ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора; Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru. Лимнологический институт Сибирского отделения РАН; Российская Федерация, 664033, Иркутск, ул. Улан-Баторская, 3.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-132-139

УДК 616.932:579.61

Е.В. Монахова¹, В.Д. Кругликов¹, А.С. Водопьянов¹, Я.М. Краснов², С.Д. Катышев²,
Н.А. Шарاپова², Л.П. Алексеева¹, Е.А. Меньшикова¹, В.В. Евдокимова¹, М.И. Ежова¹, **А.К. Носков¹**

Характеристика СТХ⁺ штамма *Vibrio cholerae* O1, выделенного в 2023 г. из реки Темерник в Ростове-на-Дону

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 – определение фено- и генотипических особенностей СТХ⁺ штамма *Vibrio cholerae*, выделенного в 2023 г. из пробы воды, и сравнительный биоинформационный анализ данных полногеномного секвенирования. **Материалы и методы.** Полногеномное секвенирование выполняли на платформах MiSeq (Illumina) и MinIon (Oxford Nanopore Technologies), гибридную сборку полного генома проводили с использованием алгоритма TruSeq, устранение ошибок сборки – с помощью алгоритма Medaka и программы Pilon. Построение дендрограммы и биоинформационный анализ осуществляли с использованием пакетов SciPy и Graphviz, программ BioEdit, BLASTN, BLASTP, CARD, ICE Genotyper, Vector NTI. Способность к токсинопродукции проверяли с помощью иммуноферментного анализа ГМ₁ИФА. **Результаты и обсуждение.** Выделенный штамм идентифицирован как *V. cholerae* O1 Огава, чувствительный к большинству антибиотиков. По совокупности генетических свойств он отнесен к первым геновариантам, отличающимся от типовых штаммов Эль Тор только наличием гена *ctxB1* классического типа вместо *ctxB3* типа Эль Тор. Установлено, что он содержит тандемно дублицированный профаг СТХ в составе малой хромосомы и тандем из двух копий профага RS1 в составе большой. При этом ген *rstR* профага СТХ относился к классическому типу, а профага RS1 – к типу Эль Тор. Остальные критерии эпидемической опасности – *tcpA^{elt}*, *rtxA1* и интактный VSP-II – не отличались от прототипов. В геноме штамма обнаружен ICE-элемент VchBan11, содержащий ген устойчивости к триметоприму *dfrA1*, и фенотипически штамм устойчив к этому антибиотику. В условиях *in vitro* штамм не продуцировал холерный токсин, как показали результаты ИФА. Возможно, это связано с наличием делеции в регуляторном гене *toxR*. Штаммы, подобные изоляту 2023 г., относят в основном ко второй волне седьмой пандемии. В настоящее время они практически вытеснены новыми геновариантами, но изредка могут встречаться и даже вызывать заболевания. Поэтому их заносы на территорию России потенциально могут представлять угрозу здоровью населения.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, полногеномное секвенирование, гибридная сборка, биоинформационный анализ, профаг СТХ, профаг RS1, ICE-элемент, ГМ₁ИФА.

Корреспондирующий автор: Монахова Елена Владимировна, e-mail: monakhova_ev@antiplague.ru.

Для цитирования: Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Краснов Я.М., Катышев С.Д., Шарاپова Н.А., Алексеева Л.П., Меньшикова Е.А., Евдокимова В.В., Ежова М.И., Носков А.К. Характеристика СТХ⁺ штамма *Vibrio cholerae* O1, выделенного в 2023 г. из реки Темерник в Ростове-на-Дону. Проблемы особо опасных инфекций. 2024; 2:132–139. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-132-139

Поступила 23.11.2023. Отправлена на доработку 11.01.2024. Принята к публ. 31.01.2024.

E.V. Monakhova¹, V.D. Kruglikov¹, A.S. Vodop'yanov¹, Ya.M. Krasnov², S.D. Katyshev²,
N.A. Sharapova², L.P. Alekseeva¹, E.A. Men'shikova¹, V.V. Evdokimova¹, M.I. Ezhova¹, **A.K. Noskov¹**

Characteristics of *Vibrio cholerae* O1 CTX⁺ Strain Isolated from the Temernik River in Rostov-on-Don in 2023

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 determine the pheno- and genotypic features of the aquatic CTX⁺ strain of *Vibrio cholerae* isolated in 2023 and a comparative bioinformatic analysis of whole-genome sequencing data. **Materials and methods.** Whole-genome sequencing was performed on MiSeq (Illumina) and MinIon Oxford Nanopore Technologies (ONT) platforms; hybrid assembly of the whole genome was carried out using the TruSeq algorithm; assembly errors were eliminated by means of the Medaka algorithm and the Pilon program. Dendrogram construction and bioinformatics analysis were carried out with the help of the scipy and Graphviz packages, BioEdit, BLASTN, BLASTP, CARD, ICE Genotyper, and Vector NTI programs. The ability to produce cholera toxin was tested using the GM₁ELISA. **Results and discussion.** The isolated strain was identified as *V. cholerae* O1 Ogawa, sensitive to most antibiotics. Based on the totality of genetic properties, it was classified as the first genovariant, distinct from the typical El Tor strains only by the presence of *ctxB1* gene of classical type instead of *ctxB3* of the El Tor type. It has been established that it contains a tandemly duplicated CTX prophage on the small chromosome and a tandem of two copies of RS1 prophage on the large chromosome. Thereat, the *rstR* gene of the CTX prophage belonged to the classical type, and the RS1 prophage – to the El Tor type. The remaining criteria of epidemic hazard – *tcpA^{elt}*, *rtxA1* and intact VSP-II did not differ from the prototypes. The genome of the strain carries the ICE element VchBan11, which contains the trimethoprim resistance gene *dfrA1*, and phenotypically the strain is resistant to this antibiotic. Under *in vitro* conditions, the strain did not produce cholera toxin, as shown by ELISA results. This may be due to the presence of a deletion within the *toxR* regulatory gene. Strains similar to the 2023 isolate are mainly attributed to the second wave of the seventh pandemic. Currently, they are almost replaced by new genovariants, but occasionally can emerge and even cause diseases. Therefore, their importation into Russian territory potentially pose a threat to public health.

Key words: *Vibrio cholerae*, whole genome sequencing, hybrid assembly, bioinformatics analysis, CTX prophage, RS1 prophage, ICE element, GM₁ELISA assay.

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., Kruglikov V.D., Vodop'yanov A.S., Krasnov Ya.M., Katyshev S.D., Sharapova N.A., Alekseeva L.P., Men'shikova E.A., Evdokimova V.V., Ezhova M.I., Noskov A.K. Characteristics of *Vibrio cholerae* O1 CTX⁺ Strain Isolated from the Temernik River in Rostov-on-Don in 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:132–139. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-132-139
Received 23.11.2023. Revised 11.01.2024. Accepted 31.01.2024.

Monakhova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9216-7777>
Kruglikov V.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6540-2778>
Vodop'yanov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9056-3231>
Krasnov Ya.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>
Katyshev S.D., ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-7575-653X>
Sharapova N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5289-7783>

Alekseeva L.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9866-3579>
Men'shikova E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6003-4283>
Evdokimova V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5522-9097>
Ezhova M.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4254-3313>
Noskov A.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0550-2221>

В текущем столетии выделение токсигенных (CTX⁺) штаммов *Vibrio cholerae* из объектов окружающей среды (ООС) в Российской Федерации стало крайне редким событием, возможно, в связи с отсутствием эпидемических вспышек, когда возбудители попадали в открытые водоемы и сохранялись в них в течение непродолжительного времени. На фоне эпидблагополучия заносы CTX⁺ штаммов в ООС имели единичный характер, а завозные спорадические случаи холеры благодаря своевременной изоляции больных не сопровождались дальнейшим распространением инфекции. Последняя локальная вспышка холеры имела место в Казани в 2001 г., в это же время возбудители обнаруживались в сточных водах и открытых водоемах. С 2000 г. токсигенные изоляты встречались в ООС изредка на фоне ежегодного выделения нетоксигенных штаммов [1].

В частности, в Ростове-на-Дону из речной воды было выделено всего шесть CTX⁺ штаммов *V. cholerae*: три – в 2001 г. и по одному – в 2000, 2003 и 2014 гг. В Ростовской области (г. Таганрог) из морской воды был изолирован один штамм в 2011 г. Из всех остальных регионов РФ только в Санкт-Петербурге из речной воды был выделен единственный токсигенный штамм в 2005 г. [2]. Эти изоляты различались по наборам основных критериев эпидемической опасности (аллели генов *ctxB*, *tcpA*, *rtxA*, структура острова пандемичности VSP-II): штамм 2000 г. являлся «прототипным» Эль Тор (*ctxB3 tcpA^{elt}, rtxA1*, интактный VSP-II); штаммы 2001, 2003 и 2005 гг. были представителями «первых геновариантов», отличавшихся от прототипных только заменой аллеля *ctxB3* на *ctxB1*, тогда как штаммы 2011 и 2014 гг. относились к «предгаитянской» группе (*ctxB1 tcpA^{CIRS}, rtxA4*, VSP-IIΔ0495-0512 п.н.) [2, 3]. В последующие девять лет CTX⁺ штаммы в ООС РФ не встречались. Однако в 2023 г. в Ростове-на-Дону выделен токсигенный штамм из воды реки Темерник. Изучение его биологических свойств и структуры генома представляло не только научный, но и практический интерес с точки зрения определения степени потенциальной эпидемической опасности.

Цель работы состояла в определении фенотипических особенностей CTX⁺ штамма *V. cholerae*, выделенного в 2023 г. из пробы воды, и сравнительном биоинформационном анализе данных полногеномного секвенирования.

Материалы и методы

Выделение и первичную идентификацию штамма, а также определение его чувствительности к антибактериальным препаратам осуществляли согласно МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры».

Для определения способности к продукции холерного токсина (СТ) *in vitro* использовали жидкие питательные среды АК1, LB и бульон Мартена. Культивирование проводили по способу, предложенному М. Iwanaga и Т. Куууаканонд [4]. Исходным материалом для определения уровня продукции СТ служили обеззараженные супернатанты бульонных культур, которые получали в результате удаления бактериальных клеток центрифугированием. Количество синтезируемого СТ определяли с помощью иммуноферментного анализа GM₁ИФА по стандартной методике [5]. В качестве детектирующих антител использовали моноклональные анти-токсические иммуноглобулины, направленные к субъединице В. Отрицательным контролем служил супернатант нетоксигенного штамма, а положительным – раствор очищенного СТ.

Полногеномное секвенирование выполнено на платформах MiSeq (Illumina) и MinIon (Oxford Nanopore Technologies, ONT). Гибридную сборку полного генома провели, используя данные секвенирования двух технологий и алгоритм TruSeq [6, 7]. Исправления ошибок сборки проводили в два этапа: картированием на сборку длинных прочтений ONT, используя алгоритм Medaka [8], после чего с помощью программы Pilon [9] и коротких прочтений Illumina устраняли оставшиеся ошибки.

Идентификацию генетических детерминант факторов патогенности и лекарственной устойчивости в полногеномных сиквенсах (WGSs) осуществляли с использованием пакета программ BioEdit 7.2.5 (<http://www.mbio.ncsu.edu/bioedit>) и базы CARD (<https://card.mcmaster.ca>), как описано ранее [10]. Анализ нуклеотидных последовательностей генов и аминокислотных (aa) последовательностей продуктов их трансляции (*in silico*) проводили с помощью пакета программ Vector NTI Advance 11 (Invitrogen), также использовали онлайн BLASTN и BLASTP-анализ (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Прототипами служили генетические детерминанты

референс-штамма *V. cholerae* N16061 (AE003852, AE003853).

При проведении филогенетического анализа использовали «черновые» полные геномы (WGSs) *ctxAB⁺tcpA⁺* штаммов *V. cholerae* O1 Эль Тор, полученные как непосредственно авторами на платформе MiSeq Illumina, так и из баз данных NCBI и ENA (European nucleotide archive). Сборку геномов из полученных единичных прочтений (ридов) осуществляли с помощью программы Spades [11], поиск SNP – по методике, описанной ранее [12].

Построение минимального остовного дерева проводили с использованием модуля *minimum spanning tree*, разбиение на кластеры – с помощью модуля *connected components* из пакета SciPy [13]. Для визуализации дендрограммы использовали пакет Graphviz [14], для визуальной обводки кластеров – модуль ConvexHull из пакета SciPy [13].

Поиск ICE-элементов осуществляли с помощью разработанной нами программы *V. cholerae* ICE Genotyper [15].

Результаты и обсуждение

Выделение и первичная идентификация штамма. Штамм *V. cholerae* 83 выделен 05.07.2023 в рамках мониторинга за холерой из воды р. Темерник на территории Ботанического сада Ростова-на-Дону (точка забора № 5 у моста, место неорганизованного рекреационного водопользования, дата отбора пробы 03.07.2023). Следует отметить, что ранее в этой же точке на фоне выделения нетоксигенных (CTX⁻) штаммов дважды обнаруживались токсигенные (2003 и 2014 гг.), один из которых был представителем первых геновариантов, а второй относился к «предгаитянской» группе [2].

Изолят 83 обладал всеми фенотипическими признаками *V. cholerae* O1 Эль Тор, агглютинировался диагностическими сыворотками O1 и Огава до титра. По результатам ПЦР в режиме реального времени имел генотип *wbe⁺wbf ctxA⁺tcpA⁺hly⁺* (тест-система «АмплиСенс *V. cholerae*-FL», серия 30.05.2023, годна до 01.03.2024).

Гибридная сборка полного генома. Изучение подходов к гибридной сборке полного бактериального генома различными алгоритмами показало эффективность программного пакета TruSeqer. Алгоритм TruSeqer описан в работах R.R. Wick *et al.* [6, 7]. Данный подход предполагает сборку генома из длинных прочтений Oxford Nanopore с помощью алгоритма TruSeqer и дальнейшее исправление мелких ошибок в полученной сборке алгоритмом Medaka с помощью длинных прочтений ONT и алгоритмом Pilon с помощью коротких прочтений Illumina. Таким образом, сборка геномов проводилась только из длинных прочтений, что позволяет наиболее точно установить структуру генома, а короткие прочтения использовались только для исправления мелких ошибок сборки. Нами проведена гибридная сборка генома штамма *V. cholerae* 83 из данных секвениро-

вания по технологиям Oxford Nanopore и Illumina. В результате получены полные нуклеотидные последовательности двух хромосом, замкнутые в кольцо (3111291 и 1093860 п.н. соответственно), GC-состав – 47,4 %.

Филогенетический анализ. Для проведения филогенетического анализа составлена коллекция геномов штаммов холерных вибрионов, выделенных на территориях РФ, а также в других регионах мира в период 1994–2023 гг., включая данные NCBI GenBank. Анализ по 59 тыс. SNP позволил построить дендрограмму, отражающую генетическую близость между различными штаммами (рис. 1).

Как видно из рис. 1, изучаемый штамм оказался наиболее генетически близок первым геновариантам из Ростова-на-Дону (2003 г.), Дагестана и Мариуполя (1994 г.), Владивостока и Сахалина (1999 г.), Санкт-Петербурга (2005 г.), Ялты (2010 г.); в этот же кластер попали и штаммы из Южной Кореи и Тайваня (2016 г.), а также, как ни странно, возбудители локальной вспышки холеры в Ставрополе (1990 г.), которые представляли собой прототипные штаммы Эль Тор, хотя они образовали наиболее отдаленную ветвь. Другие кластеры включали, наряду с первыми геновариантами, штаммы всех групп («предгаитянской», «гаитянской») и «постгаитянской», а также отдельных представителей прототипных Эль Тор [2]. Таким образом, исследуемый штамм, скорее всего, относился к первым геновариантам. Для подтверждения мы провели идентификацию отдельных маркеров эпидемического потенциала.

Идентификация генетических детерминант основных маркеров эпидемического потенциала в геноме выделенного штамма. В результате анализа нуклеотидных последовательностей двух хромосом, полученных с помощью гибридной сборки, установлено, что исследуемый штамм содержит в составе большой хромосомы тандем из двух идентичных друг другу профагов RS1, между которыми находится сайт специфической интеграции *attRS*. В обоих копиях ген *rstR* представлен аллелем Эль Тор (*rstR^{elit}*). Рядом с тандемом локализован кластер RTX, ответственный за продукцию высокомолекулярного цитотоксина-актимодулятора MARTX, с интактным аллелем гена собственно токсина *rtxA1*. Таким образом, тандем RS1 занимает позицию, характерную для профага CTX, однако последний на большой хромосоме отсутствует (рис. 2, А). В то же время CTX обнаружен в составе малой хромосомы, также в виде тандема их двух профагов, разделенных *attRS* (рис. 2, В). Интересно, что *rstR* профага RS1 относился к типу Эль Тор, а в элементе RS2 профага CTX – к классическому типу. Однако в промоторной области гена *ctxA* присутствовало четыре повтора TTTTGAT, как у вибрионов Эль Тор, а не семь-восемь, обычно обнаруживаемых у классических штаммов.

Такие профаги CTX относятся к типу CTX-2 [16, 17], также обозначаемому как CTX^{Moz}, поскольку

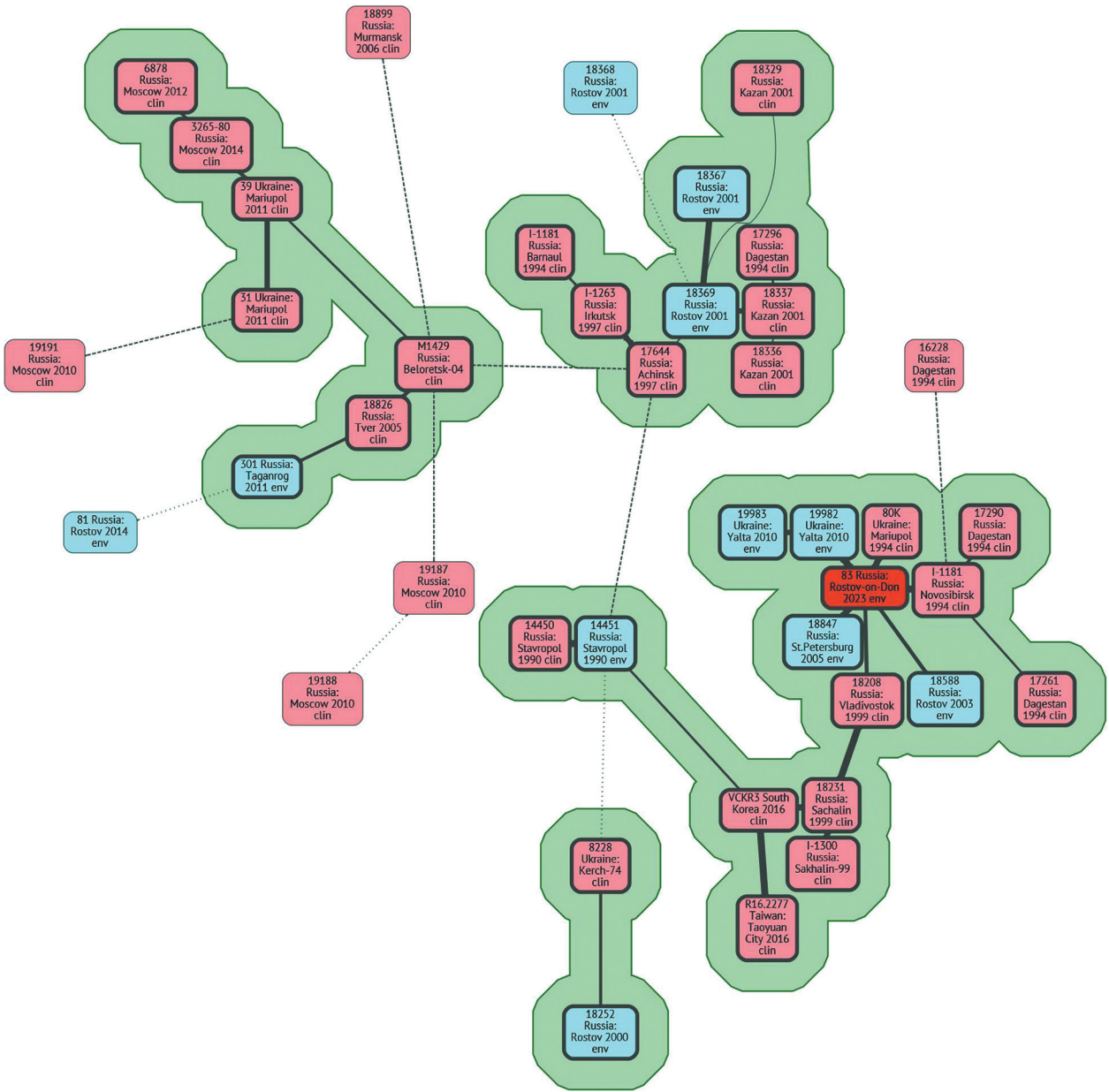


Рис. 1. Дендрограмма, построенная по итогам анализа WGSs токсигенных (CTX⁺) штаммов *V. cholerae* O1: красный цвет – штамм 83; розовый – штаммы, изолированные от людей; голубой – из объектов окружающей среды

Fig. 1. Dendrogram constructed based on the results of WGSs analysis of toxigenic (CTX⁺) *V. cholerae* O1 strains: red – strain 83; pink – strains isolated from humans; blue – isolated from environment

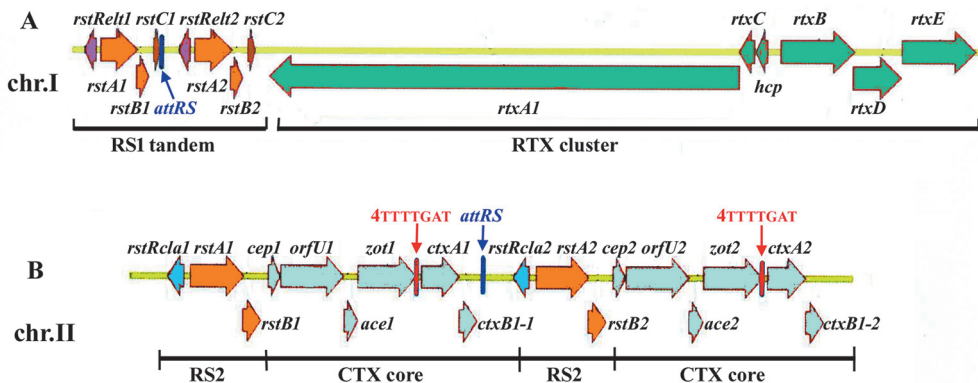


Рис. 2. Структура тандемно дуплицированных профагов:

A – RS1, локализованные в составе большой хромосомы рядом с кластером RTX; B – CTX в составе малой хромосомы

Fig. 2. Structure of tandemly duplicated prophages:

A – RS1, localized on the large chromosome near the RTX cluster; B – CTX on the small chromosome

ку были выявлены вначале у мозамбикских штаммов 2004 г. [18], хотя в литературе имеются указания на их распространение и в других странах и на принадлежность ко второй волне седьмой пандемии [16, 17]. При этом у разных штаммов данной группы наблюдается некоторая вариабельность: помимо тандема из двух CTX^{Moz} на малой хромосоме, они могут содержать в составе большой хромосомы тандем CTX^{Moz}-RS1^{cla}, CTX^{Moz}-RS1^{env}-RS1^{env} либо, как в нашем случае, RS1^{elt}-RS1^{elt} и др., тогда как у некоторых на большой хромосоме оба профага отсутствуют [18]. Сравнение нашего тандема с таковым одного из мозамбикских штаммов (IB1482, GQ466612) с помощью программы AlignX из пакета Vector NTI показало почти полную их идентичность (не считая одного полиморфизма в дистальной части обоих *rstB*, что, впрочем, наблюдается и среди других изолятов мозамбикской группы).

Как отмечено выше, геном штамма *V. cholerae* 83 содержит остров патогенности VPI с геном *tcpA^{elt}*, RTX-кластер с интактным аллелем гена *rtxA1*, а также полный остров пандемичности VSP-II без делеций.

Таким образом, новый изолят 2023 г. действительно принадлежал к первым геновариантам, что было для нас неожиданным, поскольку основная масса токсигенных штаммов холерных вибрионов, циркулирующих в мире в настоящее время, относятся к «гаитянской» либо «постгаитянской» группе. Тем не менее такие штаммы изредка продолжали встречаться среди как клинических, так и водных изолятов по меньшей мере до 2016 г., когда в Южной Корее вызвали три случая холеры, не связанные с завозами. Заболевшие накануне употребляли морепродукты, и в это же время еще один штамм с идентичным генотипом был выделен из морской воды [19]. По данным проведенного нами анализа, эти штаммы, по всей вероятности, содержали и профаг CTX (*rstR^{cla}-ctxB1*), и RS1 (*rstR^{elt}*), однако установить их копияность и локализацию не представляется возможным, поскольку в NCBI депонированы только WGSs, а не последовательности двух хромосом. Кроме того, такие штаммы были обнаружены в 2015–2018 гг. среди возбудителей сезонных вспышек холеры в Бангладеш наряду с «гаитянскими» и «постгаитянскими» изолятами [20]. В их WGSs, имеющихся в NCBI, мы идентифицировали тандем RS1(*rstR^{elt}*)-CTX (*rstR^{elt}-ctxB1*) прямо перед кластером RTX, что свидетельствует о его локализации на большой хромосоме. Следовательно, штаммы из Бангладеш отличались от мозамбикских, но все равно принадлежали к первым геновариантам. Позднее о таких штаммах не сообщалось, но занос одного из них в 2023 г. свидетельствует о том, что они еще сохраняются на каких-то зарубежных территориях.

Определение токсинопродукции и анализ регуляторных генов. Результаты иммуноферментного анализа GM₁ИФА показали полное отсутствие СТ в супернатантах штамма 83, выращенного на всех трех питательных средах. Ранее аналогичное явление выявлено Н.И. Смирновой и соавт. [21] для

двух *ctxA⁺tcpA⁺* водных изолятов из Ялты (2010 г.), также использованных в настоящей работе (см. выше). Авторами установлена причина отсутствия токсинопродукции – нарушение целостности гена глобального регулятора *toxR* за счет однонуклеотидной делеции T357 и образовавшегося в результате преждевременного стоп-кодона, что привело к укорочению гена с 885 до 358 п.н. и, соответственно, его продукта на 187 aa. В результате были утрачены цитоплазматический, трансмембранный и периплазматический домены, присутствующие в интактном белке ToxR. Мы предположили, что ген *toxR* штамма 83 содержит такую же делецию, поскольку, как показано выше, он близок к ялтинским изолятам 2010 г. Однако оказалось, что в его гене *toxR* присутствует совсем другая делеция 12 п.н. (777–788), но не сопровождающаяся формированием преждевременного стоп-кодона либо сдвигом рамки считывания. Продукт трансляции утратил 4 aa (NNQL 259–262) ближе к С-концу, при этом, в отличие от ялтинских штаммов, сохранив все активные домены, которые локализованы в N-концевой части молекулы. Тем не менее неизвестно, каким образом эта делеция могла повлиять на третичную структуру белка ToxR и его функциональную активность. По всей вероятности, она явилась основной причиной отсутствия продукции СТ, поскольку остальные гены, причастные к регуляции экспрессии *ctxAB* (*toxS*, *toxT*, *tcpH*, *tcpP*, *aphA*), оставались интактными и были на 100 % идентичны прототипам. Таким образом, существуют, видимо, и другие пути «выключения» продукции полноценного белка ToxR. Кроме того, мы не исключаем, что штамм окажется способным к токсинопродукции в других условиях, поскольку в настоящем исследовании ее определяли только методом ИФА в супернатантах культуры, выращенной *in vitro*. С другой стороны, мы обратили внимание на тот факт, что детально изученные ранее два изолята из ООС 2011 и 2014 гг. (штаммы 301 и 81) [22, 23] активно продуцировали СТ на моделях *in vitro* и *in vivo*, несмотря на то, что их ген *toxR* в результате уникальной делеции 5 п.н. (51–55), сдвига рамки и формирования преждевременного стоп-кодона укоротился до 66 п.н., что исключало образование полноценного продукта. Однако ниже этой усеченной рамки считывания образовалась другая (188–880 п.н.) со стартом-кодоном GTG длиной 693 п.н. Интересно, что продукт ее трансляции идентифицирован программой BLASTP как ToxR и в нем выявлены такие же потенциальные активные домены, как у интактного белка: ДНК-связывающие CadC1 и PRK10153, трансмембранный *trans_reg_C*, характерные для активаторов транскрипции. Известно, что ToxR может инициировать синтез СТ не только напрямую, связываясь с промотором *ctxA*, но и через активацию при участии TcrHP промотора *toxT* – гена другого позитивного регулятора токсинопродукции [24–27]. Промоторы, как *ctxA*, так и *toxT*, обычно заблокированы в дистальном участке негативным регулятором транскрипции H-NS, и ToxR должен вытеснить

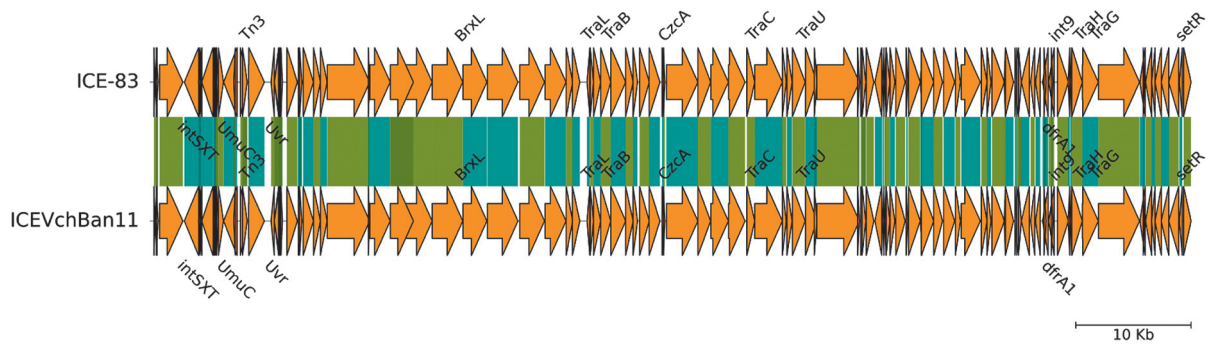


Рис. 3. Структура ICE-элемента штамма 83 в сравнении с ICEVchBan11 *V. cholerae*

Fig. 3. Structure of the ICE element of the strain 83 as compared to ICEVchBan11 *V. cholerae*

этот репрессор, заняв его место [27, 28]. При этом связывание с промотором зависит от конфигурации «крыла» домена CadC1 (wHTH – winged helix-turn-helix) [25]. Поэтому мы не исключаем, что в одном случае (штамм 83) при формировании третичной структуры белка этот домен мог за счет делеции 4 аа в дистальной части изменить форму несмотря на идентичность его первичной структуры прототипу, а в другом (штаммы 301 и 81) – напротив, продукт укороченной с N-конца рамки считывания сохранил способность связывания с промоторами регулируемых генов, даже будучи усеченным с N-конца на 52 аа по сравнению с прототипом. Следует иметь в виду, что данное предположение на текущий момент не имеет экспериментального подтверждения.

Антибиотикорезистентность и ее генетические детерминанты. Фенотипически штамм 83 был чувствителен к большинству использованных в исследовании антибиотиков: гентамицину, цефтриаксону, доксициклину, левомецитину, азитромицину, рифампицину, кларитромицину, цефаклору. Эти данные совпадают с результатами поиска детерминант лекарственной устойчивости: в его геноме отсутствовали гены *aar2/aar3* (гентамицин), *blaCTX-M* (цефтриаксон и другие цефалоспорины), *tetA/tetR* (тетрациклин), *floR/catB9* (хлорамфеникол), а также гены резистентности к эритромицину *eryR*, канамицину *aphA1* и фторхинолонам *qnrVC3*. Вместе с тем выявлена устойчивость к нескольким антибактериальным препаратам. Резистентность к ампициллину, по-видимому, обусловлена либо геном *varG* (поскольку в WGS не обнаружено детерминант других бета-лактамаз – *blaP1*, *blaTEM*, *blaOxa-10*, *blaVCC-1*, *carbB7*, *carbB9*), либо работой эффлюкс-помп (MFS, CRP, *VcmABDHMN*); к стрептомицину – геном *aad1* (*strA*, *strB* отсутствовали), к триметоприму – *dfpA1* (единственным найденным в геноме из нескольких известных вариантов *dfr*), к сульфаметоксазолу – *sul1*. В то время как выявленные детерминанты находились в разных участках генома (в разных хромосомах), ген *dfpA1* оказался в составе интегративно-конъюгативного элемента (ICE). Использование программы *V. cholerae* ICE Genotyper позволило

установить, что в геноме изучаемого штамма содержится элемент ICEVchBan11. Сравнительный анализ состава генов показал полное соответствие между ICE-элементом изучаемого штамма и использованным в качестве референсного ICEVchBan11 из WGS *V. cholerae* I-1330 (RHDL00000000) (рис. 3).

Такие же ICE-элементы выявлены ранее сотрудниками Иркутского противочумного института у других первых геновариантов – штаммов I-1298, I-1300, I-1334, I-1344, I-1330, I-1316, выделенных на Дальнем Востоке в конце 1990-х гг. [29], а также нами в рамках настоящего исследования у штаммов 18982, 18983 (Ялта-2010), 18588 (Ростов-2003), 17261, 16228 (Дагестан-94), 18847 (Санкт-Петербург-2005), тогда как у изолятов из Южной Кореи (2016) ICE-элемент не обнаружен, а у некоторых недавних первых геновариантов из Бангладеш выявлен ICE-элемент, сходный с таковым клинического индийского изолята IDH_1986 (MK165649.1) [18, 30].

По всей видимости, обнаружение штамма с указанными генетическими характеристиками связано с новым заносом в РФ с одной из зарубежных территорий, на которой такие штаммы до сих пор сохраняются. Это объясняется известным фактом, что смена геновариантов не происходит одновременно и «старые» в течение различных по длительности периодов времени сосуществуют с «новыми», которые постепенно занимают доминирующее положение в этиологии холеры. Заболевания, вызываемые холерными вибрионами, подобными штамму 83, зачастую носят спорадический характер и не приводят к эпидемическим вспышкам. Не исключено также, что они кратковременно персистируют в окружающей среде, если находят для этого благоприятные условия. Поэтому их заносы на территорию России потенциально могут представлять угрозу здоровью населения.

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

- Ежова М.И., Левченко Д.А., Архангельская И.В., Кругликов В.Д., Непомнящая Н.Б. Особенности биологических свойств *Vibrio cholerae*, изолированных в процессе мониторинга водных объектов Ростова-на-Дону с 1989 по 2018 год. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; 1:148–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-148-151.
- Monakhova E.V., Ghosh A., Mutreja A., Weill F.-X., Ramamurthy T. Endemic cholera in India and imported cholera in Russia: what is common? *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2020; 3:17–26. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-17-26.
- Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Олейников И.П., Монахова Е.В. Разработка схемы типирования токсигенных холерных вибрионов на основе данных биоинформационного анализа. *Здоровье населения и среда обитания*. 2022; 30(7):66–71. DOI: 10.35627/2219-5238/2022-30-7-66-71.
- Iwanaga M., Kuuyakanond T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. *J. Clin. Microbiol.* 1987; 25(1):2314–16. DOI: 10.1128/jcm.25.12.2314-2316.1987.
- Sack D.A., Huda S., Neogi P.K., Daniel R.R., Spira W.M. Microtiter ganglioside enzyme linked immunosorbent assay for *Vibrio* and *Escherichia coli* heat labile enterotoxins and antitoxin. *J. Clin. Microbiol.* 1980; 11(1):35–40. DOI: 10.1128/jcm.11.1.35-40.1980.
- Wick R.R., Judd L.M., Cerdeira L.T., Hawkey J., Meric G., Vezina B., Wyres K.L., Holt K.E. Truicycler: consensus long-read assemblies for bacterial genomes. *Genome Biol.* 2021; 22(1):266. DOI: 10.1186/s13059-021-02483-z.
- Wick R.R., Judd L.M., Holt K.E. Assembling the perfect bacterial genome using Oxford Nanopore and Illumina sequencing. *PLoS Comput. Biol.* 2023; 19(3):e1010905. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1010905.
- Sequence correction provided by ONT research. [Электронный ресурс]. URL: <https://github.com/nanoporetech/medaka> (дата обращения 24.10.2023).
- Walker B.J., Abeel T., Shea T., Priest M., Abouelliel A., Sakthikumar S., Cuomo C.A., Zeng Q., Wortman J., Young S.K., Earl A.M. Pilon: an integrated tool for comprehensive microbial variant detection and genome assembly improvement. *PLoS One*. 2014; 9(11):e112963. DOI: 10.1371/journal.pone.0112963.
- Монахова Е.В., Водопьянов А.С., Кругликов В.Д., Селянская Н.А., Писанов Р.В., Носков А.К. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139, выделенных от больных отитами на территории Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2022; 99(4):465–77. DOI: 10.36233/0372-9311-2022-15.
- 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.
- 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 иммунологии*. 2020; 97(6):587–93. DOI: 10.36233/0372-9311-2020-97-6-9.
- Virtanen P., Gommers R., Oliphant T.E., Haberland M., Reddy T., Cournapeau D., Burovski E., Peterson P., Weckesser W., Bright J., van der Walt S.J., Brett M., Wilson J., Millman K.J., Mayorov N., Nelson A.R.J., Jones E., Kern R., Larson E., Carey C.J., Polat I., Feng Y., Moore E.W., VanderPlas J., Laxalde D., Perktold J., Cimrman R., Henriksen I., Quintero E.A., Harris C.R., Archibald A.M., Ribeiro A.H., Pedregosa F., van Mulbregt P.; SciPy 1.0 Contributors. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nat. Methods*. 2020; 17(3):261–72. DOI: 10.1038/s41592-019-0686-2.
- Ellson J., Gansner E., Koutsofios L., North S.C., Woodhull G. Graphviz – open source graph drawing tools. In: Mutzel P., Jünger M., Leipert S., editors. Graph Drawing, 9th international symposium, GD 2001, Vienna, Austria, September 23–26, 2001. Berlin, Heidelberg: Springer; 2002. P. 483–85. DOI: 10.1007/3-540-45848-4_57.
- Водопьянов А.С., Водопьянов С.О., Писанов Р.В. «*V. cholerae* ICE Genotyper» – программа для выявления и типирования интегративно-конъюгативного элемента у штаммов *V. cholerae*. Свидетельство о государственной регистрации от 21.06.2023 № 2023663855. [Электронный ресурс]. URL: <https://antiplague.ru/v-cholerae-ice-genotyper-programma-dlya-vyyavleniya-i-tipirovaniya-integrativno-konyugativnogo-elementa-ice-elementa-u-shtammov-v-cholerae>.
- Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 2011; 477(7365):462–5. DOI: 10.1038/nature10392.
- Ramamurthy T., Mutreja A., Weill F.-X., Das B., Ghosh A., Nair G.B. Revisiting the global epidemiology of cholera in conjunction with the genomics of *Vibrio cholerae*. *Front. Public Health*. 2019; 7:203. DOI: 10.3389/fpubh.2019.00203.
- Choi S.Y., Lee J.H., Kim E.J., Lee H.R., Jeon Y.S., von Seidlein L., Deen J., Ansaruzzaman M., Lucas G.M.E.S., Barreto A., Songane F.F., Mondlane C., Nair G.B., Czerkinsky C., Clemens J.D., Chun J., Kim D.W. Classical RS1 and environmental RS1 elements in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring a tandem repeat of CTX prophage: revisiting Mozambique in 2005. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59(Pt. 3):302–8. DOI: 10.1099/jmm.0.017053-0.
- Ha S.-M., Chalita M., Yang S.-J., Yoon S.-H., Cho K., Seong W.K., Hong S., Kim J., Kwak H.-S., Chun J. Comparative genomic analysis of the 2016 *Vibrio cholerae* outbreak in South Korea. *Front. Public Health*. 2019; 7:228. DOI: 10.3389/fpubh.2019.00228.
- Baddam R., Sarker N., Ahmed D., Mazumder R., Abdullah A., Morshed R., Hussain A., Begum S., Shahrin L., Khan A.I., Islam M.S., Ahmed T., Alam M., Clemens J.D., Ahmed N. Genome dynamics of *Vibrio cholerae* isolates linked to seasonal outbreaks of cholera in Dhaka, Bangladesh. *mBio*. 2020; 11(1):e03339-19. DOI: 10.1128/mBio.03339-19.
- Смирнова Н.И., Агафонов Д.А., Щелканова Е.Ю., Рыбальченко Д.А., Крицкий А.А., Альхова Ж.В., Краснов Я.М., Агафонова Е.Ю., Кузьрев В.В. Структурные и функциональные изменения генома авирулентных штаммов *Vibrio cholerae* биовара Эль Тор *ctxA* *trpA*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2020; 38(3):108–19. DOI: 10.17116/molgen202038031108.
- Шашкова А.В., Агафонов Д.А., Черкасов А.В., Заднова С.П., Смирнова Н.И. Фенотипический и молекулярно-генетический анализ генетически измененного токсигенного штамма *Vibrio cholerae* 301 биовара эльтор, изолированного в 2011 году в России. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 4:61–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-4-61-64.
- Писанов Р.В., Ежова М.И., Монахова Е.В., Черкасов А.В., Краснов Я.М., Водопьянов А.С., Кульшань Т.А., Ливанова Л.Ф., Портенко С.А., Абдрашитова А.С., Кругликов В.Д., Титова С.В. Особенности структуры генома токсигенного штамма *Vibrio cholerae* El Tor Инаба, выделенного в 2014 г. из открытого водоема в Ростове-на-Дону. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 2:63–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-2-63-67.
- Goss T.J., Morgan S.J., French E.L., Krukoni E.S. ToxR recognizes a direct repeat element in the *toxT*, *ompU*, *ompT*, and *ctxA* promoters of *Vibrio cholerae* to regulate transcription. *Infect. Immun.* 2013; 81(3):884–95. DOI: 10.1128/IAI.00889-12.
- Dorman M.J., Dorman C.J. Regulatory hierarchies controlling virulence gene expression in *Shigella flexneri* and *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2018; 9:2686. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02686.
- Morgan S.J., French E.L., Plecha S.C., Krukoni E.S. The wing of the ToxR winged helix-turn-helix domain is required for DNA binding and activation of *toxT* and *ompU*. *PLoS One*. 2019; 14(9):e0221936. DOI: 10.1371/journal.pone.0221936.
- Stone J.B., Withey J.H. H-NS and ToxT inversely control cholera toxin production by binding to overlapping DNA sequences. *J. Bacteriol.* 2021; 203(18):e0018721. DOI: 10.1128/JB.00187-21.
- Naha A., Withey J.H., Mukherjee P., Saha R.N., Samanta P., Ghosh A., Miyoshi S.I., Dutta S., Mukhopadhyay A.K. Elucidating the correlation between the number of TTTTGAT heptamer repeats and cholera toxin promoter activity in *Vibrio cholerae* O1 pandemic strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 2022; 369(1):fnac041. DOI: 10.1093/femsle/fnac041.
- Gladkikh A.S., Feranchuk S.I., Ponomareva A.S., Bochalgin N.O., Mironova L.V. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae* El Tor strains isolated during cholera complications in Siberia and the Far East of Russia. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 78:104096. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.104096.
- Sarkar A., Morita D., Ghosh A., Chowdhury G., Mukhopadhyay A.K., Okamoto K., Ramamurthy T. Altered integrative and conjugative elements (ICEs) in recent *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2072. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02072.

References

- Ezhova M.I., Levchenko D.A., Arkhangelskaya I.V., Kругликов В.Д., Непомнящая Н.Б. [Features of the biological properties of *Vibrio cholerae* isolated during the monitoring of water bodies in Rostov-on-Don from 1989 to 2018]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2021; (1):148–51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-148-151.
- Monakhova E.V., Ghosh A., Mutreja A., Weill F.-X., Ramamurthy T. Endemic cholera in India and imported cholera in Russia: what is common? *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii*

[Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2020; (3):17–26. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-17-26.

3. Vodopyanov S.O., Vodopyanov A.S., Oleynikov I.P., Monakhova E.V. [Elaboration of a toxigenic *Vibrio cholerae* typing scheme based on bioinformatics analysis data]. *Zdorov'e Naseleeniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2022; 30(7):66–71. DOI: 10.35627/2219-5238/2022-30-7-66-71.

4. Iwanaga M., Kuuyakand T. Large production of cholera toxin by *Vibrio cholerae* O1 in yeast extract peptone water. *J. Clin. Microbiol.* 1987; 25(1):2314–16. DOI: 10.1128/jcm.25.12.2314-2316.1987.

5. Sack D.A., Huda S., Neogi P.K., Daniel R.R., Spira W.M. Microtiter ganglioside enzyme linked immunosorbent assay for *Vibrio* and *Escherichia coli* heat labile enterotoxins and antitoxin. *J. Clin. Microbiol.* 1980; 11(1):35–40. DOI: 10.1128/jcm.11.1.35-40.1980.

6. Wick R.R., Judd L.M., Cerdeira L.T., Hawkey J., Meric G., Vezina B., Wyres K.L., Holt K.E. Trycycler: consensus long-read assemblies for bacterial genomes. *Genome Biol.* 2021; 22(1):266. DOI: 10.1186/s13059-021-02483-z.

7. Wick R.R., Judd L.M., Holt K.E. Assembling the perfect bacterial genome using Oxford Nanopore and Illumina sequencing. *PLoS Comput. Biol.* 2023; 19(3):e1010905. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1010905.

8. Sequence correction provided by ONT research. (Cited 24 Oct 2023). [Internet]. Available from: <https://github.com/nanoporetech/medaka>.

9. Walker B.J., Abeel T., Shea T., Priest M., Abuoulliel A., Sakthikumar S., Cuomo C.A., Zeng Q., Wortman J., Young S.K., Earl A.M. Pilon: an integrated tool for comprehensive microbial variant detection and genome assembly improvement. *PLoS One.* 2014; 9(11):e112963. DOI: 10.1371/journal.pone.0112963.

10. Monakhova E.V., Vodopyanov A.S., Kruglikov V.D., Selyanskaya N.A., Pisanov R.V., Noskov A.K. [Molecular genetic characteristics of *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 strains isolated on the territory of the Russian Federation from patients with otitis]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2022; 99(4):465–77. DOI: 10.36233/0372-9311-215.

11. 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.

12. Vodopyanov A.S., Pisanov R.V., Vodopyanov S.O., Oleynikov I.P. [Improvement of the technique of SNP-typing of *Vibrio cholerae* strains on the basis of the analysis of the 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.

13. Virtanen P., Gommers R., Oliphant T.E., Haberland M., Reddy T., Cournapeau D., Burovski E., Peterson P., Weckesser W., Bright J., van der Walt S.J., Brett M., Wilson J., Millman K.J., Mayorov N., Nelson A.R.J., Jones E., Kern R., Larson E., Carey C.J., Polat I., Feng Y., Moore E.W., VanderPlas J., Laxalde D., Perktold J., Cimrman R., Henriksen I., Quintero E.A., Harris C.R., Archibald A.M., Ribeiro A.H., Pedregosa F., van Mulbregt P.; SciPy 1.0 Contributors. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nat. Methods.* 2020; 17(3):261–72. DOI: 10.1038/s41592-019-0686-2.

14. Ellison J., Gansner E., Koutsofios L., North S.C., Woodhull G. Graphviz – open source graph drawing tools. In: Mutzel P., Jung M., Leipert S., editors. Graph Drawing, 9th international symposium, GD 2001, Vienna, Austria, September 23–26, 2001. Berlin, Heidelberg: Springer; 2002. P. 483–85. DOI: 10.1007/3-540-45848-4_57.

15. Vodopyanov A.S., Vodopyanov S.O., Pisanov R.V. “*V. cholerae* ICE Genotyper – is a program for identifying and typing the integrative-conjugative element in *V. cholerae* strains. Certificate of state registration No. 2023663855 dated June 21, 2023. [Internet]. Available from: <http://antiplague.ru/v-cholerae-ice-genotyper-programma-dlya-vyyavleniya-i-tipirovaniya-integrativno-konyugativnogo-elementa-ice-elementa-u-shtammov-v-cholerae>.

16. Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G. Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature.* 2011; 477(7365):462–5. DOI: 10.1038/nature10392.

17. Ramamurthy T., Mutreja A., Weill F.-X., Das B., Ghosh A., Nair G.B. Revisiting the global epidemiology of cholera in conjunction with the genomics of *Vibrio cholerae*. *Front. Public Health.* 2019; 7:203. DOI: 10.3389/fpubh.2019.00203.

18. Choi S.Y., Lee J.H., Kim E.J., Lee H.R., Jeon Y.S., von Seidlein L., Deen J., Ansaruzzaman M., Lucas G.M.E.S., Barreto A.,

Songane F.F., Mondlane C., Nair G.B., Czerkinsky C., Clemens J.D., Chun J., Kim D.W. Classical RS1 and environmental RS1 elements in *Vibrio cholerae* O1 El Tor strains harbouring a tandem repeat of CTX prophage: revisiting Mozambique in 2005. *J. Med. Microbiol.* 2010; 59(Pt. 3):302–8. DOI: 10.1099/jmm.0.017053-0.

19. Ha S.-M., Chalisa M., Yang S.-J., Yoon S.-H., Cho K., Seong W.K., Hong S., Kim J., Kwak H.-S., Chun J. Comparative genomic analysis of the 2016 *Vibrio cholerae* outbreak in South Korea. *Front. Public Health.* 2019; 7:228. DOI: 10.3389/fpubh.2019.00228.

20. Baddam R., Sarker N., Ahmed D., Mazumder R., Abdullah A., Morshed R., Hussain A., Begum S., Shahrin L., Khan A.I., Islam M.S., Ahmed T., Alam M., Clemens J.D., Ahmed N. Genome dynamics of *Vibrio cholerae* isolates linked to seasonal outbreaks of cholera in Dhaka, Bangladesh. *mBio.* 2020; 11(1):e03339-19. DOI: 10.1128/mBio.03339-19.

21. Smirnova N.I., Agafonov D.A., Shchelkanova E.Yu., Rybalchenko D.A., Kritsky A.A., Al'khova Zh.V., Krasnov Ya.M., Agafonova E.Yu., Kutyrev V.V. [Structural and functional changes of the genome in avirulent *Vibrio cholerae* strains biovar El Tor, genotype *ctxA⁺tcpA⁺*]. *Molekulyarnaya Genetika, Microbiologia i Virusologia [Molecular Genetics, Microbiology and Virology]*. 2020; 38(3):108–19. DOI: 10.17116/molgen202038031108.

22. Shashkova A.V., Agafonov D.A., Cherkasov A.V., Zadnova S.P., Smirnova N.I. [Phenotypic and molecular-genetic analysis of genetically modified toxigenic *Vibrio cholerae* El Tor strain 301, isolated in 2011 in Russia]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; (4):61–4. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-4-61-64.

23. Pisanov R.V., Ezhova M.I., Monakhova E.V., Cherkasov A.V., Krasnov Ya.M., Vodopyanov A.S., Kul'shan' T.A., Livanova L.F., Portenko S.A., Abdrashitova A.S., Kruglikov V.D., Titova S.V. [Peculiarities of genome structure of toxigenic *Vibrio cholerae* El Tor Inaba strain, isolated from a surface water body in the territory of Rostov-on-Don in 2014]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2015; (2):63–7. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-2-63-67.

24. Goss T.J., Morgan S.J., French E.L., Krukons E.S. ToxR recognizes a direct repeat element in the *toxT*, *ompU*, *ompT*, and *ctxA* promoters of *Vibrio cholerae* to regulate transcription. *Infect. Immun.* 2013; 81(3):884–95. DOI: 10.1128/IAI.00889-12.

25. Dorman M.J., Dorman C.J. Regulatory hierarchies controlling virulence gene expression in *Shigella flexneri* and *Vibrio cholerae*. *Front. Microbiol.* 2018; 9:2686. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02686.

26. Morgan S.J., French E.L., Plecha S.C., Krukons E.S. The wing of the ToxR winged helix-turn-helix domain is required for DNA binding and activation of *toxT* and *ompU*. *PLoS One.* 2019; 14(9):e0221936. DOI: 10.1371/journal.pone.0221936.

27. Stone J.B., Withey J.H. H-NS and ToxT inversely control cholera toxin production by binding to overlapping DNA sequences. *J. Bacteriol.* 2021; 203(18):e0018721. DOI: 10.1128/JB.00187-21.

28. Naha A., Withey J.H., Mukherjee P., Saha R.N., Samanta P., Ghosh A., Miyoshi S.I., Dutta S., Mukhopadhyay A.K. Elucidating the correlation between the number of TTTTGGAT heptamer repeats and cholera toxin promoter activity in *Vibrio cholerae* O1 pandemic strains. *FEMS Microbiol. Lett.* 2022; 369(1):fnac041. DOI: 10.1093/femsle/fnac041.

29. Gladkikh A.S., Feranchuk S.I., Ponomareva A.S., Bochalgin N.O., Mironova L.V. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae* El Tor strains isolated during cholera complications in Siberia and the Far East of Russia. *Infect. Genet. Evol.* 2020; 78:104096. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.104096.

30. Sarkar A., Morita D., Ghosh A., Chowdhury G., Mukhopadhyay A.K., Okamoto K., Ramamurthy T. Altered integrative and conjugative elements (ICEs) in recent *Vibrio cholerae* O1 isolated from cholera cases, Kolkata, India. *Front. Microbiol.* 2019; 10:2072. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02072.

Authors:

Monakhova E.V., Kruglikov V.D., Vodopyanov A.S., Alekseeva L.P., Men'shikova E.A., Evdokimova V.V., 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@aaanet.ru.

Krasnov Ya.M., Katyshev S.D., Sharapova N.A. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

Об авторах:

Монахова Е.В., Кругликов В.Д., Водопьянов А.С., Алексеева Л.П., Меньшикова Е.А., Евдокимова В.В., 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@aaanet.ru.

Краснов Я.М., Катышев С.Д., Шарاپова Н.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-140-147

УДК 616.98:578.8

П.А. Мочалкин^{1,2}, В.Г. Акимкин³, С.В. Углева³, Е.С. Морозкин³, Е.А. Блинова³, К.А. Сычева³, Д.Д. Скрипниченко³, Т.А. Бондаренко³, Ю.О. Эпик³, М.Т. Макенов³, А.А. Казак⁴, А.К. Попова⁴, М.А. Скотарева⁵, О.В. Иванова⁵, Б.Р. Гарифуллин⁵, Н.В. Попов⁶

Сочетанная циркуляция хантавирусов Пуумала, Тула, Сивис на территории Республики Башкортостан

¹ГБУЗ «Республиканский центр дезинфекции», Уфа, Российская Федерация; ²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Уфа, Российская Федерация; ³ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Москва, Российская Федерация; ⁴Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Башкортостан, Уфа, Российская Федерация; ⁵ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан», Уфа, Российская Федерация; ⁶ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

Цель работы – изучение видового разнообразия патогенных и непатогенных хантавирусов, циркулирующих в популяциях мелких млекопитающих на территории Республики Башкортостан, с помощью молекулярно-генетических методов. **Материалы и методы.** Индивидуальные пробы мелких млекопитающих протестированы с помощью вложенной ПЦР с использованием родоспецифичных праймеров, амплифицирующих участок L-сегмента хантавирусов. Полученные продукты ПЦР секвенированы методом Сэнгера с внутренних праймеров вложенной ПЦР. Для образцов, содержащих вирус Пуумала, секвенированы фрагменты S-, M- и L-сегментов вирусного генома методом Сэнгера. Построение филогенетических деревьев выполнялось с помощью программы MEGA X. **Результаты и обсуждение.** Из 300 исследованных проб млекопитающих, добытых в 2023 г. на территории Республики Башкортостан, обнаружены 14 проб, содержащих РНК хантавирусов Сивис (8), Тула (3), Пуумала (3). Циркуляция непатогенного хантавируса Сивис и условно-патогенного хантавируса Тула на территории Республики Башкортостан установлена впервые. Циркуляция хантавируса Сивис установлена в популяциях обыкновенной бурозубки (*Sorex araneus*) и малой бурозубки (*S. minutus*), хантавируса Тула – в популяциях полевки обыкновенной (*Microtus arvalis*). В результате филогенетического анализа обосновано реассортационное происхождение одного из генетических вариантов хантавируса Пуумала на территории Республики Башкортостан. Обсуждены предпосылки к формированию сочетанных природных очагов хантавирусов Пуумала, Сивис, Тула на территории республики.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, хантавирусы Пуумала, Сивис, Тула, сочетанная циркуляция, заболеваемость.

Корреспондирующий автор: Мочалкин Павел Александрович, e-mail: marketing@dez-ufa.ru.

Для цитирования: Мочалкин П.А., Акимкин В.Г., Углева С.В., Морозкин Е.С., Блинова Е.А., Сычева К.А., Скрипниченко Д.Д., Бондаренко Т.А., Эпик Ю.О., Макенов М.Т., Казак А.А., Попова А.К., Скотарева М.А., Иванова О.В., Гарифуллин Б.Р., Попов Н.В. Сочетанная циркуляция хантавирусов Пуумала, Тула, Сивис на территории Республики Башкортостан. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 2:140–147. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-140-147
Поступила 29.02.2024. Принята к публ. 14.03.2024.

P.A. Mochalkin^{1,2}, V.G. Akimkin³, S.V. Ugleva³, E.S. Morozkin³, E.A. Blinova³, K.A. Sycheva³, D.D. Skripnichenko³, T.A. Bondarenko³, Yu.O. Epik³, M.T. Makenov³, A.A. Kazak⁴, A.K. Popova⁴, M.A. Skotareva⁵, O.V. Ivanova⁵, B.R. Garifullin⁵, N.V. Popov⁶

Combined Circulation of Puumala, Tula, Seewis Hantaviruses in the Territory of the Republic of Bashkortostan

¹Republican Center for Disinfection, Ufa, Russian Federation;
²Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Ufa, Russian Federation;
³Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation;
⁴Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Bashkortostan, Ufa, Russian Federation;
⁵Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Bashkortostan, Ufa, Russian Federation;
⁶Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to study the species diversity of pathogenic and non-pathogenic hantaviruses circulating in populations of small mammals in the Republic of Bashkortostan using molecular-genetic methods. **Materials and methods.** Individual samples from small mammals were tested by the nested PCR using genus-specific primers that amplify the L segment of hantaviruses. The resulting PCR products were sequenced by the Sanger's method from internal nested PCR primers. For samples containing Puumala virus, fragments of the S, M, and L segments of the viral genome were sequenced using Sanger's method. The construction of phylogenetic trees was carried out using the MEGA X software. **Results and discussion.** Out of 300 examined samples of small mammals collected on the territory of the Republic of Bashkortostan in 2023, 14 samples have been found positive for the presence of hantavirus RNA: Seewis (8), Tula (3), Puumala (3). The circulation of the non-pathogenic hantavirus Seewis and the opportunistic hantavirus Tula has been established for the first time in the Republic of Bashkortostan. The circulation of the Seewis hantavirus has been confirmed in populations of the common shrew (*Sorex araneus*) and the pygmy shrew (*S. minutus*); the Tula hantavirus – in populations of the common vole (*Microtus arvalis*). Results of phylogenetic analysis substantiate the reassortment origin of one of the genetic variants of the Puumala hantavirus on the territory of the Republic of Bashkortostan. The prerequisites for the formation of combined natural foci of hantaviruses Puumala, Seewis, and Tula on the territory of the Republic of Bashkortostan are discussed.

Key words: hemorrhagic fever with renal syndrome, Puumala, Seewis, Tula hantaviruses, combined circulation, morbidity.

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

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

Bioethics: All stages of the research complied with the legislation of the Russian Federation, international ethical standards and regulatory documents of the institution.

Corresponding author: Pavel A. Mochalkin, e-mail: marketing@dez-ufa.ru.

Citation: Mochalkin P.A., Akimkin V.G., Ugleva S.V., Morozkin E.S., Blinova E.A., Sycheva K.A., Skripnichenko D.D., Bondarenko T.A., Epik Yu.O., Makenov M.T., Kazak A.A., Popova A.K., Skotareva M.A., Ivanova O.V., Garifullin B.R., Popov N.V. Combined Circulation of Puumala, Tula, Seewis Hantaviruses in the Territory of the Republic of Bashkortostan. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:140–147. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-140-147

Received 29.02.2024. Accepted 14.03.2024.

Mochalkin P.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7415-1299>
 Akimkin V.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8139-0247>
 Ugleva S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1322-0155>
 Morozkin E.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8407-2623>
 Blinova E.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9083-4137>
 Sycheva K.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9083-4137>
 Skripnichenko D.D., ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-7514-3724>

Bondarenko T.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-1552-8512>
 Epik Yu.O., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-9020-1967>
 Makenov M.T., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6835-4572>
 Ivanova O.V., ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-5329-2409>
 Garifullin B.R., ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-6013-3996>
 Popov N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4099-9261>

В Приволжском федеральном округе на территории Республики Башкортостан (РБ) расположен один из активных природных очагов геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) в Российской Федерации, характеризующийся постоянно высоким уровнем эпидемических проявлений [1, 2]. В многолетнем аспекте доля случаев заражения ГЛПС в РБ достигает от 14,1 до 35,9 % от общероссийских показателей. Первые случаи заболевания людей, клинически идентифицированные как ГЛПС, зарегистрированы в РБ в 1955 г. [3]. С 1957 г. здесь ежегодно имели место многочисленные случаи заражения ГЛПС. В 90-х гг. прошлого столетия показатели заболеваемости достигали 60–100 на 100 тыс. населения, число заболевших практически ежегодно достигало 2–3 тыс. человек. Наиболее значительная вспышка зарегистрирована здесь в 1997 г. (9403 больных), когда заболеваемость достигла 224 случаев на 100 тыс. населения [4]. В XXI столетии высокие показатели заболеваемости ГЛПС отмечены в 2009 г. (80,37 на 100 тыс. населения), 2014 г. (81,67 на 100 тыс. населения) и 2022 г. (74,8 на 100 тыс. населения) [5]. В настоящее время ГЛПС регистрируется в 53 районах (из 54) и 12 городах (из 14) в границах лесной, лесостепной и степной ландшафтно-географических зон РБ. Заболеваемость ГЛПС в РБ ассоциирована с вирусом Пуумала, основным резервуаром которого в природных очагах и источником заражения людей является рыжая полевка (*Myodes glareolus*) [6, 7]. Динамика заболеваемости ГЛПС во многом определяется соответствующими показателями относительного числа инфицированных особей этого вида [8]. Вплоть до 2021 г. в РБ регистрировали циркуляцию только хантавируса вида Пуумала, хотя в 1990-х гг. при исследовании иммунологическими методами сывороток крови больных ГЛПС были обнаружены антитела к хантавирусу Добрава-Белград [9]. В 2021 г. при исследовании мелких млекопитающих методом ПЦР с набором реагентов ООМ-119 «ОМ-Скрин-ГЛПС-РВ» установлена циркуляция хантавируса Добрава-Белград (Куркино) в Бирском, Благовещенском,

Гафурийском, Ишимбайском, Краснокамском, Чишминском административных районах, городах Уфа и Октябрьский. Хантавирус Добрава-Белград (Куркино) зарегистрирован в пробах полевого материала от полевой, лесной, желтогорлой мыши, обыкновенной, рыжей полевки и полевки-экономки [10]. Учитывая наличие природных очагов хантавирусов Тула в европейской части России [11, 12] и Сивис в Восточной и Западной Сибири [13], предположительно формирование сочетанных природных очагов различных видов патогенных и непатогенных хантавирусов на территории РБ. В пользу этой гипотезы свидетельствует и тот факт, что резервуарные хозяева хантавирусов Пуумала (рыжая полевка, *M. glareolus*), Добрава-Белград (Куркино) (полевая мышь, *Apodemus agrarius*), Сивис (близкородственные виды бурозубок: *Sorex araneus*, *S. tundrensis* и *S. daphaenodon*), Тула (обыкновенная полевка, *Microtus arvalis*) являются фоновыми видами на большей части территории РБ. В 2023 г. для проверки гипотезы о наличии на территории РБ сочетанных природных очагов хантавирусов Пуумала, Добрава-Белград (Куркино), Сивис, Тула выполнен поиск и изучение их генетического многообразия в популяциях мелких млекопитающих на территории РБ.

Цель исследования – изучение видового разнообразия патогенных и непатогенных хантавирусов, циркулирующих в популяциях мелких млекопитающих на территории РБ, с помощью молекулярно-генетических методов.

Материалы и методы

Сбор полевого материала проводили в соответствии с МР 3.1.0211-20 «Отлов, учет и прогноз численности мелких млекопитающих и птиц в природных очагах инфекций». В осенний период 2023 г. на энзоотичной по ГЛПС территории РБ отработано 5025 ловушко-ночей, отловлено 300 экз. мелких млекопитающих 12 видов. Доминирующими видами мелких млекопитающих в осенний период 2023 г. являлись лесная мышь (118 экз.), обыкновенная

(52 экз.) и рыжая (43 экз.) полевки, полевая мышь (35 экз.), бурозубка обыкновенная (28 экз.).

Образцы легочной ткани мелких млекопитающих гомогенизировали в 0,9 % растворе натрия хлорида с помощью гомогенизатора QIAGEN TissueLyser с приготовлением 10 % суспензии. Экстракцию РНК проводили с использованием набора реагентов «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва, Россия) согласно инструкции производителя. Пробы анализировали методом ОТ-ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени с помощью тест-системы для выявления и дифференциации РНК вирусов Пуумала и Добрава-Белград, разрабатываемой на базе ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора. Для получения кДНК из образцов использовали набор «Реверта L» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва, Россия) согласно инструкции производителя. Все образцы протестированы с помощью вложенной ПЦР с использованием родоспецифичных праймеров, амплифицирующих участки L-сегмента хантавирусов [14]. Полученные ампликоны секвенированы методом Сэнгера с внутренних праймеров вложенной ПЦР с использованием набора BigDye Terminator v1.1 (Thermo Fisher Scientific, Остин, Техас, США) на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500xL (Applied Biosystems, Фостер-Сити, Калифорния, США).

Для образцов, выявленных методом ОТ-ПЦР как содержащие вирус Пуумала, экстракция РНК прове-

дена повторно методом фенол-хлороформенной экстракции с использованием набора «РИБО-золь-АМ» (ФБУН ЦНИИЭ, Москва, Россия) согласно инструкции производителя.

Аmplification проводили согласно описанной ранее методике [15]. Для визуализации результатов амплификации выполнен электрофорез в 1,7 % агарозном геле. Для каждого из образцов фрагменты S-, M- и L-сегментов секвенированы методом Сэнгера с использованием праймеров PL-f11/PL-r11, PM-f3/PM-r3, PS-f3/PS-r3 [15].

Для первичной обработки данных секвенирования использовалось программное обеспечение DNASTAR Lasergene SeqMan версии 7.0.0. Полученные последовательности дополнены последовательностями из базы данных GenBank. Для филогенетического анализа последовательности предварительно выравнены с использованием алгоритма Muscle в программе MEGA X. Построение филогенетических деревьев выполнялось с использованием метода Neighbour Joining со значением Bootstrap 1000 с помощью программы MEGA X.

Результаты и обсуждение

В результате эпизоотологического мониторинга энзоотичных по ГЛПС территорий РБ в осенний период 2023 г. получены образцы легких от 300 млекопитающих. Результаты тестирования образцов с использованием двух ПЦР-методик представлены в табл. 1.

Таблица 1 / Table 1

Результаты ПЦР-тестирования образцов легких мелких млекопитающих, добытых в осенний период 2023 г. в РБ
Results of PCR study of lung samples from small mammals caught in the Republic of Bashkortostan in the autumn of 2023

Вид Species	Количество пойманных особей Number of collected specimens	Вложенная ПЦР (родовые праймеры на хантавирусы) Nested PCR (generic primers for hantaviruses)	ОТ-ПЦР в реальном времени для выявления РНК вирусов Пуумала/Добрава Real-time RT-PCR for the detection of RNA of Puumala/Dobrava viruses
Полевка рыжая Bank vole	43	3	3 (обнаружена РНК Пуумала) 3 (Puumala RNA detected)
Полевка-экономка Root vole	5	0	0
Полевка красная Northern red-backed vole	2	0	0
Полевка обыкновенная Common vole	52	3	0
Кутора обыкновенная Eurasian water shrew	1	0	0
Мышь желтогорлая Yellow-necked mouse	9	0	0
Мышь домовая House mouse	2	0	0
Мышь лесная Wood mouse	118	0	0
Мышь полевая Striped field mouse	35	0	0
Мышь-малютка Harvest mouse	2	0	0
Бурозубка обыкновенная Common shrew	28	7	0
Бурозубка малая Pygmy shrew	3	1	0

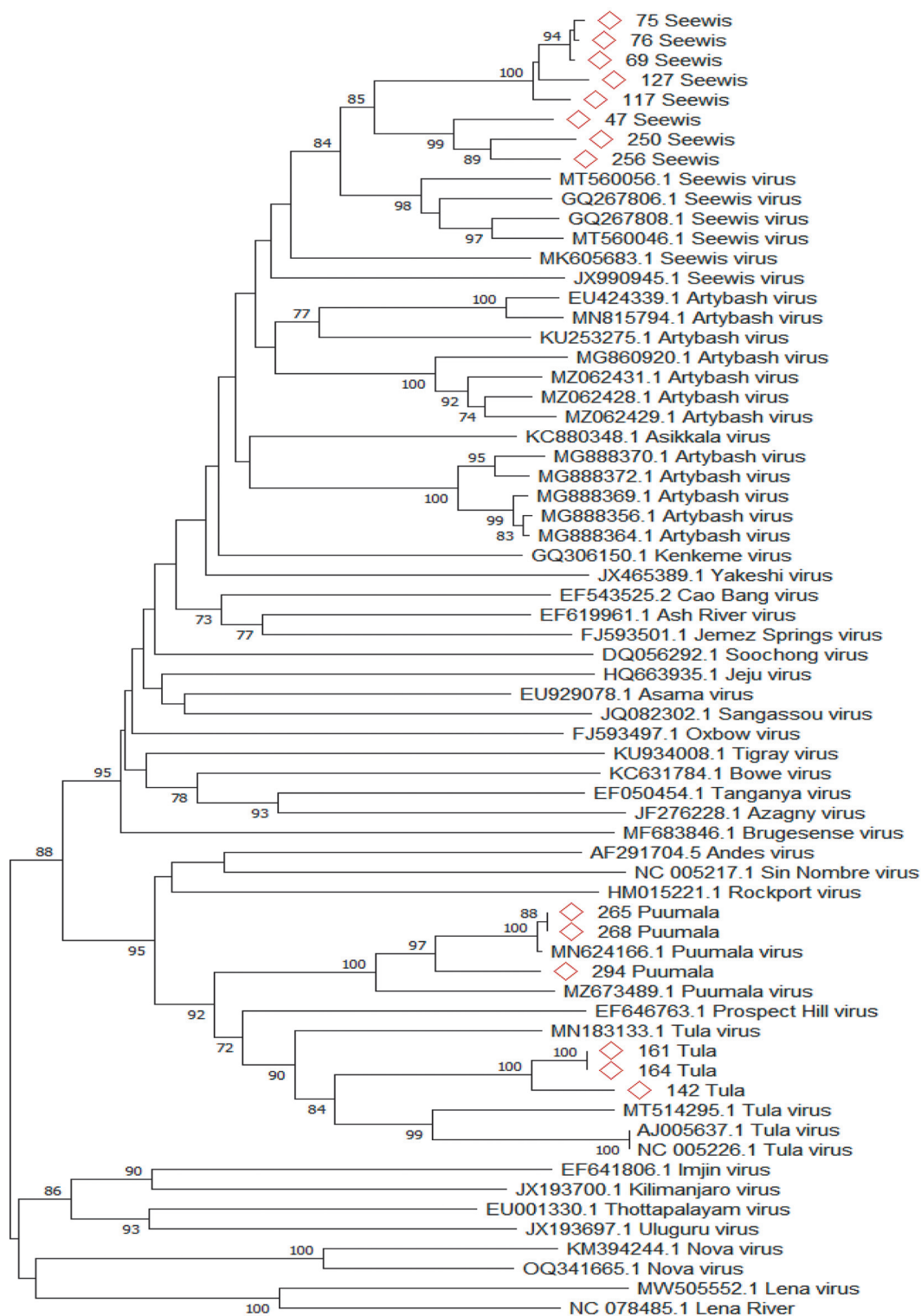


Рис. 1. Филогенетическое дерево, построенное на основании выравнивания фрагмента L-сегмента

Fig. 1. Phylogenetic tree based on the alignment of L segment fragment

Зараженность мелких млекопитающих хантавирусами составила 7,0 % для рыжих полевков, 5,8 % для обыкновенных полевков, 25,0 % для бурозубок обыкновенных и 33,3 % для малых бурозубок.

Положительные образцы секвенированы с праймерами, фланкирующими фрагмент L-сегмента длиной 347–348 нуклеотидов. На основании полученных последовательностей и последовательностей из

базы данных GenBank построено филогенетическое дерево, позволяющее определить их видовую принадлежность (рис. 1).

Филогенетический анализ показал наличие вирусов Сивис, Тула и Пуумала среди полученных образцов (рис. 1). Результаты секвенирования вирусных последовательностей представлены в табл. 2.

Таблица 2 / Table 2

Данные о результатах секвенирования хантавирусов в мелких млекопитающих, отловленных в осенний период 2023 г. в РБ
Results of sequencing of hantaviruses in small mammals captured in the Republic of Bashkortostan in the autumn of 2023

№ образца проб полевого материала No. of the field material sample	Название вида мелких млекопитающих, источника изоляции хантавируса Name of small mammal species, source of hantavirus isolation	Вид хантавируса Hantavirus species	Сегмент, длина, нт Segment, length, nt	GenBank, ID
47	Бурозубка обыкновенная Common shrew	Сивис Seewis	L, 348	PP375544
69	Бурозубка обыкновенная Common shrew	Сивис Seewis	L, 348	PP375545
75	Бурозубка обыкновенная Common shrew	Сивис Seewis	L, 348	PP375546
76	Бурозубка обыкновенная Common shrew	Сивис Seewis	L, 348	PP375547
117	Бурозубка обыкновенная Common shrew	Сивис Seewis	L, 348	PP375548
127	Бурозубка обыкновенная Common shrew	Сивис Seewis	L, 348	PP375549
142	Полевка обыкновенная Common vole	Тула Tula	L, 347	PP375541
161	Полевка обыкновенная Common vole	Тула Tula	L, 347	PP375542
164	Полевка обыкновенная Common vole	Тула Tula	L, 347	PP375543
250	Бурозубка малая Pygmy shrew	Сивис Seewis	L, 348	PP375550
256	Бурозубка обыкновенная Common shrew	Сивис Seewis	L, 348	PP375551
265	Полевка рыжая Bank vole	Пуумала Puumala	L, 347	PP375539
			L, 491	PP375552
			M, 502	PP375556
			S, 503	PP375559
268	Полевка рыжая Bank vole	Пуумала Puumala	L, 347	PP375540
			L, 491	PP375553
			M, 502	PP375557
294	Полевка рыжая Bank vole	Пуумала Puumala	S, 503	PP375558
			L, 347	PP375538
			L, 491	PP375554
			M, 502	PP375555
294	Полевка рыжая Bank vole	Пуумала Puumala	S, 503	PP375560

Таким образом, данное исследование показало совпадение результатов работы методики ОТ-ПЦР для выявления РНК вирусов Пуумала/Добрава и вложенной ПЦР с использованием родоспецифичных праймеров с последующим секвенированием.

Для образцов № 265, 268 и 294 получены последовательности вируса Пуумала, соответствующие каждому из трех сегментов геномной РНК. Для построения дендрограмм также использованы последовательности из базы данных GenBank. Филогенетические деревья построены на основании выравниваний, соответствующих 491 нуклеотиду L-сегмента, 502 нуклеотидам M-сегмента и 357 нуклеотидам S-сегмента, соответствующим кодирующим частям последовательностей (рис. 2).

Различия в топологии филогенетических деревьев по L- и M-сегментам свидетельствуют о реас-

сортационном событии, произошедшем на территории РБ. Малая длина полученных последовательностей не позволяет также исключить, что данные различия получились в результате рекомбинации. Что касается S-сегмента, длина последовательности в 357 нуклеотидов не позволяет делать выводы на основании дендрограммы с недостаточным разрешением узлов. Внутривидовая реассортация между различными генетическими вариантами хантавируса Пуумала согласуется с литературными данными [16–19].

Циркуляция хантавируса Сивис установлена в популяциях обыкновенной бурозубки (*S. araneus*) на территории Уфы, Кармаскалинского и Калтасинского районов, а также малой бурозубки (*S. minutus*) на территории н.п. Юматово Уфимского района; хантавируса Тула – в популяциях полевки обыкновенной

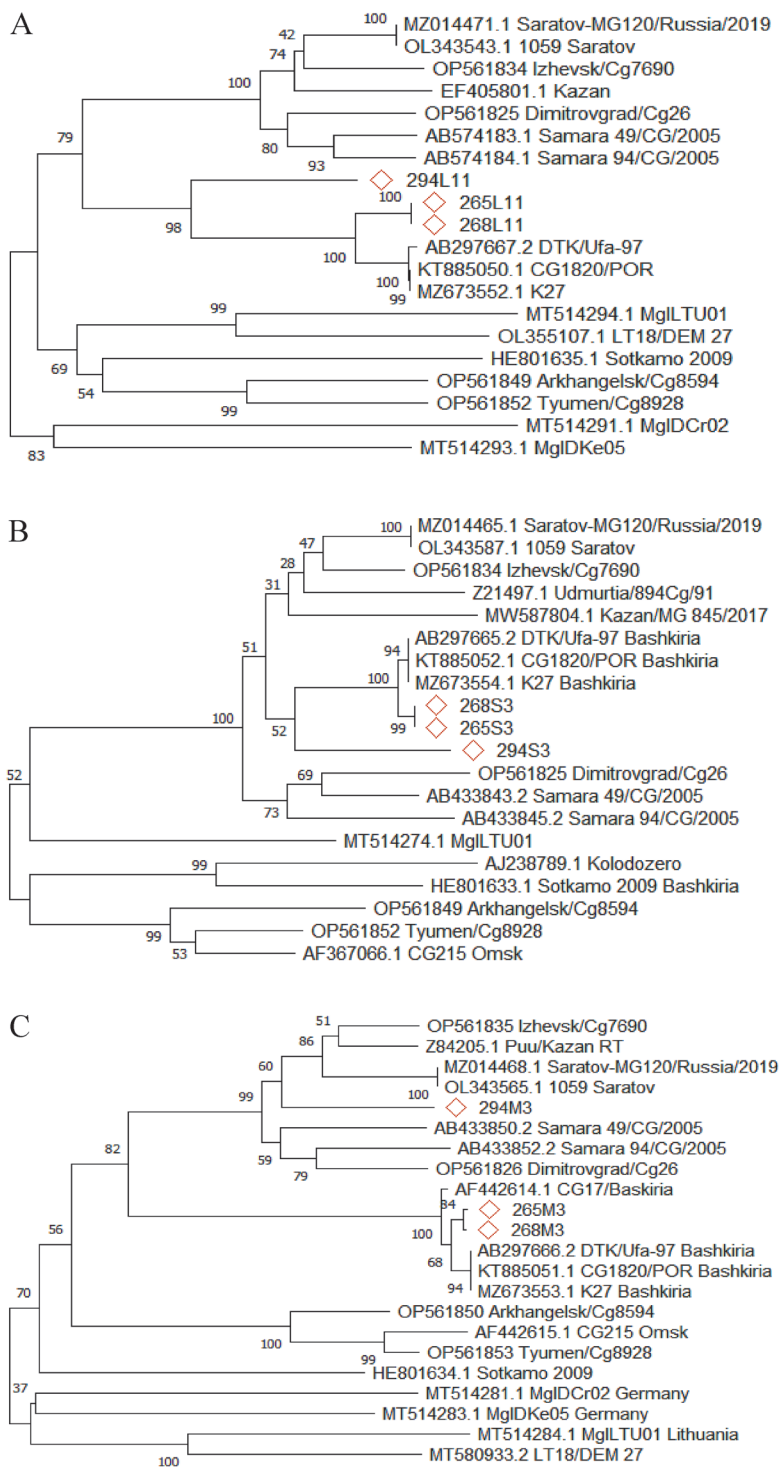


Рис. 2. Филогенетические деревья, построенные на основании выравниваний:

A – 491 нуклеотид L-сегмента (частичная открытая рамка считывания, OPC); B – 502 нуклеотида M-сегмента (частичная OPC); C – 357 нуклеотидов S-сегмента (частичная OPC); последовательности, полученные в этом исследовании, выделены маркировкой

Fig. 2. Phylogenetic trees based on alignments:

A – 491 nucleotides of the L segment (partial open reading frame, ORF); B – 502 nucleotides of the M segment (partial ORF); C – 357 nucleotides of the S segment (partial ORF); sequences obtained in this study are marked with icons

(*M. arvalis*) на территории Калтасинского района (табл. 3).

Таким образом, циркуляция хантавирусов Пуумала, Сивис, Тула подтверждена генетическими методами в популяциях мелких млекопитающих, которые являются их природными резервуарами, то есть результаты исследований полностью согласуются с литературными данными [12, 13, 20]. Полученные результаты также свидетельствуют о формировании сочетанных природных очагов хантавирусов Пуумала, Сивис, Тула на территории РБ. Циркуляция непатогенных и условно-патогенных видов хантави-

русов Сивис и Тула впервые установлена на территории РБ и оценка эпидемиологических последствий их сочетанной циркуляции требует дополнительных исследований. В этом плане особый эпидемиологический интерес представляет регистрация хантавируса Сивис на территории Уфы и сельских населенных пунктов Уфимского, Кармаскалинского и Калтасинского районов, что усиливает риски заражения этим вирусом человека.

Несмотря на то, что случаев заражения хантавирусом Сивис не зарегистрировано, а для хантавируса Тула подтверждены лишь единичные случаи заболе-

Таблица 3 / Table 3

Видовой спектр мелких млекопитающих, инфицированных хантавирусами, по городам и административным районам РБ в осенний период 2023 г.

Species spectrum of small mammals infected with hantaviruses, distributed by different regions and cities of the Republic of Bashkortostan, collected in the autumn of 2023

Название хантавируса Hantavirus	Видовое название мелкого млекопитающего Mammal species	Количество зараженных особей, экз. Number of infected specimens, pcs	Название города, административного района City, administrative region
Сивис Seewis	Бурозубка обыкновенная Common shrew	7	г. Уфа, Кармаскалинский (н.п. Кармаскалы, н.п. Кабаково), Калтасинский Ufa, Karmaskalinsky region (Karmaskaly settlement, Kabakovo settlement), Kaltasinsky region
	Бурозубка малая Pygmy shrew	1	Уфимский (н.п. Юматово) Ufimsky region (Umatovo settlement)
Тула Tula	Полевка обыкновенная Common vole	3	Калтасинский Kaltasinsky region
Пуумала Puumala	Полевка рыжая Bank vole	3	г. Октябрьский, Уфимский (н.п. Черкассы) Oktyabrsky city, Ufimsky region (Cherkassy settlement)

вания ГЛПС [21, 22], потенциальная эпидемическая опасность территории РБ при сочетанной циркуляции хантавирусов Сивис, Тула и Пуумала значительно возросла.

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. Все стадии исследования соответствовали законодательству РФ, международным этическим нормам и нормативным документам учреждения.

Список литературы

1. Савицкая Т.А., Иванова А.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифонов В.А., Зиягдинов 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.
2. Малеев В.В., Токмалаев А.К., Кожевникова Г.М., Голуб В.П., Половинкина Н.А., Харламова Т.В., Коннов В.В., Барышева И.В., Емероле К.Ч. Хантавирусная инфекция. Успехи и проблемы. *Инфекционные болезни.* 2021; 19(1):110–8. DOI: 10.20953/1729-9225-2021-1-110-118.
3. Tkachenko E.A., Ishmukhametov A.A., Dzagurova T.K., Bernshtein A.D., Morozov V.G., Siniugina A.A., Kurashova S.S., Balkina A.S., Tkachenko P.E., Kruger D.H., Klempa B. Hemorrhagic fever with renal syndrome, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(12):2325–8. DOI: 10.3201/eid2512.181649.
4. Мочалкин П.А., Мочалкин А.П., Степанов Е.Г., Фарвазова Л.А., Попов Н.В., Немцова С.Н. Особенности динамики заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Республике Башкортостан. *Дезинфекционное дело.* 2021; 2:44–50. DOI: 10.35411/2076-457X-2021-2-44-50.
5. Мочалкин П.А., Мочалкин А.П., Фарвазова Л.А., Попов Н.В., Девятков М.Ю. О циклических проявлениях динамики заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в Российской Федерации. *Дезинфекционное дело.* 2023; 2:57–66. DOI: 10.35411/2076-457X-2023-2-57-66.
6. Транквилевский Д.В. Об инфицированности мелких млекопитающих возбудителями зоонозов в Российской Федерации. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО.* 2016; 10:53–6.
7. Ткаченко Е.А., Ишмухаметов А.А. История изучения этиологии геморрагической лихорадки с почечным синдромом. *Медицинский совет.* 2017; 4:86–92. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-4-86-92.
8. 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.

9. 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.

10. Мочалкин П.А., Мочалкин А.П., Казак А.А., Фарвазова Л.А., Скотарева М.А., Иванова О.В., Попов Н.В. К вопросу формирования сочетанных природных очагов хантавирусов Пуумала и Добrava-Белград в Республике Башкортостан. *Пест-менеджмент.* 2022; 1:5–12. DOI: 10.25732/PM.2022.121.1.001.

11. Малецкая О.В., Таран Т.В., Прислегина Д.А., Платонов А.Е., Дубянский В.М., Волынкина А.С., Василенко Н.Ф., Тохов Ю.Н., Цапко Н.В. Природно-очаговые вирусные лихорадки на юге европейской части России. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2019; 4:79–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-79-84.

12. Schlegel M., Kindler E., Essbauer S.S., Wolf R., Thiel J., Groschup M.H., Heckel G., Oehme R.M., Ulrich R.G. Tula virus infections in the Eurasian water vole in Central Europe. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12(6):503–13. DOI: 10.1089/vbz.2011.0784.

13. Яшина Л.Н., Абрамов С.А., Дупал Т.А., Якименко В.В., Танцев А.К., Мальшев Б.С., Карташов М.Ю. Хантавирусы в популяции насекомоядных на территории Сибири. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2018; 4:89–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-89-93.

14. Klempa B., Fichet-Calvet E., Lecompte E., Auste B., Aniskin V., Meisel H., Denys C., Koivogui L., ter Meulen J., Krüger D.H. Hantavirus in African wood mouse, Guinea. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(5):838–40. DOI: 10.3201/eid1205.051487.

15. Blinova E., Deviatkin A., Kurashova S., Balovneva M., Volgina I., Valdokhina A., Bulanenko V., Popova Y., Belyakova A., Dzagurova T. A fatal case of haemorrhagic fever with renal syndrome in Kursk Region, Russia, caused by a novel Puumala virus clade. *Infect. Genet. Evol.* 2022; 102:105295. DOI: 10.1016/j.meegid.2022.105295.

16. Castel G., Chevenet F., Razzauti M., Murri S., Marianneau P., Cosson J.F., Tordo N., Plyusnin A. Phylogeography of Puumala orthohantavirus in Europe. *Viruses.* 2019; 11(8):679. DOI: 10.3390/v11080679.

17. Blinova E., Deviatkin A., Makenov M., Popova Y., Dzagurova T. Evolutionary formation and distribution of Puumala virus genome variants, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2023; 29(7):1420–4. DOI: 10.3201/eid2907.221731.

18. Kabwe E., Davidyuk Y., Shamsutdinov A., Garanina E., Martynova E., Kitaeva K., Malisheni M., Isaeva G., Savitskaya T., Urbanowicz R.A., Morzunov S., Katongo C., Rizvanov A., Khaiboullina S. Orthohantaviruses, emerging zoonotic pathogens. *Pathogens.* 2020; 9(9):775. DOI: 10.3390/pathogens9090775.

19. Klempa B. Reassortment events in the evolution of hantaviruses. *Virus Genes.* 2018; 54(5):638–46. DOI: 10.1007/s11262-018-1590-z.

20. Garanina S.B., Platonov A.E., Zhuravlev V.I., Murashkina A.N., Yakimenko V.V., Korneev A.G., Shipulin G.A. Genetic diver-

sity and geographic distribution of hantaviruses in Russia. *Zoonoses Public Health*. 2009; 56(6-7):297–309. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2008.01210.x.

21. Hofmann J., Kramer S., Herrlinger K.R., Jeske K., Kuhns M., Weiss S., Krüger D.H. Tula virus as causative agent of hantavirus disease in immunocompetent person, Germany. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(4):1234–7. DOI: 10.3201/eid2704.203996.

22. Reynes J.M., Carli D., Boukezia N., Debruyne M., Herti S. Tula hantavirus infection in a hospitalised patient, France, June 2015. *Euro Surveill.* 2015; 20(50). DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.50.30095.

References

1. Savitskaya T.A., Ivanova A.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Trifonov V.A., Ziatdinov V.B., Magarramov Sh.V., Khusainova R.M., Trankvilevsky D.V. [Analysis of the epidemiological situation on 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.

2. Maleev V.V., Tokmalaev A.K., Kozhevnikova G.M., Golub V.P., Polovinkina N.A., Kharlamova T.V., Konnov V.V., Barysheva I.V., Emerole K.Ch. [Hantavirus infection. Achievements and challenges]. *Infektsionnye Bolezni [Infectious Diseases]*. 2021; 19(1):110–8. DOI: 10.20953/1729-9225-2021-1-110-118.

3. Tkachenko E.A., Ishmukhametov A.A., Dzagurova T.K., Bernshtein A.D., Morozov V.G., Siniugina A.A., Kurashova S.S., Balkina A.S., Tkachenko P.E., Kruger D.H., Klempa B. Hemorrhagic fever with renal syndrome, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25(12):2325–8. DOI: 10.3201/eid2512.181649.

4. Mochalkin P.A., Mochalkin A.P., Stepanov E.G., Farvazova L.A., Popov N.V., Nemtsova S.N. [Features of the dynamics of hemorrhagic fever with renal syndrome incidence in the Republic of Bashkortostan]. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]*. 2021; (2):44–50. DOI: 10.35411/2076-457X-2021-2-44-50.

5. Mochalkin P.A., Mochalkin A.P., Farvazova L.A., Popov N.V., Devyatkov M.Yu. [On the cyclical manifestations of the dynamics of the incidence of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Russian Federation]. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]*. 2023; (2):57–66. DOI: 10.35411/2076-457x-2023-2-57-66.

6. Trankvilevsky D.V. [Concerning infection of small mammals with pathogens of zoonoses in the Russian Federation]. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya [Public Health and Life Environment]*. 2016; (10):53–6.

7. Tkachenko E.A., Ishmukhametov A.A. [History of the study of hemorrhagic fever infection with renal syndrome]. *Meditsinsky Sovet [Medical Council]*. 2017; (4):86–92. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-4-86-92.

8. 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.

9. 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 research perspectives)]. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika [Epidemiology and Vaccinal Prevention]*. 2016; 15(3):23–34. DOI: 10.31631/2073-3046-2016-15-3-23-34.

10. Mochalkin P.A., Mochalkin A.P., Kazak A.A., Farvazova L.A., Skotareva M.A., Ivanova O.V., Popov N.V. [To the issue of generation of combined natural foci of Puumala and Kurkino hantaviruses in the Republic of Bashkortostan]. *Pest-Management*. 2022; (1):5–12. DOI: 10.25732/PM.2022.121.1.001.

11. Maletskaya O.V., Taran T.V., Prislegina D.A., Platonov A.E., Dubyansky V.M., Volynkina A.S., Vasilenko N.F., Tokhov Yu.N., Tsapko N.V. [Natural focal viral fevers in the south of the European part of Russia. Hemorrhagic fever with renal syndrome]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2019; (4):79–84. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-4-79-84.

12. Schlegel M., Kindler E., Essbauer S.S., Wolf R., Thiel J., Groschup M.H., Heckel G., Oehme R.M., Ulrich R.G. Tula virus infections in the Eurasian water vole in Central Europe. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012; 12(6):503–13. DOI: 10.1089/vbz.2011.0784.

13. Yashina L.N., Abramov S.A., Dupal T.A., Yakimenko V.V., Tantsev A.K., Malyshev B.S., Kartashov M.Yu. [Hantaviruses in insectivore populations in Siberia]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2018; (4):89–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-89-93.

14. Klempa B., Fichet-Calvet E., Lecompte E., Auste B., Aniskin V., Meisel H., Denys C., Koivogui L., ter Meulen J., Krüger D.H. Hantavirus in African wood mouse, Guinea. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12(5):838–40. DOI: 10.3201/eid1205.051487.

15. Blinova E., Deviatkin A., Kurashova S., Balovneva M., Volgina I., Valdokhina A., Bulanenko V., Popova Y., Belyakova A., Dzagurova T. A fatal case of haemorrhagic fever with renal syndrome in Kursk Region, Russia, caused by a novel Puumala virus clade. *Infect. Genet. Evol.* 2022; 102:105295. DOI: 10.1016/j.meegid.2022.105295.

16. Castel G., Chevenet F., Razzauti M., Murri S., Marianneau P., Cosson J.F., Tordo N., Plyusnin A. Phylogeography of Puumala orthohantavirus in Europe. *Viruses*. 2019; 11(8):679. DOI: 10.3390/v11080679.

17. Blinova E., Deviatkin A., Makenov M., Popova Y., Dzagurova T. Evolutionary formation and distribution of Puumala virus genome variants, Russia. *Emerg. Infect. Dis.* 2023; 29(7):1420–4. DOI: 10.3201/eid2907.221731.

18. Kabwe E., Davidiyuk Y., Shamsutdinov A., Garanina E., Martynova E., Kitaeva K., Malisheni M., Isaeva G., Savitskaya T., Urbanowicz R.A., Morzunov S., Katongo C., Rizvanov A., Khaiboullina S. Orthohantaviruses, emerging zoonotic pathogens. *Pathogens*. 2020; 9(9):775. DOI: 10.3390/pathogens9090775.

19. Klempa B. Reassortment events in the evolution of hantaviruses. *Virus Genes*. 2018; 54(5):638–46. DOI: 10.1007/s11262-018-1590-z.

20. Garanina S.B., Platonov A.E., Zhuravlev V.I., Murashkina A.N., Yakimenko V.V., Korneev A.G., Shipulin G.A. Genetic diversity and geographic distribution of hantaviruses in Russia. *Zoonoses Public Health*. 2009; 56(6-7):297–309. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2008.01210.x.

21. Hofmann J., Kramer S., Herrlinger K.R., Jeske K., Kuhns M., Weiss S., Krüger D.H. Tula virus as causative agent of hantavirus disease in immunocompetent person, Germany. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27(4):1234–7. DOI: 10.3201/eid2704.203996.

22. Reynes J.M., Carli D., Boukezia N., Debruyne M., Herti S. Tula hantavirus infection in a hospitalised patient, France, June 2015. *Euro Surveill.* 2015; 20(50). DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.50.30095.

Authors:

Mochalkin P.A. Republican Center for Disinfection; 127/1, Mingazheva St., Ufa, 450005, Republic of Bashkortostan, Russian Federation; e-mail: dezufa@dez-ufa.ru. Bashkir State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation; 3, Lenina St., Ufa, 450008, Republic of Bashkortostan, Russian Federation.

Akimkin V.G., Ugleva S.V., Morozkin E.S., Blinova E.A., Sycheva K.A., Skripnichenko D.D., Bondarenko T.A., Epik Yu.O., Makenov M.T. Central Research Institute of Epidemiology. 3a, Novogireevskaya St., Moscow, 111123, Russian Federation. E-mail: crie@pcr.ru.

Kazak A.A., Popova A.K. Rosпотребнадзор Administration in the Republic of Bashkortostan. 58, Richard Sorge St., Ufa, 450054, Republic of Bashkortostan, Russian Federation. E-mail: rpnr@02.rosпотребнадzor.ru.

Skotareva M.A., Ivanova O.V., Garifullin B.R. Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Bashkortostan. 7, Shafieva St., Ufa, 450054, Republic of Bashkortostan, Russian Federation. E-mail: fguz@02.rosпотребнадzor.ru.

Popov N.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Об авторах:

Мочалкин П.А. Республиканский центр дезинфекции; Российская Федерация, 450005, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Мингажева, 127/1; e-mail: dezufa@dez-ufa.ru. Башкирский государственный медицинский университет; Российская Федерация, 450008, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Ленина, 3.

Акимкин В.Г., Углева С.В., Морозкин Е.С., Блинова Е.А., Сычева К.А., Скрипниченко Д.Д., Бондаренко Т.А., Эпик Ю.О., Мakenov M.T. Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии. Российская Федерация, 111123, Москва, ул. Новогиреевская, 3а. E-mail: crie@pcr.ru.

Казак А.А., Попова А.К. Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Республике Башкортостан. Российская Федерация, 450054, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Рихарда Зорге, 58. E-mail: rpnr@02.rosпотребнадzor.ru.

Скотарева М.А., Иванова О.В., Гарифуллин Б.Р. Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан. Российская Федерация, 450054, Республика Башкортостан, Уфа, ул. Шафиева, 7. E-mail: fguz@02.rosпотребнадzor.ru.

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

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-148-156

УДК 616.98:579.841.95

Н.А. Осина, Д.А. Ситмбетов, О.А. Морозов, Е.Г. Булгакова, А.В. Осин, С.С. Чекмарева, Е.В. Сазанова, А.М. Сеничкина, О.Ю. Ляшова, Т.А. Полунина, Я.М. Краснов, З.Л. Девдариани, С.А. Щербакова

Внутривидовая дифференциация штаммов *Francisella tularensis* с помощью молекулярно-генетических методов. Комплексный подход

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

Цель исследования – разработка алгоритма внутривидовой дифференциации штаммов возбудителя туляремии с использованием комплекса подходов, основанных на амплификационных и секвенационных технологиях. **Материалы и методы.** В работе использовали 97 штаммов *Francisella tularensis* различных подвигов, биоваров и субпопуляций. Внутривидовую принадлежность штаммов возбудителя туляремии осуществляли с использованием системы «*F. tularensis*-4с», анализа варибельности области дифференциации RD1, гена *sdhA*, диско-диффузионным методом с использованием дисков с эритромицином. Фрагментное секвенирование по Сэнгеру осуществляли на генетическом анализаторе 3500 XL (Applied Biosystems, США) с учетом рекомендаций производителя. Оценку гомологии последовательностей – по алгоритму BLAST, используя базу данных GenBank NCBI, программы MEGA11 v11.0.13 и Unipro UGENE v50.0. **Результаты и обсуждение.** Выявлены подвидо- и биовароспецифичные мутации в гене 23S рРНК. Определены перспективные для изучения участки данного гена с помощью фрагментного секвенирования. Предложена комплексная схема внутривидовой дифференциации штаммов туляремийного микроба, где на первом этапе проводится определение подвиговой принадлежности и биовара японика, а на втором – верификация полученных результатов на основании определения мутаций в гене 23S рРНК. Эффективность предложенного комплексного подхода подтверждена при исследовании 97 коллекционных штаммов возбудителя туляремии. Проведенные исследования позволяют осуществить быструю идентификацию штаммов разных подвигов туляремийного микроба и верифицировать их таксономическую принадлежность с помощью молекулярно-генетических методов, дополняют данные о циркуляции различных подвигов, биоваров и субпопуляций патогена на территории Европы, Азии и других регионов мира.

Ключевые слова: внутривидовая дифференциация, *Francisella tularensis*, биовары, подвиды, алгоритм, комплексный подход, амплификационные и секвенационные технологии.

Корреспондирующий автор: Осина Наталья Александровна, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Для цитирования: Осина Н.А., Ситмбетов Д.А., Морозов О.А., Булгакова Е.Г., Осин А.В., Чекмарева С.С., Сазанова Е.В., Сеничкина А.М., Ляшова О.Ю., Полунина Т.А., Краснов Я.М., Девдариани З.Л., Щербакова С.А. Внутривидовая дифференциация штаммов *Francisella tularensis* с помощью молекулярно-генетических методов. Комплексный подход. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 2:148–156. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-148-156

Поступила 02.04.2024. Отправлена на доработку 11.04.2024. Принята к публ. 06.06.2024.

N.A. Osina, D.A. Sitmbetov, O.A. Morozov, E.G. Bulgakova, A.V. Osin, S.S. Chekmareva, E.V. Sazanova, A.M. Senichkina, O.Yu. Lyashova, T.A. Polunina, Ya.M. Krasnov, Z.L. Devdariani, S.A. Shcherbakova

Intraspecific Differentiation of *Francisella tularensis* Strains Using Molecular-Genetic Methods. Complex Approach

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

Abstract. The aim of the study was to develop an algorithm for intraspecific differentiation of tularemia agent strains using a set of approaches based on amplification and sequencing technologies. **Materials and methods.** 97 strains of *Francisella tularensis* of various subspecies, biovars and subpopulations from the State Collection of Pathogenic Bacteria of the Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe” were used in the work. The intraspecific identification of tularemia agent strains was carried out using the “*F. tularensis*-4c” system; analysis of the variability of the RD1 differentiation region, the *sdhA* gene, by applying the disk diffusion method using disks with erythromycin. Fragment Sanger sequencing was performed on a 3500 XL genetic analyzer (Applied Biosystems, USA) taking into account the manufacturer’s recommendations. Sequence homology assessment was conducted using the BLAST algorithm, the GenBank NCBI database, MEGA11 v11.0.13 and Unipro UGENE v50.0 software. **Results and discussion.** Subspecies- and biovar-specific mutations have been detected in the 23S rRNA gene. Promising regions of this gene for further investigation have been identified using fragment sequencing. A comprehensive scheme for intraspecific differentiation of tularemia microbe strains has been put forward, where at the first stage the subspecies and biovar japonica are determined, and at the second stage, the results are verified based on the determination of mutations in the 23S rRNA gene. The effectiveness of the proposed integrated approach has been confirmed in a study of 97 collection strains of tularemia agent. The conducted research allows for rapid identification of tularemia agent strains of different subspecies and verification of their taxonomic appurtenance using molecular-genetic methods, expanding data on the circulation of various subspecies, biovars and subpopulations of the pathogen in Europe, Asia and other regions of the world.

Key words: intraspecific differentiation, *Francisella tularensis*, biovars, subspecies, algorithm, integrated approach, amplification and sequencing technologies.

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

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

Corresponding author: Natalia A. Osina, e-mail: rusrap@microbe.ru.

Citation: Osina N.A., Sitmbetov D.A., Morozov O.A., Bulgakova E.G., Osin A.V., Chekmareva S.S., Sazanova E.V., Senichkina A.M., Lyashova O.Yu., Polunina T.A., Krasnov Ya.M., Devdariani Z.L., Shcherbakova S.A. Intraspecific Differentiation of *Francisella tularensis* Strains Using Molecular-Genetic Methods. Complex Approach. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:148–156. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-148-156

Received 02.04.2024. Revised 11.04.2024. Accepted 06.06.2024.

Osina N.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0954-5683>
 Sitmbetov D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2766-2624>
 Bulgakova E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2405-2684>
 Osin A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5308-0022>
 Chekmareva S.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5487-2240>
 Sazanova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9140-3910>

Senichkina A.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1026-2680>
 Lyashova O.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1332-9580>
 Polunina T.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2234-2760>
 Krasnov Ya.M., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4909-2394>
 Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>

Идентификация штаммов туляремийного микроба предусматривает определение принадлежности к подвиду, биовару и субпопуляции патогена. Важность такой дифференциации связана с отличиями по вирулентности штаммов возбудителя туляремии, относящихся к различным внутривидовым таксонам [1]. В настоящее время выделяют четыре подвида *Francisella tularensis*: *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* и *novicida*; при этом подвид *tularensis* имеет две субпопуляции – AI и AII, *holarctica* – три биовара: *japonica*, эритромицинустойчивый Ery^R , эритромицинчувствительный Ery^S [2, 3].

В последние годы для определения подвидовой принадлежности возбудителя туляремии широкое применение получили молекулярно-генетические методы. Среди них особое место занимает полимеразная цепная реакция (ПЦР). С использованием различных вариантов данного метода (ПЦР с гибридационно-флуоресцентной [ПЦР-РВ] или электрофоретической [ПЦР-ЭФ] детекцией, RAPD) предложены подходы для дифференциации как отдельных подвигов и биоваров патогена [3–5], так и практически всех внутривидовых таксонов [6–11]. Однако все разработанные способы не позволяют определять принадлежность штаммов голарктического подвида к биоварам Ery^R и Ery^S . Ряд авторов показали возможность дифференциации этих биоваров на основании выявления единичной мутации в гене 23S рРНК: A2059C (нумерация нуклеотидов по последовательности *Escherichia coli*) [12–14].

Возможность образования мутаций в геноме туляремийного микроба определяет необходимость использования для внутривидовой дифференциации нескольких подходов на основе молекулярно-генетических технологий, которые направлены на выявление различных ДНК-мишеней: отдельных генов, участков, содержащих INDEL-маркеры или полиморфные нуклеотиды (SNP). В связи с этим представляется перспективным создание комплексной системы определения внутривидовой принадлежности штаммов туляремийного микроба, которая позволила бы, с одной стороны, выявить все подвиды, биовары и субпопуляции патогена, а с другой – верифицировать результаты исследования.

Целью работы является разработка алгоритма внутривидовой дифференциации штаммов возбудителя туляремии с использованием комплекса подходов, основанных на амплификационных и секвенационных технологиях.

Материалы и методы

Объектом исследования служили 97 штаммов туляремийного микроба из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, из них подвида *tularensis* AI – 2, *tularensis* AII – 4, *mediasiatica* – 3, *holarctica* bv. Ery^R – 53, *holarctica* bv. Ery^S – 29, *holarctica* bv. *japonica* – 4, *novicida* – 2. Штаммы культивировали на FT-агаре (ФБУН ГНЦ ПМБ) в течение 36–48 ч при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. Из выросших культур готовили суспензии в 2 мл 0,9 % раствора натрия хлорида по фармакопейному Стандартному образцу мутности бактериальных взвесей 10 МЕ ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, что соответствовало $5\cdot 10^9$ м.к./мл. Обеззараживание проб осуществляли в соответствии с МУ 1.3.2569-09. Выделение ДНК проводили с помощью набора реагентов «ДНК-сорб-В» в соответствии с инструкцией производителя.

Определение чувствительности штаммов туляремийного микроба к эритромицину осуществляли диско-диффузионным методом с использованием дисков с антибиотиком 15 мкг/мл (Oxoid Ltd, Великобритания).

Для проведения реакции амплификации применяли 10хПЦР-Буфер-Б, 25 мМоль MgCl_2 , 25 мМоль смеси дНТФ, фермент *SynTaq* ДНК-полимеразу с активностью 5 ед/мкл с ингибирующими активностью фермента антителами (ООО «Синтол», Россия).

Амплификацию осуществляли в реакционной смеси, содержащей 10 пМоль соответствующих праймеров, 0,2 мМоль дНФ, 2,5 ед. фермента, по следующей программе: 95°C – 5 мин; 40 циклов 95°C – 20 с, 60°C – 30 с, 72°C – 1 мин; 72°C – 5 мин.

Постановку ПЦР с гибридационно-флуоресцентным учетом результатов осуществляли на приборе типа CFX96 (Bio-Rad, США), а с электрофоретической детекцией – на амплификаторе Mastercycler nexus (Eppendorf, Германия), визуализируя ампликоны в 2 % агарозном геле.

Определение подвидовой принадлежности с использованием разработанной нами системы «*F. tularensis*-4с» осуществляли в соответствии с описанными ранее условиями [7], на основании анализа вариабельности области дифференциации RD1 – методом ПЦР с электрофоретической детекцией, как указано в рекомендациях ВОЗ [5], и на основании выявления полиморфных нуклеотидов в гене *sdhA* – в соответствии с представленными данными [7].

Фрагментное секвенирование по Сэнгеру осуществляли на генетическом анализаторе 3500 XL (Applied Biosystems, США) с учетом рекомендаций производителя. Для оценки гомологии последовательностей использовали алгоритм BLAST и базу данных GenBank NCBI, программу MEGA11 v11.0.13 [16], дизайн праймеров и ПЦР *in silico* Unipro UGENE v50.0 [17].

Результаты и обсуждение

Оценка возможности и эффективности внутривидовой дифференциации штаммов туляреминого микроба на основании изучения варибельности гена 23S рРНК. Ранее Н. Rossow *et al.* [18] показали эффективность применения гена 23S рРНК в качестве ДНК-мишени для выявления и идентификации штаммов туляреминого микроба, используя секвенирование фрагмента данного гена размером 834 п.н. Авторы определили принадлежность выявленного в пробе патогена к *F. tularensis holarctica*. В работе Е. Karlsson *et al.* [14] показаны единичные мутации, специфичные для голарктического подвида возбудителя туляремии: G160A, C1151T, T1340C, T2123C, C2716T; а также для его биоваров Ery^{SR}: C588T, C1397T, C1526T, G2444A, C2519T, T2673T. Несмотря на проанализированное авторами ограниченное количество штаммов и не всех подвидов, было заявлено о возможности дифференциации подвида *holarctica* туляреминого микроба и его биоваров на основании определения единичных мутаций в гене 23S рРНК.

Ввиду небольшого количества представленных на тот момент в GenBank полногеномных последовательностей *F. tularensis* в упомянутых работах сравнение нуклеотидных последовательностей гена 23S рРНК проводилось с аналогичным геном *E. coli*. Но гены 23S рРНК туляреминого микроба и кишечной палочки имеют значительные различия. Поэтому мы использовали в качестве референтного штамма *F. tularensis tularensis* AI SchuS4 (GenBank № AJ749949.2), а не *E. coli*. Сравнительный анализ последовательностей генов 23S рРНК референтных штаммов всех подвидов и биоваров возбудителя туляремии, представленных в базе данных GenBank: *F. tularensis tularensis* AI SchuS4 (GenBank № AJ749949.2) – референс, *F. tularensis tularensis* AII WY96-3418 (CP000608.1), *F. tularensis mediasiatica* FSC147 (CP000915.1), *F. tularensis holarctica* japonica KU-1 (AP023460.1), *F. tularensis holarctica* Ery^S OSU18 (CP000437.1), *F. tularensis holarctica* Ery^R FSC200 (CP003862.1), *F. tularensis novicida* U-112 (табл. 1), – подтверждает биспецифичность мутаций C588T, C1397T, C1526T, G2444A, C2519T, T2673T для биоваров Ery^{SR} *F. tularensis holarctica*, заявленную в работе Е. Karlsson *et al.* [14].

В то же время специфичные (по данным авторов) для голарктического подвида SNP: G160A, T1340C – оказались характерны также для *F. tula-*

rensis novicida. Помимо этого, нами выявлены три мутации, встречающиеся только у *F. tularensis mediasiatica* (A1375G, G2049A, A2707G), восемь – у *F. tularensis novicida* (G133A, C137T, G143A, T159C, C342G, G1303T, A1477G, T2402C). Установлено, что штаммы *F. tularensis tularensis* AII имеют замену в позиции 2155 (G→A), а для штаммов *F. tularensis tularensis* AI специфично наличие нуклеотида A905, который у всех других подвидов и биоваров заменен на нуклеотид G. Еще одной интересной и важной находкой оказались две нуклеотидные замены, позволяющие различать эритромицинчувствительный и эритромицинрезистентный биовары голарктического подвида – A2052C и A449G. Полученные данные позволили предложить в качестве ДНК-мишени для внутривидовой дифференциации туляреминого микроба определенные фрагменты гена 23S рРНК и таксонспецифичные полиморфные нуклеотиды, которые необходимо использовать для проведения анализа.

Работа по подтверждению специфичности и стабильности выявленных *in silico* мутаций гена 23S рРНК проведена на 48 штаммах туляреминого микроба, для которых ранее другими методами нами была определена подвидовая, биоварная и субпопуляционная принадлежность [7]. Для исследования подобраны две пары праймеров, обеспечивающие амплификацию фрагментов гена с 200 по 698 н. (23S FT-200 5'-ATTGAGATTCCCGTAGTAGTG-3'; 23S FT-698 5'-GTACTACCTAATCTTCAACCTG-3') и с 1700 по 2295 н. (23S FT-1700 5'-GTAACCTTTGGAAGAAGGTGTG-3'; 23S FT-2295 5'-ACCTTCGTACTCCTCCGTTAC-3').

Показано, что все исследованные штаммы туляреминого микроба подвидов *tularensis*, *mediasiatica*, *holarctica* с учетом биоварной и субпопуляционной принадлежности несут в изученных фрагментах гена 23S рРНК мутации, характерные для каждого таксона, выявленные нами для референтных штаммов *in silico* (табл. 2).

Однако при изучении фрагмента гена 200–698 н. у штамма *F. tularensis novicida* Like F6168 не обнаружена замена C342G, которая выявлена у штамма данного подвида U-112. В связи с этим нами изучен данный участок гена 23S рРНК у штаммов подвида *novicida*, представленных в базе данных GenBank NCBI. Результаты исследования в сравнении с данными варибельности данного гена у других подвидов представлены в табл. 1. Мутации G133A, C137T, G143A оказались специфичными только для штамма *F. tularensis novicida* U-112, мутации T159C, C342G, G1303T, A1477G в разной степени встречаются у культур данного подвида и только полиморфизм T2402C был характерен для всех выбранных для анализа штаммов *F. tularensis novicida*. Среди выявленных в этой области мутаций подвиговую специфичность для *F. tularensis novicida* определяла только мутация T2402C. Поэтому для идентификации этого подвида предложен дополнительный уча-

Таблица 1 / Table 1

Результаты сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена 23S рРНК у штаммов туляремийного микроба различных подвидов и биоваров
Results of a comparative analysis of the nucleotide sequence of the 23S rRNA gene in tularemia microbe strains of various subspecies and biovars

Подвиды и биовары <i>F. tularensis</i> Subspecies and biovars of <i>F. tularensis</i>	Позиции единичных мутаций в гене 23S рДНК (начиная от старт-кодона) Positions of single mutations in the 23S rDNA gene (beginning from the start codon)																										
	905	2155	1375	2049	2707	1151	2123	2716	588	1397	1526	2444	2519	2673	449	2052	160	1340	133	137	143	159	342	1303	1477	2402	
Референс / Reference	A	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	G	T	G	C	G	T	C	G	A	T	
FTT AI	A	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	G	T	G	C	G	T	C	G	A	T	
FTT AII	G	A	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	G	T	G	C	G	T	C	G	A	T	
FTM	G	G	G	A	G	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	G	T	G	C	G	T	C	G	A	T	
FTH japonica	G	G	A	G	A	T	C	T	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	G	C	G	T	C	G	A	T	
FTH EryS	G	G	A	G	A	T	C	T	T	T	A	T	C	T	A	A	A	C	G	C	G	T	C	G	A	T	
FTH EryR	G	G	A	G	A	T	C	T	T	T	A	T	C	T	G	C	A	C	G	C	G	T	C	G	A	T	
FTN	G	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	A	T	A	C	G	T	G	C	
Вариабельность в гене 23S рДНК у штаммов <i>F. tularensis novicida</i> Variability in the 23S rDNA gene in <i>F. tularensis novicida</i> strains																											
FTN U-112 (M-130)	G	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	A	T	A	C	G	T	G	C	
FTN AZ06-7470	G	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	G	C	G	C	C	T	G	C	
FTN F6168 (M-131)	G	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	G	C	G	C	C	G	G	C	
FTN AI.97-2214	G	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	G	C	G	C	C	G	G	C	
FTN Fx1	G	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	G	C	G	C	G	G	A	C	
FTN D9876	G	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	G	C	G	T	C	G	G	C	
FTN PA10-7858	G	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	G	C	G	C	C	G	G	C	
FTN DPG_3A-IS	G	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	G	C	G	C	C	G	G	C	
FTN TCH2015	G	G	A	G	A	C	T	C	C	C	C	G	C	T	A	A	A	C	G	C	G	C	C	G	A	C	

Примечания: FTT AI – *F. tularensis tularensis* AI, FTT AII – *F. tularensis tularensis* AII, FTM – *F. tularensis mediasiatica*, FTH japonica – *F. tularensis holartctica* japonica, FTH Ery^S – *F. tularensis holartctica* Ery^S, FTH Ery^R – *F. tularensis holartctica* Ery^R, FTN – *F. tularensis novicida*; серым цветом отмечены полиморфные нуклеотиды, характерные для определенных подвидов, биоваров и субпопуляций туляремийного микроба; референтный штамм *F. tularensis tularensis* AI SchuS4 (GenBank № AJ1749949.2).

Notes: FTT AI – *F. tularensis tularensis* AI, FTT AII – *F. tularensis tularensis* AII, FTM – *F. tularensis mediasiatica*, FTH japonica – *F. tularensis holartctica* japonica, FTH Ery^S – *F. tularensis holartctica* Ery^S, FTH Ery^R – *F. tularensis holartctica* Ery^R, FTN – *F. tularensis novicida*; gray color indicates polymorphic nucleotides characteristic of certain subspecies, biovars and subpopulations of tularemia microbe; reference strain – *F. tularensis tularensis* AI SchuS4 (GenBank No. AJ1749949.2).

Таблица 2 / Table 2

Результаты определения специфичности мутаций во фрагментах гена 23S рРНК
Results of determining the specificity of mutations in fragments of the 23S rRNA gene

Подвид, биовар, субпопуляция Subspecies, biovar, subpopulation	Штамм Strain	Нуклеотидные замены в гене 23S рРНК Nucleotide substitutions in the 23S rRNA gene						
		200–698 н. (н.)			1700–2295 н. (н.)			
		342	449	588	2049	2052	2123	2155
FTT AI	SchuS4 (Reference)	C	A	C	G	A	T	G
FTT AI	O-328, O-402	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪
FTT AII	E-261, O/284, A-Cole B-399, O-419	▪	▪	▪	▪	▪	▪	A
FTM	A-61(117), A-142(112), A-148(120)	▪	▪	▪	A	▪	▪	▪
FTH Ery ^R	M-498, 9, 84, 7, 359, 480, 219 “hare”, M-69, M-101, M-104, M-157, A-108, A-259, A-264, C-226, C-304, C-103, C-104, C-107	▪	G	T	▪	C	C	▪
FTH Ery ^S	21-L, M-184, M-80, M-81, I-346, I-337, I-339, 6984, 7000, K-910, B 25/12, B-300, I-328	▪	▪	T	▪	▪	C	▪
FTH japonica	Kosho, Ichijo, Miura, Yasoe	▪	▪	▪	▪	▪	C	▪
FTN	U-112	G*	▪	▪	▪	▪	▪	▪
	Like F8186	▪	▪	▪	▪	▪	▪	▪

Примечания: FTT AI – *F. tularensis tularensis* AI, FTT AII – *F. tularensis tularensis* AII, FTM – *F. tularensis mediasiatica*, FTH Ery^R – *F. tularensis holarctica* Ery^R, FTH Ery^S – *F. tularensis holarctica* Ery^S, FTH japonica – *F. tularensis holarctica* japonica, FTN – *F. tularensis novicida*; зеленым цветом обозначены мутации, которые выявляются при секвенировании фрагмента гена 23S рРНК – 200–698 н., сиреневым – 1700–2295 н.;

- идентичный нуклеотид;
- * неспецифичная замена для FTN.

Notes: FTT AI – *F. tularensis tularensis* AI, FTT AII – *F. tularensis tularensis* AII, FTM – *F. tularensis mediasiatica*, FTH Ery^R – *F. tularensis holarctica* Ery^R, FTH Ery^S – *F. tularensis holarctica* Ery^S, FTH japonica – *F. tularensis holarctica* japonica, FTN – *F. tularensis novicida*; green color indicates mutations that are detected by sequencing a fragment of the 23S rRNA gene – 200–698 n., lilac color – 1700–2295 n.;

- identical nucleotide;
- * non-specific substitution for FTN.

сток гена 23S рРНК, ограниченный праймерами 23S FT-2200 5’-GAGATTCGAGGACAGTGTATG-3’, 23S FT-2599 5’-AGGGACCGAACTGTCTCAC-3’, обеспечивающими амплификацию фрагмента с 2200 по 2599 н. размером 400 п.н.

Разработка комплексной схемы внутривидовой дифференциации штаммов возбудителя туляремии с помощью амплификационных и секвенационных технологий и ее апробация при исследовании коллекционных штаммов. При идентификации патогенных бактерий с помощью молекулярно-генетических методов важное значение имеет верификация полученных результатов. Одним из перспективных подходов в этом направлении является секвенирование ДНК-мишеней, позволяющих установить точную таксономическую принадлежность изучаемых штаммов. Основываясь на данном принципе нами предложена комплексная схема внутривидовой дифференциации штаммов туляремии микроба, которая включает в себя два этапа исследования, первый из которых довольно быстр в исполнении, но имеет свои ограничения, а второй, при значительно большей продолжительности, позволяет достоверно определять таксономическую принадлежность франциселл.

На первом этапе проводится определение принадлежности исследуемого штамма *F. tularensis* к подвидам с использованием ПЦР-системы «*F. tularensis*-4с». На втором этапе проводится верификация

результатов первого этапа методом секвенирования выявленных переменных фрагментов гена 23S рРНК: 200–698 н. и 1700–2295 н. – при исследовании Ery^R и Ery^S подвидов *tularensis*, *mediasiatica*, *holarctica*; 2200–2599 н. – *F. tularensis novicida* на основании выявления подвидо- и биовароспецифичных мутаций, также осуществляется дифференциация биоваров Ery^R и Ery^S голарктического подвида.

Для апробации предложенной схемы внутривидовой дифференциации туляремии микроба проведено изучение 97 штаммов патогена из разных географических регионов (табл. 3).

Применение комплексного подхода позволило на первом этапе быстро определить принадлежность исследуемых штаммов к подвидам, дифференцировать биовар japonica голарктического подвида (время проведения исследования – до 3 ч в зависимости от количества исследуемых образцов), а на втором – подтвердить результаты первичного анализа по определению внутривидовых таксонов и дифференцировать биовары Ery^R и Ery^S (занимает около 30 ч). Таким образом, в течение 30 ч осуществлена идентификация коллекционных штаммов туляремии микроба с верификацией внутривидовой принадлежности: подвид, биовар, субпопуляция.

Результаты исследования позволяют точно определять таксономию (подвид, биовар) штаммов *F. tularensis*. Предложенный системный подход не противоречит данным, полученным при использовании

Таблица 3 / Table 3

Результаты исследования коллекционных штаммов возбудителя туляремии с использованием разработанной комплексной схемы внутривидовой дифференциации туляремийного микроба
Results of the study of collection strains of tularemia agent using the developed complex scheme for intraspecific differentiation of tularemia microbe

Место выделения Site of isolation	Количество штаммов Number of strains	I этап / I step		II этап / II step							Таксон Taxon
		ПЦР система « <i>F. tularensis</i> -4c»* PCR system « <i>F. tularensis</i> -4c»*	588	Нуклеотидные замены в гене 23S рРНК Nucleotide substitutions in the 23S rRNA gene							
				200–698 н. (н.) 449	1700–2295 н. (н.) 2049	2052	2123	2155	2200–2599 н. (н.) 2402		
США (USA)	SchuS4 (reference)	FTT AI	C	A	G	A	T	G	T		FTT AI
Канада / Canada, США / USA	2	FTT AI	•	•	•	•	•	•	•	•	FTT AI
США / USA	4	FTT AII	•	•	•	•	•	A	•	•	FTT AII
Казахстан / Kazakhstan	3	FTM	•	•	A	•	•	•	•	•	FTM
США / USA	2	FTN	•	•	•	•	•	•	•	C	FTN
Япония / Japan	4	FTH japonica	•	•	•	•	•	•	C	•	FTH japonica
Россия, ЦФО / Russia, Central FD	4	FTH Ery ^{SIR}	G	T	•	C	C	•	C	•	FTH Ery ^R
	1	FTH Ery ^{SIR}	•	T	•	•	C	•	C	•	FTH Ery ^S
Россия, ПФО / Russia, Volga FD	3	FTH Ery ^{SIR}	G	T	•	C	C	•	C	•	FTH Ery ^R
	7	FTH Ery ^{SIR}	•	T	•	•	C	•	C	•	FTH Ery ^S
Россия, СКФО / Russia, North Caucasian FD	13	FTH Ery ^{SIR}	G	T	•	C	C	•	C	•	FTH Ery ^R
Россия, ЮФО / Russia, Southern FD	15	FTH Ery ^{SIR}	G	T	•	C	C	•	C	•	FTH Ery ^R
	2	FTH Ery ^{SIR}	•	T	•	•	C	•	C	•	FTH Ery ^S
Россия УрФО / Russia, Ural FD	2	FTH Ery ^{SIR}	G	T	•	C	C	•	C	•	FTH Ery ^R
Россия, СФО / Russia, Siberian FD	1	FTH Ery ^{SIR}	G	T	•	C	C	•	C	•	FTH Ery ^R
	1	FTH Ery ^{SIR}	•	T	•	•	C	•	C	•	FTH Ery ^S
Россия, ДВФО / Russia, Far Eastern FD	4	FTH Ery ^{SIR}	•	T	•	•	C	•	C	•	FTH Ery ^S
	3	FTH Ery ^{SIR}	•	T	•	•	C	•	C	•	FTH Ery ^S
Казахстан / Kazakhstan	11	FTH Ery ^{SIR}	G	T	•	C	C	•	C	•	FTH Ery ^R
	4	FTH Ery ^{SIR}	•	T	•	•	C	•	C	•	FTH Ery ^S
Таджикистан / Tajikistan	2	FTH Ery ^{SIR}	G	T	•	C	C	•	C	•	FTH Ery ^R
Монголия / Mongolia	1	FTH Ery ^{SIR}	•	T	•	•	C	•	C	•	FTH Ery ^S
США / USA	6	FTH Ery ^{SIR}	•	T	•	•	C	•	C	•	FTH Ery ^S

Примечания: FTT AI – *F. tularensis tularensis* AI, FTT AII – *F. tularensis tularensis* AII, FTM – *F. tularensis mediasiatica*, FTN – *F. tularensis novicida*, FTH japonica – *F. tularensis holartica japonica*, FTH Ery^S – *F. tularensis holartica* Ery^S, FTH Ery^R – *F. tularensis holartica* Ery^R; зеленым цветом обозначены мутации, которые выявляются при секвенировании фрагмента гена 23S рРНК 200–698 н., розовым – 1700–2295 н., розовым – 2200–2599 н.; • идентичный нуклеотид, * система «*F. tularensis*-4c» не дифференцирует Ery^R и Ery^S биовары FTH.

Notes: FTT AI – *F. tularensis tularensis* AI, FTT AII – *F. tularensis tularensis* AII, FTM – *F. tularensis mediasiatica*, FTN – *F. tularensis novicida*, FTH japonica – *F. tularensis holartica japonica*, FTH Ery^S – *F. tularensis holartica* Ery^S, FTH Ery^R – *F. tularensis holartica* Ery^R; Green color indicates mutations that are detected by sequencing a fragment of the 23S rRNA gene 200–698 n., lilac color – 1700–2295 n., pink – 2200–2599 n.; • identical nucleotide; * «*F. tularensis*-4c» system does not differentiate Ery^R and Ery^S biovars FTH; FD – Federal District.

ранее описанных методов, проверенных на ограниченном количестве штаммов. Принадлежность подвида *F. tularensis holarctica* к биоварам Ery^R или Ery^S коррелирует с их чувствительностью к эритромицину, определенной диско-диффузионным методом. Представленные материалы подтвердили эффективность комплексной схемы для идентификации штаммов *F. tularensis*.

Исследование географической распространенности таксонов показало, что большинство исследованных штаммов туляремиального микроба голарктического подвида, выделенных на территории Центрального (ЦФО), Северо-Кавказского (СКФО) и Южного (ЮФО) федеральных округов, относились к эритромицинрезистентному биовару. Культуры, патогена, изолированные в Приволжском федеральном округе (ПФО) представлены обоими биоварами практически в равной доле. На территории Дальневосточного федерального округа (ДФО) выделяются только штаммы эритромицинчувствительного биовара.

Штаммы возбудителя туляремии, выделенные на территории Казахстана, в 11 случаях из 18 идентифицированы как *F. tularensis holarctica* Ery^R, четыре штамма – как *F. tularensis holarctica* Ery^S и три – как *F. tularensis mediasiatica*. Два штамма, выделенные на территории Таджикистана, отнесены к *F. tularensis holarctica* Ery^R. При исследовании культур, изолированных на территории США, установлено, что шесть штаммов голарктического подвида относятся к биовару Ery^S. Кроме того, среди штаммов, выделенных на территории США и Канады, выявлены штаммы *F. tularensis tularensis* субпопуляций AI (2) и AII (4), а также два штамма *F. tularensis novicida*. Для выяснения географической приуроченности отдельных таксонов *F. tularensis* необходимы более широкие исследования. Не вызывает сомнения, что в этом случае предложенная комплексная система может быть полезна.

В последние годы значительно расширились возможности внутривидовой дифференциации штаммов туляремиального микроба, в основном за счет использования молекулярно-генетических методов, позволяющих выявлять особенности организации генома у разных подвигов: наличие или отсутствие областей дифференциации RD или отдельных генов, INDEL-маркеров, полиморфных нуклеотидов, а также различия в расположении сайтов рестрикции [6–11]. Большинство предложенных подходов основаны на технологии ПЦР и с их применением невозможно определить все внутривидовые таксоны. Важным остается вопрос верификации полученных данных. Одним из перспективных направлений в решении данной задачи является использование комплекса методов, направленных на детекцию различных ДНК-мишеней с помощью амплификационных и секвенационных технологий.

H. Rossow *et al.* [18] продемонстрировали возможность использования гена 23S рРНК в качестве

ДНК-мишени для выявления и идентификации штаммов *F. tularensis holarctica*. Позднее E. Karlsson *et al.* [14] определили единичные мутации, специфичные для голарктического подвида возбудителя туляремии (G160A, C1151T, T1340C, T2123C, C2716T) и общие для биоваров Ery^{S/R} *F. tularensis holarctica* (C588T, C1397T, C1526T, G2444A, C2519T, T2673T) в этом гене.

На основе детального анализа нуклеотидных последовательностей гена 23S рРНК у разных подвигов и биоваров туляремиального микроба нами расширены представления о типизирующих возможностях этой мишени. Специфичность мутаций для отдельных подвигов, биоваров и субпопуляций показана как при исследовании нуклеотидных последовательностей патогена, представленных в базе данных GenBank NCBI, так и при анализе ранее охарактеризованных по внутривидовой принадлежности коллекционных штаммов туляремиального микроба. У всех штаммов *F. tularensis tularensis* AI, как и у референсного штамма этого таксона, определяется нуклеотид A905, в то время как у других подвигов и биоваров произошла замена этого нуклеотида на G; штаммы *F. tularensis tularensis* AII отличает замена G2155A; *F. tularensis mediasiatica* – A1375G, G2049A, A2707G; *F. tularensis holarctica* – C1151T, T1340C, T2123C, C2716T; *F. tularensis holarctica* биовары Ery^{S/R} – C588T, C1397T, C1526T, G2444A, C2519T, T2673T; *F. tularensis holarctica* биовар Ery^R – A2052C и A449G; *F. tularensis novicida* – T2402C. Также акцентировано внимание на ценности гена 23S рРНК в качестве ДНК-мишени при идентификации подвигов голарктика с дифференциацией его биоваров Ery^R и Ery^S.

В результате проведенной работы выбраны три фрагмента гена: 200–698, 1700–2295 и 2200–2599 н., – определение полиморфных нуклеотидов в которых позволяет дифференцировать все внутривидовые таксоны патогена. Мутации в первых двух указанных фрагментах позволяют дифференцировать штаммы *F. tularensis* подвигов *tularensis*, *mediasiatica*, *holarctica*; в третьем – *F. tularensis novicida*.

Разработанная комплексная схема внутривидовой дифференциации культур туляремиального микроба включает два этапа. На первом этапе – определение подвиговой принадлежности франциселл и биовара *japonica* *F. tularensis holarctica* исследуемого штамма возбудителя туляремии с использованием одного из предложенных подходов методом ПЦР, на втором – дифференциация всех биоваров голарктического подвида при выявлении подвиго- и биовароспецифичных мутаций в гене 23S рРНК методом фрагментного секвенирования и верификация полученных на первом этапе результатов. Время каждого этапа – до 3 и 30 ч соответственно. В результате такого исследования можно провести определение всех известных на сегодняшний день подвигов, биоваров и субпопуляций туляремиального микроба. Эффективность предложенного комплексного подхода подтверждена при изучении 97 штаммов пато-

гена из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.

Полученные нами результаты дополняют сведения о распространении на территории Европы и Азии штаммов туляремийного микроба голарктического подвида эритромицинчувствительного и эритромицинрезистентного биоваров, полученные Р.И. Куделиной и Н.Г. Олсуфьевым [19], а также данные Е. Karlsson *et al.* [14] о встречаемости данных биоваров во всем мире.

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. Олсуфьев Н.Г. Таксономия, микробиология и лабораторная диагностика возбудителя туляремии. М.: Медицина; 1975. 190 с.
2. List of Procariotic Names with Standing in Nomenclature (LPSN). [Электронный ресурс]. URL: <http://www.bacterio.net/francisella.html> (дата обращения 15.02.2024).
3. Molins-Schneekloth C.R., Belisle J.T., Petersen J.M. Genomic markers for differentiation of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* A.I and A.II strains. *Appl. Environmental Microbiol.* 2008; 74(1):336–41. DOI: 10.1128/AEM.01522-07.
4. Tomaso H., Scholz H.C., Neubauer H., Al Dahouk S., Seibold E., Landt O., Forsman M., Spletstoeser W.D. Real-time PCR using hybridization probes for the rapid and specific identification of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis*. *Mol. Cell. Probes.* 2007; 21(1):12–6. DOI: 10.1016/j.mcp.2006.06.001.
5. WHO. Guidelines on Tularemia. WHO Press; 2007. 115 p.
6. Broekhuijsen M., Larsson P., Johansson A., Byström M., Eriksson U., Larsson E., Prior R.G., Sjöstedt A., Titball R.W., Forsman M. Genome-wide DNA microarray analysis of *Francisella tularensis* strains demonstrates extensive genetic conservation within the species but identifies regions that are unique to the highly virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(7):2924–31. DOI: 10.1128/JCM.41.7.2924-2931.2003.
7. Осина Н.А., Ситмбетов Д.А., Булгакова Е.Г., Чекмарева С.С., Сазанова Е.В., Сенчикина А.М., Ляшова О.Ю., Осин А.В., Щербаклова С.А. Внутривидовая дифференциация штаммов *Francisella tularensis* методом мультилокусной полимеразной цепной реакции с учетом результатов в режиме реального времени. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2023; 1:132–41. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-132-141.
8. Вахрамеева Г.М., Лапин А.А., Павлов В.М., Мокриевич А.Н., Миронова Р.И., Дятлов И.А. ПЦР-дифференциация подвигов *Francisella tularensis* с помощью одного праймера. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2011; 1:46–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-46-48.
9. Larson M.A., Sayood K., Bartling A.M., Meyer J.R., Starr C., Baldwin J., Dempsey M.P. Differentiation of *Francisella tularensis* subspecies and subtypes. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(4):e01495-19. DOI: 10.1128/JCM.01495-19.
10. Birdsell D.N., Vogler A.J., Buchhagen J., Clare A., Kaufman E., Naumann A., Driebe E., Wagner D.M., Keim P.S. TaqMan real-time PCR assays for single-nucleotide polymorphisms which identify *Francisella tularensis* and its subspecies and subpopulations. *PLoS One.* 2014; 9(9):e107964. DOI: 10.1371/journal.pone.0107964.
11. Сорокин В.М., Водопьянов А.С., Цимбалистова М.В., Павлович Н.В. Дифференциация подвигов *Francisella tularensis* методом INDEL-типирования. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 2022; 99(2):193–202. DOI: 10.36233/0372-9311-189.
12. Biswas S., Raoult D., Rolain J.-M. A bioinformatic approach to understanding antibiotic resistance in intracellular bacteria through whole genome analysis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2008; 32(3):207–20. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2008.03.017.
13. Тимофеев В.С., Мокриевич А.Н., Павлов В.М. Роль нуклеотидных замен в V домене 23S РНК *Francisella tularensis* в формировании резистентности туляремийного микроба к эритромицину. В кн.: Куличенко А.Н., редактор. Актуальные проблемы эпидемиологии и профилактической медицины: Материалы VI Всероссийской научно-практической конференции молодых

ученых и специалистов Роспотребнадзора. Ставрополь; 2014. С. 112.

14. Karlsson E., Golovliov I., Lärkeryd A., Granberg M., Larsson E., Ohrman C., Niemcewicz M., Birdsell D., Wagner D.M., Forsman M., Johansson A. Clonality of erythromycin resistance in *Francisella tularensis*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016; 71(10):2815–23. DOI: 10.1093/jac/dkw235.
15. Svensson K., Granberg M., Karlsson L., Neubauerova V., Forsman M., Johansson A. A real-time PCR array for hierarchical identification of *Francisella* isolates. *PLoS One.* 2009; 4(12):e8360. DOI: 10.1371/journal.pone.0008360.
16. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol. Biol. Evol.* 2021; 38(7):2022–27. DOI: 10.1093/molbev/msab120.
17. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012; 28(8):1166–7. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091.
18. Rossow H., Sissonen S., Koskela K.A., Kinnunen P.M., Hemmälä H., Niemimäa J., Huitu O., Kuusi M., Vapalahti O., Henttonen H., Nikkari S. Detection of *Francisella tularensis* in voles in Finland. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014; 14(3):193–8. DOI: 10.1089/vbz.2012.1255.
19. Куделина Р.И., Олсуфьев Н.Г. Чувствительность к антибиотикам группы макролидов и линкомицину возбудителя туляремии голарктической расы. *Журнал гигиены, эпидемиологии, микробиологии и иммунологии.* 1980; 24(1):84–91.

References

1. Olsuf'ev N.G. [Taxonomy, Microbiology, and Laboratory Diagnostics of Tularemia Agent]. Moscow: "Medicine"; 1975. 190 p.
2. List of Procariotic Names with Standing in Nomenclature (LPSN). (Cited 15 Feb 2024). [Internet]. Available from: <http://www.bacterio.net/francisella.html>.
3. Molins-Schneekloth C.R., Belisle J.T., Petersen J.M. Genomic markers for differentiation of *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* A.I and A.II strains. *Appl. Environmental Microbiol.* 2008; 74(1):336–41. DOI: 10.1128/AEM.01522-07.
4. Tomaso H., Scholz H.C., Neubauer H., Al Dahouk S., Seibold E., Landt O., Forsman M., Spletstoeser W.D. Real-time PCR using hybridization probes for the rapid and specific identification of *Francisella tularensis* subspecies *tularensis*. *Mol. Cell. Probes.* 2007; 21(1):12–6. DOI: 10.1016/j.mcp.2006.06.001.
5. WHO. Guidelines on Tularemia. WHO Press; 2007. 115 p.
6. Broekhuijsen M., Larsson P., Johansson A., Byström M., Eriksson U., Larsson E., Prior R.G., Sjöstedt A., Titball R.W., Forsman M. Genome-wide DNA microarray analysis of *Francisella tularensis* strains demonstrates extensive genetic conservation within the species but identifies regions that are unique to the highly virulent *F. tularensis* subsp. *tularensis*. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(7):2924–31. DOI: 10.1128/JCM.41.7.2924-2931.2003.
7. Osina N.A., Sitmbetov D.A., Bulgakova E.G., Chekmareva S.S., Sazanova E.V., Senichkina A.M., Lyashova O.Yu., Osin A.V., Shcherbakova S.A. [Intraspecific differentiation of *Francisella tularensis* strains using multilocus real-time polymerase chain reaction]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (1):132–41. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-132-141.
8. Vakhrameeva G.M., Lapin A.A., Pavlov V.M., Mokrievich A.N., Mironova R.I., Dyatlov I.A. [PCR differentiation of *Francisella tularensis* subspecies using one primer]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2011; (1):46–8. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-1(107)-46-48.
9. Larson M.A., Sayood K., Bartling A.M., Meyer J.R., Starr C., Baldwin J., Dempsey M.P. Differentiation of *Francisella tularensis* subspecies and subtypes. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(4):e01495-19. DOI: 10.1128/JCM.01495-19.
10. Birdsell D.N., Vogler A.J., Buchhagen J., Clare A., Kaufman E., Naumann A., Driebe E., Wagner D.M., Keim P.S. TaqMan real-time PCR assays for single-nucleotide polymorphisms which identify *Francisella tularensis* and its subspecies and subpopulations. *PLoS One.* 2014; 9(9):e107964. DOI: 10.1371/journal.pone.0107964.
11. Sorokin V.M., Vodopyanov A.S., Tsimbalistova M.V., Pavlovich N.V. Differentiation of *Francisella tularensis* subspecies using INDEL typing. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2022; 99(2):193–202. DOI: 10.36233/0372-9311-189.
12. Biswas S., Raoult D., Rolain J.-M. A bioinformatic approach to understanding antibiotic resistance in intracellular bacteria through whole genome analysis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2008; 32(3):207–20. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2008.03.017.
13. Timofeev V.S., Mokrievich A.N., Pavlov V.M. [The role of nucleotide substitutions in the V domain of *Francisella tularensis* 23S RNA in the formation of resistance of tularemia microbe to erythromycin]. In: Kulichenko A.N., editor. [Current Issues of Epidemiology

and Preventive Medicine: Materials of the VI All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists of the Rospotrebnadzor]. Stavropol; 2014. P. 112.

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

15. Svensson K., Granberg M., Karlsson L., Neubauerova V., Forsman M., Johansson A. A real-time PCR array for hierarchical identification of *Francisella* isolates. *PLoS One.* 2009; 4(12):e8360. DOI: 10.1371/journal.pone.0008360.

16. Tamura K., Stecher G., Kumar S. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Mol. Biol. Evol.* 2021; 38(7):3022–27. DOI: 10.1093/molbev/msab120.

17. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics.* 2012; 28(8):1166–7. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091.

18. Rossow H., Sissonen S., Koskela K.A., Kinnunen P.M., Hemmilä H., Niemimaa J., Huitu O., Kuusi M., Vapalahti O., Henttonen H., Nikkari S. Detection of *Francisella tularensis* in voles in Finland. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2014; 14(3):193–8. DOI: 10.1089/vbz.2012.1255.

19. Kudelina R.I., Olsuf'ev N.G. [Sensitivity to macrolide antibiotics and lincomycin in the causative agent of tularemia of the holarctic race]. *Zhurnal Gigieny, Epidemiologii, Mikrobiologii i Immunologii [Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology]*. 1980; 24(1):84–91.

Authors:

Osina N.A., Sitmbetov D.A., Morozov O.A., Bulgakova E.G., Osin A.V., Chekmareva S.S., Sazanova E.V., Senichkina A.M., Lyashova O.Yu., Polunina T.A., Krasnov Ya.M., Devdariani Z.L., Shcherbakova S.A. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrapl@microbe.ru.

Об авторах:

Осина Н.А., Ситмбетов Д.А., Морозов О.А., Булгакова Е.Г., Осин А.В., Чекмарева С.С., Сазанова Е.В., Сеничкина А.М., Ляшова О.Ю., Полунина Т.А., Краснов Я.М., Девдариани З.Л., Щербакова С.А. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapl@microbe.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-157-166

УДК 616.98:578.833.28

М.А. Пятяшина^{1,2}, Е.П. Сизова³, Л.Г. Авдонина^{1,2}, Г.Г. Бадамшина^{3,4}, Л.В. Ставропольская³,
А.Г. Алешина¹, И.А. Карпова³, А.В. Гончарова³, А.Р. Нуртдинова³, А.С. Антонов⁵

Эпидемиологические аспекты заболеваемости лихорадкой Западного Нила в Республике Татарстан в 2023 г.

¹Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан (Татарстан), Казань, Российская Федерация; ²Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Российская Федерация; ³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)», Казань, Российская Федерация; ⁴ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Российская Федерация; ⁵ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация

Цель работы – изучение эпидемиологической ситуации по лихорадке Западного Нила (ЛЗН) в Республике Татарстан в 2023 г. **Материалы и методы.** Проведен оперативный эпидемиологический анализ случаев ЛЗН, зарегистрированных на территории Республики Татарстан за 2023 г. С целью установления источников и факторов риска инфицирования населения исследовано на наличие маркеров вируса Западного Нила (ВЗН) 987 проб зооэнтомологического материала. Использован комплекс методов лабораторной диагностики: ИФА, ОТ-ПЦР, секвенирование. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что все случаи ЛЗН зарегистрированы на территории региона в летне-осенний период 2023 г., преимущественно в августе, у жителей г. Казани, не выезжавших за последние полгода за пределы Российской Федерации и Республики Татарстан. Показатель заболеваемости ЛЗН в Республике Татарстан составил 0,20 на 100 тыс. населения, летальность – 12,5 %. Признаки поражения центральной нервной системы установлены у 6 (75 %) из 8 пациентов. Большинство лиц с выраженной клинической симптоматикой принадлежали к старшим возрастным группам и имели сопутствующие заболевания. Случаи заболевания зарегистрированы во всех возрастных группах, за исключением детей и подростков. Изучена пространственная характеристика заболеваемости, свидетельствующая о диффузном характере распределения случаев. Комплексное использование методов, заключающееся в параллельном применении методов ПЦР и ИФА, позволило лабораторно подтвердить случаи ЛЗН у пациентов на разных сроках заболевания. Установлена циркуляция в Республике Татарстан субварианта ВЗН 2-го генотипа, в настоящее время доминирующего на территории южных и центральных регионов России. Предложен комплекс мероприятий по оптимизации эпидемиологического надзора и контроля ЛЗН в Республике Татарстан.

Ключевые слова: Лихорадка Западного Нила, вирус Западного Нила, РНК ВЗН, заболеваемость, эпидемиологическое исследование, эпидемический процесс.

Корреспондирующий автор: Пятяшина Марина Александровна, e-mail: RPN.RT@tatar.ru.

Для цитирования: Пятяшина М.А., Сизова Е.П., Авдонина Л.Г., Бадамшина Г.Г., Ставропольская Л.В., Алешина А.Г., Карпова И.А., Гончарова А.В., Нуртдинова А.Р., Антонов А.С. Эпидемиологические аспекты заболеваемости лихорадкой Западного Нила в Республике Татарстан в 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2024; 2:157–166. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-157-166
Поступила 19.12.2023. Принята к публ. 07.02.2024.

М.А. Patyashina^{1,2}, Е.Р. Sizova³, L.G. Avdonina^{1,2}, G.G. Badamshina^{3,4}, L.V. Stavropol'skaya³,
A.G. Aleshina¹, I.A. Karpova³, A.V. Goncharova³, A.R. Nurtdinova³, A.S. Antonov⁵

Epidemiological Aspects of the Incidence of West Nile Fever in the Republic of Tatarstan in 2023

¹Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan (Tatarstan), Kazan, Russian Federation; ²Kazan State Medical Academy – Affiliated Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russian Federation; ³Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan (Tatarstan), Kazan, Russian Federation; ⁴Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russian Federation; ⁵Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation

Abstract. The aim of the work was to study the epidemiological situation on West Nile fever (WNF) in the Republic of Tatarstan in 2023. **Materials and methods.** An operational epidemiological analysis of WNF cases registered in the Republic of Tatarstan in 2023 was performed. In order to establish sources and risk factors for infection of the population, 987 samples of zoo-entomological material were examined for the presence of West Nile virus (WNV) markers. A set of laboratory diagnostic methods was used: ELISA, RT-PCR, sequencing. **Results and discussion.** It has been established that all cases of WNF were registered in the region in the summer-autumn period of 2023, mainly in August, among residents of the city of Kazan who had not traveled outside the Russian Federation and the Republic of Tatarstan over the past six months. The incidence rate of WNF in the Republic of Tatarstan was 0.20 per 100 thousand population, the mortality rate reached 12.5 %. Signs of damage to the central nervous system were present in 6 out of 8 (75 %) patients. The majority of people with severe clinical symptoms belonged to older age groups and had concomitant diseases. Cases of the infection were reported in all age groups, with the exception of children and adolescents. The spatial characteristics of morbidity have been investigated, indicating the diffuse nature of the distribution of cases. The integrated use of methods, consisting in the concurrent use of polymerase chain reaction and enzyme-linked immunosorbent assay, made it

possible to laboratory confirm cases of WNF in patients at different stages of the disease. The circulation of a subvariant of the WNV of the second genotype in the Republic of Tatarstan, currently dominant in the southern and central regions of Russia, has been established. A set of measures has been proposed to optimize epidemiological surveillance and control of WNF in the Republic of Tatarstan.

Key words: West Nile fever, West Nile virus, WNV RNA, incidence, epidemiological survey, epidemic process.

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

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

Bioethics: The collection of biological material from patients was carried out upon their informed consent.

Corresponding author: Marina A. Patyashina, e-mail: RPN.RT@tatar.ru.

Citation: Patyashina M.A., Sizova E.P., Avdonina L.G., Badamshina G.G., Stavropol'skaya L.V., Aleshina A.G., Karpova I.A., Goncharova A.V., Nurtdinova A.R., Antonov A.S. Epidemiological Aspects of the Incidence of West Nile Fever in the Republic of Tatarstan in 2023. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:157–166. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-157-166

Received 19.12.2023. Accepted 07.02.2024.

Patyashina M.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6302-3993>

Sizova E.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8642-5194>

Avdonina L.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0611-2102>

Badamshina G.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0088-6422>

Stavropol'skaya L.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5987-5328>

Karpova I.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-9244-1384>

Antonov A.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9342-7211>

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН) – природно-очаговая трансмиссивная инфекционная болезнь, характеризующаяся лихорадкой, головными и мышечными болями, реже – лимфаденопатией, сыпью, респираторными проявлениями [1–11], в 1–5 % клинически выраженных случаев протекающая в виде серозного менингита, менингоэнцефалита или полиомиелитоподобного синдрома [1–7]. Возбудитель инфекции – вирус Западного Нила (ВЗН), являющийся представителем рода *Orthoflavivirus*, семейства *Flaviviridae* [1–6, 8, 9], передается человеку преимущественно через укусы кровососущих комаров [2–4, 6, 8, 10, 12]. В связи с этим для ЛЗН характерны сезонные проявления эпидемического процесса, совпадающие со временем максимальной активности переносчиков ВЗН (для территорий с умеренным климатом – в период с апреля по октябрь) [1, 8, 11, 13].

Резервуарами инфекции в природе являются различные виды диких и синантропных птиц [1, 4, 5, 8, 10, 14, 15], переносчиками – комары родов *Culex*, *Anopheles*, *Aedes*, *Coquillettidia* и *Uranotaenia* [1, 8, 10, 11, 14, 16, 17], а также клещи [1]. Люди, лошади и другие крупные млекопитающие восприимчивы к ВЗН, но из-за недостаточного для заражения переносчиков уровня развивающейся вирусемии выступают в роли случайных (тупиковых) хозяев инфекции [1, 4, 5, 8, 9, 18].

В Российской Федерации ЛЗН относится к числу актуальных природно-очаговых инфекционных болезней с регистрацией вспышечной заболеваемости на южных территориях страны. В последние годы отмечается тенденция к снижению заболеваемости ЛЗН с достижением минимальных значений в 2020 г. (0,007 случая на 100 тыс. населения по сравнению со среднемноголетним показателем в 2010–2019 гг., составившим 0,08 случая на 100 тыс. населения) [15, 19–21]. Вместе с тем существенно возросло количество территорий с впервые зарегистрированной заболеваемостью населения, в том числе расположенных значительно севернее ранее установленного ареала болезни: г. Москва, Тульская, Тверская области, Ханты-Мансийский автономный округ [19–21].

В Республике Татарстан по одному завозному случаю ЛЗН зарегистрировано в 2010 г. (первый случай в регионе) и 2018 г. [6, 16]. Случаи заболеваний ЛЗН у жителей г. Казани, не связанные с выездом в другие страны или субъекты России, выявлены в 2011 г. (4 случая) и 2012 г. (3 случая) [6, 16]. В 2023 г. в Татарстане у жителей Казани лабораторно подтверждено 8 случаев ЛЗН, что представляло собой необычное событие, поскольку заболеваемость, обусловленная местной передачей ВЗН, не регистрировалась на протяжении последних 10 лет, а количество больных существенно превысило среднемноголетнее значение. В связи с этим целью работы явилось изучение эпидемиологической ситуации по лихорадке Западного Нила в Республике Татарстан в 2023 г.

Материалы и методы

Проведен оперативный эпидемиологический анализ случаев ЛЗН, зарегистрированных на территории Республики Татарстан в 2023 г., на основе данных экстренных извещений (n=8), поступивших в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» из ГАУЗ «Республиканская клиническая инфекционная больница им. профессора А.Ф. Агафонова» посредством ЕИС «САПОД» (система автоматического предоставления оперативных данных).

Исследование биоматериала от пациентов с целью подтверждения случаев ЛЗН выполнено на базе лаборатории диагностики особо опасных и вирусных инфекций отдела микробиологических исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)» (n=67). Исследования выполнены с использованием молекулярно-генетических методов согласно МУК 4.2.3009-12 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней» с применением набора реагентов «АмплиСенс® WNV-FL»

(ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия), с последующим типированием РНК-вируса в Референс-центре по мониторингу за возбудителем ЛЗН Волгоградского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора (далее – Референс-центр), иммуноферментного анализа (ИФА) с применением набора реагентов «ВектоНил-IgM», «ВектоНил-IgG» (АО «Вектор-Бест», Россия). Для исключения реакции перекрестного постинфекционного иммунитета применены наборы реагентов «ВектоВКЭ-IgM», «ВектоВКЭ-IgG» (АО «Вектор-Бест», Россия).

Секвенирование положительного на наличие РНК ВЗН образца проводили на базе Волгоградского научно-исследовательского противочумного института. Выделение РНК осуществляли с помощью наборов реагентов «РИБО-золь-С» и «РИБО-преп» (ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия). Библиотеку высокопроизводительного секвенирования подготавливали с использованием специфических ко 2-му генотипу ВЗН олигонуклеотидных праймеров. Измерение концентрации образцов проводили с использованием набора Lumiprobe QuDye dsDNA HS Assay Kit (ООО «Люмипроб РУС», Россия) на флуориметре Qubit 2.0. Лигирование адаптеров для высокопроизводительного секвенирования выполняли с использованием набора Rapid Barcoding Kit 96 (SQK-RBK110.96, Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Секвенирование библиотеки осуществляли на платформе Oxford Nanopore MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания).

С целью изучения причин и условий, определяющих интенсивность эпидемического процесса, в соответствии с Постановлением Главного государственного санитарного врача по Республике Татарстан М.А. Пяташиной от 31.03.2023 № 2 «Об изучении эпидемиологической ситуации по инфекциям, передающимся клещами, геморрагической лихорадке с почечным синдромом, лихорадке Западного Нила, туляремии, лептоспирозу и организации профилактических мероприятий в 2023 году», а также поручения от 03.10.2023 «Об исследовании проб птиц на ЛЗН» молекулярно-генетическими методами проведено исследование инфицированности ВЗН носителей (47 проб от перелетных и синан-

тропных птиц, 171 проба от грызунов) и переносчиков (от комаров – 232 пробы, клещей – 537 проб). Статистическая обработка результатов исследований проведена при помощи программы Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

На территории региона в летне-осенний период 2023 г. выявлено 8 случаев ЛЗН (в том числе один случай с летальным исходом) у жителей Казани, не выезжавших за последние полгода за пределы Республики Татарстан. Показатель заболеваемости ЛЗН в Республике Татарстан, составивший 0,2 на 100 тыс. населения, в 10 раз превысил среднеегодулетнее значение (0,02/100 тыс. населения).

Регистрация первого случая ЛЗН зафиксирована 15.08.2023 у больной М., поступившей в инфекционную больницу Казани с симптомами серозного менингоэнцефалита.

Оценка понедельной динамики заболеваемости ЛЗН (по дате возникновения клинических симптомов болезни) за период вспышки свидетельствует о подъеме заболеваемости с 33-й недели и снижении интенсивности эпидемического процесса к 38-й неделе (рис. 1).

При поступлении в инфекционную больницу больным ЛЗН были установлены предварительные диагнозы: «энцефалит», «менингоэнцефалит», «менингит», «ГЛПС». Направительный диагноз «ГЛПС» являлся преобладающим, поскольку эта природно-очаговая инфекция наиболее актуальна для Республики Татарстан и в отношении данной нозологии имеется высокая настороженность медицинских специалистов (табл. 1).

В ранние сроки от начала заболевания (на 2–3-й день болезни) были госпитализированы 5 (62,5 %) больных, спустя 6 дней и более – 3 (37,5 %) больных. Среднетяжелое клиническое течение заболевания при поступлении наблюдалось у 2 пациентов (25 %), тяжелое – у 6 (75 %).

На разных этапах диагностического процесса случаев ЛЗН установлены определенные трудности при постановке диагноза, что можно объяснить выраженным полиморфизмом клинической кар-

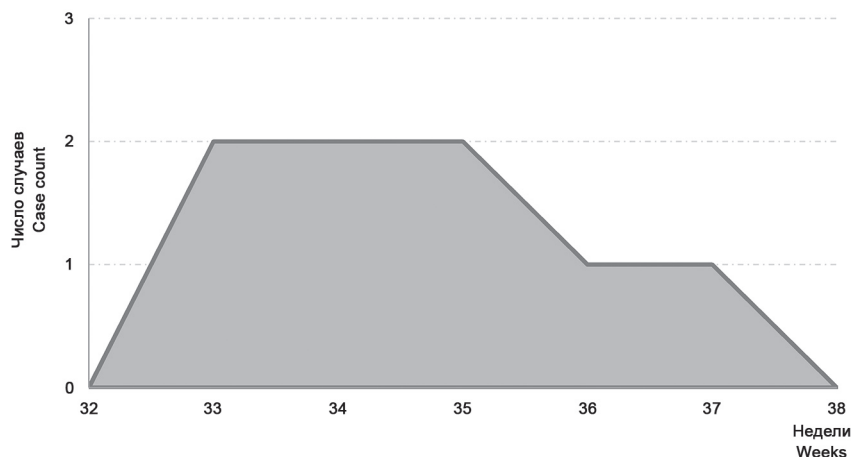


Рис. 1. Динамика регистрации случаев ЛЗН в Республике Татарстан в 2023 г.

Fig. 1. Dynamics of registration of West Nile fever cases in the Republic of Tatarstan in 2023

Характеристика случаев заболеваний ЛЗН в Республике Татарстан в 2023 г.

Characteristics of WNF cases in the Republic of Tatarstan in 2023

№ случая Case No.	Возраст Age	Пол Gender	Дата появления первых симптомов The date of emergence of the early symptoms	Диагноз при поступлении Diagnosis upon admission	Сопутствующие заболевания, осложнения Concomitant diseases, complications
1	71 год 71 years old	жен. female	15.08.2023 15 Aug 2023	ГЛПС, токсико-аллергическое состояние. ЯБДПК HFRS, toxic and allergic condition. Duodenal ulcer	Носительство ВЭБ, летальный исход EBV carriage, lethal outcome
2	75 лет 75 years old	муж. male	19.08.2023 19 Aug 2023	Острый менингоэнцефалит Acute meningoencephalitis	Нет данных No data available
3	57 лет 57 years old	жен. female	21.08.2023 21 Aug 2023	ГЛПС, олигурический период, средней степени тяжести HFRS, oliguric period, moderate severity	Сахарный диабет 2-го типа, хронический бронхит Diabetes mellitus type 2, chronic bronchitis
4	40 лет 40 years old	муж. male	26.08.2023 26 Aug 2023	ГЛПС HFRS	Хроническая ВЭБ-инфекция в стадии реактивации Chronic EBV infection in the reactivation stage
5	26 лет 26 years old	муж. male	30.08.2023 30 Aug 2023	Энцефалит Encephalitis	Нет данных No data available
6	77 лет 77 years old	муж. male	01.09.2023 01 Sept 2023	ГЛПС HFRS	Нет данных No data available
7	71 год 71 years old	жен. female	07.09.2023 07 Sept 2023	Менингоэнцефалит, энцефалопатия смешанного генеза Meningoencephalitis, encephalopathy of mixed origin	ИБС, ПИКС, гипертоническая болезнь 3-й стадии, ТЭЛА, сахарный диабет 2-го типа, ревматоидный артрит IHD, PICS, stage 3 hypertension, PE, type 2 diabetes mellitus, rheumatoid arthritis
8	36 лет 36 years old	жен. female	15.09.2023 15 Sept 2023	Менингит неуточненный Unspecified meningitis	Нет данных No data available

Примечание: ГЛПС – геморрагическая лихорадка с почечным синдромом; ВЭБ – вирус Эпштейна – Барр; ИБС – ишемическая болезнь сердца; ПИКС – постинфарктный кардиосклероз; ТЭЛА – тромбоэмболия легочной артерии; ЯБДПК – язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки.

Note: HFRS – hemorrhagic fever with renal syndrome; EBV – Epstein-Barr virus; IHD – ischemic heart disease; PICS – postinfarction cardiosclerosis; PE – pulmonary embolism.

тины заболевания, а также отсутствием у врачей-инфекционистов опыта наблюдения за такими больными [7]. В среднем диагноз был выставлен на 9-й день от момента обращения больного за медицинской помощью, с максимальным значением для первого выявленного пациента, составившим 22 дня. Этиологическая расшифровка последних случаев заболевания произошла в более короткие сроки – на 3-й и 4-й день от момента госпитализации.

Анализируя клиническую картину случаев ЛЗН стоит отметить, что признаки поражения центральной нервной системы зарегистрированы у 6 (75 %) из 8 выявленных больных. Большинство лиц с выраженной симптоматикой принадлежали к старшим возрастным группам [7, 8, 22]. Вместе с тем развитие энцефалита и менингита у пациентов молодого возраста (26 и 36 лет соответственно), вероятно, свидетельствует о наличии у них сопутствующих заболеваний, сопровождающихся выраженной иммуносупрессией.

В одном случае заболевание завершилось летальным исходом по причине острой сердечно-сосудистой недостаточности – достаточно частого осложнения при ЛЗН, протекающего с поражением центральной нервной системы. Удельный вес тяжелых (нейроинвазивных) форм заболевания и по-

казатель летальности, составивший 12,5 %, следует интерпретировать как высокие [5] (в европейских странах летальность – 5,4 % [22]). Данное наблюдение требует отдельного внимания, поскольку может указывать на наличие (у населения Казани в этот период) недиагностированных случаев с легким и среднетяжелым клиническим течением. В пользу этого предположения свидетельствуют литературные данные, указывающие, что признаки поражения центральной нервной системы наблюдаются у менее чем 1 % инфицированных ВЗН. Для оценки истинных масштабов проявлений эпидемического процесса ЛЗН представляется целесообразным проведение серологического обследования населения, проживающего на территории очага (или отдельных выборочных групп).

Контингент заболевших ЛЗН представлен мужчинами и женщинами в равном соотношении (по 4 человека). Все пациенты являлись городскими жителями. Возрастная структура заболеваемости характеризовалась следующим образом: на группы «20–29 лет», «30–39 лет», «40–49 лет», «50–59 лет» пришлось по 1 случаю (12,5 %), «70 и более лет» – 4 случая (50 %). Таким образом, в эпидемический процесс фактически были вовлечены все возрастные группы населения, за исключением детей.

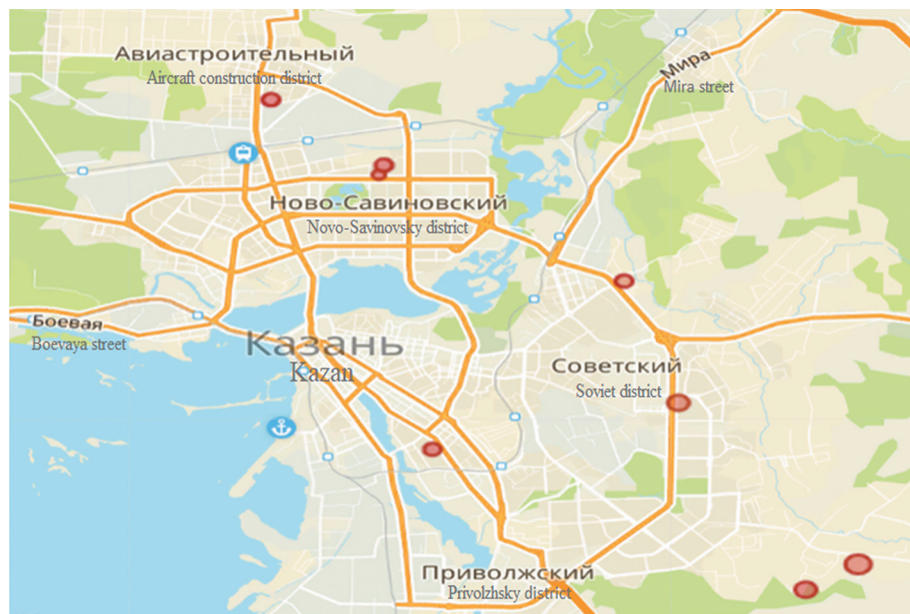


Рис. 2. Картограмма заболеваемости ЛЗН в г. Казани в 2023 г. по месту проживания

Fig. 2. Cartogram of the WNF incidence by place of residence in Kazan in 2023

Отсутствие регистрации случаев ЛЗН среди детей и подростков объясняется, по-видимому, тем, что заболевание в этой группе населения клинически протекает преимущественно в легкой форме по типу острой респираторной вирусной инфекции.

Изучение пространственной характеристики заболеваемости ЛЗН, проведенное картографическим методом (рис. 2), продемонстрировало диффузный характер распределения случаев ЛЗН. Из эпидемиологического анамнеза известно, что заражение 5 из 8 заболевших произошло по месту проживания, 2 – при выезде на дачные участки, 1 – в природных местах отдыха. Таким образом, имело место отсутствие взаимосвязи между указанными случаями, что позволяет думать о достаточно экстенсивно протекавшем эпизоотическом процессе.

Диагноз подтвержден выявлением РНК ВЗН в различном биоматериале у 6 пациентов, наличием антител класса IgM в сыворотке крови – у 8 пациентов, антител класса IgG – у 7 пациентов (табл. 2). Высокая выявляемость РНК ВЗН в исследуемых образцах объясняется выраженной и продолжительной вирусемией, поскольку у большинства пациентов отмечено тяжелое течение заболевания. У двух пациентов РНК ВЗН выявлена только в образцах мочи при отрицательных результатах исследования проб крови и сыворотки крови. По данным научных публикаций, при исследовании проб мочи от пациентов с подтвержденной ЛЗН в динамике РНК ВЗН обнаруживалась в течение нескольких недель после начала симптомов и даже после исчезновения вируса в периферической крови [23]. Отсутствие антител класса IgG к ВЗН у одного пациента может быть обусловлено забором материала на относительно ранних сроках от начала заболевания (до 10–14-го дня, когда IgG-антитела появляются в диагностически значимых концентрациях). При изучении реакций перекрестного иммунитета у пациентов установлено наличие антител класса IgG к вирусу клещевого энцефалита

в 12,5 % случаев, что сопоставимо с утверждениями исследователей о наличии перекрестного иммунитета к другим флавивирусам [10, 24].

Изучение результатов лабораторной диагностики ЛЗН показало, что комплексное использование методов, заключающееся в параллельном применении методов ПЦР и ИФА, позволяет достоверно установить факт заражения ВЗН [15].

Генотипирование положительных на наличие РНК ВЗН образцов от трех пациентов, проведенное на базе Референс-центра по мониторингу за возбудителем ЛЗН, определило принадлежность РНК ВЗН ко 2-му генотипу. Известно, что преимущественная циркуляция данного геноварианта в России наблюдается с 2010 г. [25]. По результатам секвенирования фрагментов генома ВЗН общей протяженностью 1721 п.о. (protE, NS2A, NS3, NS4B, NS5E), содержащегося в образце сыворотки крови от пациента № 4 (табл. 1), с последующим филогенетическим анализом, установлено, что последовательности генома ВЗН относятся к субварианту 2-го генотипа – АВВ.2.1. Присутствие данного субварианта в Российской Федерации впервые установлено в 2021 г. на территории Волгоградской области. По всей видимости, данный вариант был занесен в Россию из эндемичных стран Африканского континента и в последующем широко распространился. Помимо Республики Татарстан, субвариант АВВ.2.1 был обнаружен и в других субъектах Приволжского федерального округа (Саратовская область, Республика Башкортостан), а также на обширной территории юга России.

Анализ эпидемиологического анамнеза у больных ЛЗН, зарегистрированных в 2023 г. на территории Республики Татарстан, не вызывает сомнений в местном характере заражения, что, согласно данным региональных исследователей, уже было отмечено в 2011 и 2012 гг. [16]. По данным Т.А. Савицкой и соавт. [16], сопоставимым с данными по г. Москве [20], источником инфицирования

Таблица 2 / Table 2

Результаты лабораторных исследований биоматериала от пациентов с ЛЗН (Казань, 2023 г.)

The results of laboratory studies of biomaterial in patients with WNF (Kazan, 2023)

№ случая Case No.	Дата отбора Date of sample collection	Вид биоматериала Type of biomaterial	Наличие РНК ВЗН The presence of WNV RNA	Наличие антител Presence of antibodies				Генотип ВЗН WNV genotype
				ВЗН WNV		БКЭ TBEV		
				IgM	IgG	IgM	IgG	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	05.09.2023 05 Sept 2023	Кровь Blood	пол. positive	–	–	–	–	РНК ВЗН 2-го генотипа WNV RNA genotype 2
		Сыворотка крови Blood serum	пол. positive	пол. positive	пол. positive	отр. negative	пол. positive	
		Моча Urine	пол. positive	–	–	–	–	
	15.09.2023 15 Sept 2023	Селезенка Spleen	пол. positive	–	–	–	–	
		Левое легкое Left lung	пол. positive	–	–	–	–	
		Правое легкое Right lung	пол. positive	–	–	–	–	
		Мозг Brain	пол. positive	–	–	–	–	
		Почка Bud	пол. positive	–	–	–	–	
		Печень Liver	пол. positive	–	–	–	–	
Лимфатический узел Lymph node	пол. positive	–	–	–	–			
Сгусток крови Blood clot	пол. positive	–	–	–	–			
2	04.09.2023 04 Sept 2023	Кровь Blood	отр. negative	–	–	–	–	–
		Сыворотка крови Blood serum	отр. negative	пол. positive	пол. positive	отр. negative	отр. negative	
		Моча Urine	пол. positive	–	–	–	–	
	06.09.2023 06 Sept 2023	Кровь Blood	отр. negative	–	–	–	–	
		Сыворотка крови Blood serum	отр. negative	–	–	–	–	
		Моча Urine	пол. positive	–	–	–	–	
3	09.09.2023 09 Sept 2023	Кровь Blood	–	–	–	–	–	РНК ВЗН 2-го генотипа WNV RNA genotype 2
		Сыворотка крови Blood serum	–	пол. positive	пол. positive	отр. negative	отр. negative	
		Моча Urine	отр. negative	–	–	–	–	
	15.09.2023 15 Sept 2023	Кровь Blood	пол. positive	–	–	–	–	
		Сыворотка крови Blood serum	пол. positive	–	–	–	–	
		Моча Urine	пол. positive	–	–	–	–	
4	05.09.2023 05 Sept 2023	Кровь Blood	пол. positive	–	–	–	–	РНК ВЗН 2-го генотипа WNV RNA genotype 2
		Сыворотка крови Blood serum	пол. positive	пол. positive	пол. positive	отр. negative	отр. negative	
		Моча Urine	пол. positive	–	–	–	–	

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	04.09.2023 04 Sept 2023	Кровь Blood	отр. negative	–	–	–	–	–
		Сыворотка крови Blood serum	отр. negative	пол. positive	пол. positive	отр. negative	отр. negative	
		Моча Urine	отр. negative	–	–	–	–	
6	06.09.2023 06 Sept 2023	Кровь Blood	отр. negative	–	–	–	–	–
		Сыворотка крови Blood serum	отр. negative	пол. positive	пол. positive	отр. negative	отр. negative	
		Моча Urine	пол. positive	–	–	–	–	
		Сыворотка крови Blood serum	отр. negative	пол. positive	пол. positive	отр. negative	отр. negative	
	Моча Urine	отр. negative	–	–	–	–		
	15.09.2023 15 Sept 2023	Кровь Blood	пол. positive	–	–	–	–	
Сыворотка крови Blood serum		пол. positive	–	–	–	–		
Моча Urine		пол. positive	–	–	–	–		
7	21.09.2023 21 Sept 2023	Кровь Blood	отр. negative	–	–	–	–	–
		Сыворотка крови Blood serum	отр. negative	пол. positive	пол. positive	отр. negative	отр. negative	
		Моча Urine	отр. negative	–	–	–	–	
	22.09.2023 22 Sept 2023	Кровь Blood	отр. negative	–	–	–	–	
		Сыворотка крови Blood serum	отр. negative	–	–	–	–	
		Моча Urine	отр. negative	–	–	–	–	
8	23.09.2023 23 Sept 2023	Кровь Blood	отр. negative	–	–	–	–	–
		Сыворотка крови Blood serum	отр. negative	пол. positive	отр. negative	отр. negative	отр. negative	
		Моча Urine	пол. positive	–	–	–	–	

Примечание: пол. – обнаружена(-ы); отр. – не обнаружена(-ы); «–» – исследование не проводилось; ВКЭ – вирус клещевого энцефалита.

Note: positive – detected; negative – not detected; “–” – the study was not performed; TBEV – tick-borne encephalitis virus.

заболевших ЛЗН в 2011–2012 гг. предполагались комары вида *Culex pipiens*. Проведенный в 2023 г. в республике мониторинг инфицированности ВЗН комаров рода *Culex* не выявил наличия РНК ВЗН у насекомых. Исследования материала, отобранного в рамках планового мониторинга и эпизоотолого-эпидемиологического расследования случаев ЛЗН в отдельных районах республики и г. Казани, показали отсутствие инфицированности ВЗН грызунов (лесной мыши и полевки обыкновенной), клещей *Dermacentor* и комаров родов *Aedes*, *Anopheles*. В период 2012–2021 гг. сотрудниками ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора (КНИИЭМ) также не выявлено инфицированных переносчиков

среди 8389 особей комаров, отловленных на территории Республики Татарстан [6, 16]. Вместе с тем ЛЗН является зоонозной инфекцией, и, следовательно, эпизоотический процесс предшествует эпидемическому, интенсивность которого зависит от частоты контакта человека с инфицированными переносчиками. Принимая вышеизложенное во внимание, мы не ставим под сомнение течение эпизоотического процесса ЛЗН на территории республики, а можем говорить лишь об отсутствии фактов лабораторного подтверждения инфицированности ВЗН обследованной выборки носителей и переносчиков, что, вероятно, связано с целым комплексом причин. К таким причинам мы можем отнести недостаточный для нашей территории объем исследований полевого мате-

риала, выбор неоптимальных для отбора материала биотопов, возможных нарушений «холодовой цепи» при транспортировке материала и т.д.

В более ранних (1989 г.) рекогносцировочных исследованиях, проведенных с целью установления возможности формирования очагов ЛЗН на территории Республики Татарстан, показано наличие иммунной прослойки к ВЗН у 21,3 % обследованных птенцов чаек, отловленных на Мансуровских островах Куйбышевского водохранилища. В этот же период из пула комаров массового орнитофильного вида *Aedes vexans* был изолирован штамм ВЗН. Указанные данные позволяли предположить местную циркуляцию возбудителя этой инфекции на территории республики [26].

При отсутствии положительных находок в носителях и переносчиках изучение иммунной прослойки среди выборочных групп населения специалистами КНИИЭМ в 2012–2021 гг. свидетельствовало о латентной иммунизации населения. Среди 2183 исследованных в этот период сывороток крови лиц, ранее не болевших ЛЗН, специфические антитела к ВЗН выявлены у 94 (4,3 %).

Особый интерес представляют данные по оценке серопревалентности к ВЗН, полученные исследователями КНИИЭМ в 2023 г. Уровень иммунной прослойки к ВЗН среди здорового населения составил 8,3 %, что фактически в два раза превысило среднее по республике значение [27]. Нарастание серопревалентности, по всей видимости, явилось следствием усиления контакта местных жителей с возбудителем ЛЗН в прошедшем эпидемическом сезоне.

Среди возможных факторов, приведших к осложнению эпидемиологической ситуации в 2023 г., наиболее явно прослеживаются климатические особенности. Как известно, температура среды обитания является одним из ключевых факторов, влияющим на репликацию и концентрацию ВЗН в слюнных железах комаров [14, 21]. В 2023 г. температура воздуха в Республике Татарстан с апреля по октябрь (за исключением июня) значительно превышала климатическую норму. Весна была ранней, что привело к смещению сроков активности комаров (вылету комаров-переносчиков с зимовок на две недели раньше обычного), быстрому прогреванию водоемов – мест выплода и, соответственно, быстрому нарастанию численности комаров. С 1 по 19 августа температура воздуха существенно превышала среднесезонные показатели, что благоприятствовало развитию основных переносчиков, репликации вируса и возрастанию риска передачи возбудителя человеку. Максимальное отклонение от нормы (+9,3 °C) зарегистрировано 18 августа [28]. Именно этот период совпал по времени со случаями обращения за медицинской помощью первых заболевших ЛЗН.

Таким образом, в Комплексном плане мероприятий по санитарной охране территории первоочередным фактором представляется корректировка мероприятий эпидемиологического надзора и контроля

ЛЗН. При планировании программы эпизоотологического мониторинга на 2024 г. целесообразно увеличить объемы исследований основных носителей и переносчиков ВЗН, а также провести прицельное обследование крупных млекопитающих, являющихся индикаторами уровня циркуляции ВЗН во времени и пространстве. Отсутствие инфицированности ВЗН в 2023 г. у некоторых видов перелетных и синантропных птиц, обитающих на территории г. Казани, требует дополнительного мониторинга распространенности носительства ВЗН у других представителей орнитофауны. Поскольку птицы являются не только резервуаром ВЗН, но и обеспечивают занос и распространение возбудителя на новые территории, актуальным направлением исследований является изучение видового состава и численности орнитофауны, с учетом миграционной активности. Наблюдения, проведенные орнитологами Казанского федерального университета в 2023 г., позволили зарегистрировать в Республике Татарстан зимовку морянки – редкой, перелетной птицы, ранее не проводившей здесь зиму, а также высокую численность клестов-еловиков и дроздов-рябинников [29]. Изменение характера миграции птиц, нехарактерных для республики, требует расширения программы мониторинга. Выявление и ликвидация мест массового размножения кровососущих двукрылых – потенциальных переносчиков ВЗН – является одной из первостепенных задач для профилактики заражения ВЗН в летние и осенние месяцы в Татарстане [10, 15].

С целью обеспечения своевременной и ранней диагностики ЛЗН необходимо повысить настороженность в отношении этого заболевания у врачей всех специальностей. Тяжесть течения вызываемого заболевания с возможностью возникновения неблагоприятных исходов требует качественной лабораторной верификации лихорадочных заболеваний неясной этиологии, менингитов и менингоэнцефалитов, особенно в периоды сезонного подъема заболеваемости (июль – сентябрь).

За 2023 г. на территории Республики Татарстан у жителей г. Казани зарегистрировано 8 местных случаев ЛЗН, преимущественно в летне-осенний период 2023 г. Показатель заболеваемости ЛЗН в Республике Татарстан составил 0,20 на 100 тыс. населения, летальность – 12,5 %. Учитывая рост заболеваемости ЛЗН в Татарстане и наличие причин, способствующих интенсификации эпизоотического процесса, потепление климата в республике, создается необходимость расширения программы эпидемиологического мониторинга исследований источников и переносчиков как отдельных представителей орнитофауны, так и насекомых; корректировки профилактических мероприятий по предотвращению распространения ЛЗН; ликвидации мест массового размножения кровососущих двукрылых – потенциальных переносчиков ЛЗН; проведения мониторинговых исследований серопревалентности к ВЗН жителей Республики Татарстан.

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. Забор биологического материала от больных проводился с их информированного согласия.

Список литературы

1. Егембердиева Р.А., Шапиева Ж.Ж., Дмитровский А.М., Майканов Н.С., Мусралина Л.З., Ергалиева А.А. Лихорадка Западного Нила: клинико-эпидемиологические проявления. *Вестник Казахского национального медицинского университета*. 2019; 2:18–20.
2. Clark M.B., Schaefer T.J. West Nile Virus. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.
3. Karim S.U., Bai F. Introduction to West Nile Virus. *Methods Mol. Biol.* 2023; 2585:1–7. DOI: 10.1007/978-1-0716-2760-0_1.
4. Sewgobind S., McCracken F., Schilling M. JMM Profile: West Nile virus. *J. Med. Microbiol.* 2023; 72(7). DOI: 10.1099/jmm.0.001730.
5. Казанцев А.В., Чиркина Т.М., Абрамкина С.С. Заболеваемость Лихорадкой Западного Нила на территории Саратовской области. *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. 2014; 4(5):612.
6. Савицкая Т.А., Агафонова Е.В., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Трифонов В.А., Серова И.В., Смелянский В.П., Беспятовых Н.А., Янтыкова Ю.Н. Эпидемиологическая ситуация по ЛЗН, мониторинг видового состава и численности переносчиков возбудителя ЛЗН в Республике Татарстан. В кн.: Актуальные вопросы изучения особо опасных и природно-очаговых болезней: Сборник статей научно-практической конференции. Новосибирск; 2019. С. 185–7.
7. Попов С.Ф., Иоанниди Е.А., Александров О.В. Тяжелое течение Лихорадки Западного Нила у пациента старческого возраста (случай из практики). *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2020; 1(73):150–2. DOI: 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-150-152.
8. Riccò M., Zaniboni A., Satta E., Ranzieri S., Cerviere M.P., Marchesi F., Peruzzi S. West Nile virus infection: a cross-sectional study on Italian medical professionals during summer season 2022. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2022; 7(12):404. DOI: 10.3390/tropicalmed7120404.
9. Musa-Gobe R., Omeiza G., Nafarnda W., Adamu A. Evidence of West Nile virus in chickens and horses in Nigeria: results from a serosurvey. *Vet. Ital.* 2022; 58(3). DOI: 10.12834/VetIt.2596.16323.2.
10. Macías A., Martín P., Pérez-Olmeda M., Fernández-Martínez B., Gómez-Barroso D., Fernández E., Ramos J.M., Herrero L., Rodríguez S., Delgado E., Sánchez-Seco M.P., Galán M., Corbacho A.J., Jimenez M., Montero-Peña C., Valle A., Vázquez A. West Nile virus emergence in humans in Extremadura, Spain 2020. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2023; 13:1155867. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1155867.
11. Идрисова М.Ш., Суктушинова С.Н., Бурлака У.И., Пахрутдинова Ж.М., Акбуба Ж.О. Изучение современных клинико-эпидемиологических аспектов лихорадки Западного Нила. *Forcipe*. 2020; 3(Спецвыпуск):318–9.
12. Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Из истории эпидемиологии: Лихорадка Западного Нила. [Электронный ресурс]. URL: https://www.rosпотребнадzor.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=18728 (дата обращения 15.11.2023).
13. Кадралиев Т.К., Каменецкая Д.М., Менишова И.Р., Попова А.А., Чеплакова П.А., Хворостухина А.И. Эпидемиологические особенности Лихорадки Западного Нила в Саратовской области. *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. 2020; 10(1):11.
14. Florescu A.M., Lundbo L.F., Knudsen J.A., Kondziella D., Mens H. A case of imported West Nile encephalitis. *Ugeskr. Laeger*. 2023; 185(11):V11220708.
15. Батуринов А.А., Антонов В.А., Смелянский В.П., Жуков К.В., Чернобай В.Ф., Колякина Н.Н. Роль птиц как потенциальных резервуаров вируса Западного Нила на территории Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 4:18–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-4-18-21.
16. Савицкая Т.А., Трифонов В.А., Серова И.В., Агафонова Е.В., Петрова Д.Н., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д. Эпидемиологические аспекты изучения Лихорадки Западного Нила в Татарстане. В кн.: Проблемы особо опасных инфек-

ций на Северном Кавказе: материалы региональной научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию со дня основания ФКУЗ Ставропольский противочумный институт Роспотребнадзора. Ставрополь: ООО «Экспо-Медиа»; 2022. С. 51.

17. Островский А.М. Кровососущие комары и мошки – переносчики вируса Лихорадки Западного Нила в Беларуси. *Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства*. 2015; 1(8):671–5.

18. Di Sabatino D., Bruno R., Sauro F., Danzetta M.L., Cito F., Iannetti S., Narcisi V., De Massis F., Calistri P. Epidemiology of West Nile disease in Europe and in the Mediterranean Basin from 2009 to 2013. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014:907852. DOI: 10.1155/2014/907852.

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

20. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 г. Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2022. 340 с.

21. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2022 г. Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2023. 370 с.

22. Ricco M., Peruzzi S., Balzarini F. Epidemiology of West Nile virus infections in Humans, Italy, 2012–2020: a summary of available evidences. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2021; 6(2):61. DOI: 10.3390/tropicalmed6020061.

23. Barzon L., Pacenti M., Franchin E., Pagni S., Martello T., Cattai M., Cusinato R., Palù G. Excretion of West Nile virus in urine during acute infection. *J. Infect. Dis.* 2013; 208(7):1086–92. DOI: 10.1093/infdis/jit290.

24. Замарина Т.В., Храпова Н.П., Баркова И.А., Пименова Е.В., Кузютина Ю.А., Ткаченко Г.А., Батуринов А.А., Лемасова Л.В., Леденева М.Л., Тетерятникова Н.Н. Информативность иммунологических и молекулярно-генетических тестов при подтверждении диагноза лихорадки Западного Нила. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2020; 4:42–5. DOI: 10.19163/1994-9480-2020-4(76)-42-45.

25. Батуринов А.А., Ткаченко Г.А., Леденева М.Л., Лемасова Л.В., Бондарева О.С., Кайсаров И.Д., Шпак И.М., Бородай Н.В., Король Е.В., Тетерятникова Н.Н. Молекулярно-генетический анализ вариантов вируса Западного Нила, циркулировавших на территории европейской части России в 2010–2019 гг. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2021; 98(3):308–18. DOI: 10.36233/0372-9311-85.

26. Трифонов В.А., Бойко В.А., Потапов В.С., Фассахов Р.С., Кутыркин А.В. Основные эпидемиологические закономерности заболеваемости некоторыми природно-очаговыми инфекциями в Республике Татарстан. *Дезинфекционное дело*. 2009; 3:39–42.

27. ЕГИСУ НИОКТР. Письмо «О выполнении Постановления № 2 от 31.03.2023» [Электронный ресурс]. URL: https://www.rosrid.ru/media/ikrbs_prepared_analytics_material_pdf/2023/12/18/6k2x3zt5b5vrondahpwns9q.pdf (дата обращения 25.01.2024).

28. ФГБУ Управление по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды Республики Татарстан. Особенности погоды в 2023 году. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.tatarmeteo.ru/ru/meteorologiya-i-klimat/obzor-pogody-i-pomesyaczam.html> (дата обращения 13.11.2023).

29. Медиапортал КФУ. Орнитолог КФУ рассказал, какие птицы вернутся в Татарстан первыми. [Электронный ресурс]. URL: <https://media.kpfu.ru/news/ornitolog-kfu-rasskazal-kakie-pticy-vernutsya-v-tatarstan-pervymi> (дата обращения 13.11.2023).

References

1. Egemberdieva R.A., Shapieva Z.Z., Dmitrovskiy A.M., Maikanov N.S., Musralina L.Z., Ergalieva A.A. [West Nile fever: clinical and epidemiological manifestations]. *Vestnik Kazakhskogo Natsional'nogo Meditsinskogo Universiteta [Bulletin of the Kazakh National Medical University]*. 2019; (2):18–20.
2. Clark M.B., Schaefer T.J. West Nile Virus. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024.
3. Karim S.U., Bai F. Introduction to West Nile Virus. *Methods Mol. Biol.* 2023; 2585:1–7. DOI: 10.1007/978-1-0716-2760-0_1.
4. Sewgobind S., McCracken F., Schilling M. JMM Profile: West Nile virus. *J. Med. Microbiol.* 2023; 72(7). DOI: 10.1099/jmm.0.001730.
5. Kazantsev A.V., Chirkina T.M., Abramkina S.S. [Incidence of West Nile fever in the Saratov Region]. *Byulleten' Meditsinskikh*

Internet-Konferentsij [Bulletin of Medical Internet Conferences]. 2014; 4(5):612.

6. Savitskaya T.A., Agafonova E.V., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D., Trifonov V.A., Serova I.V., Smelyansky V.P., Bespyatykh N.A., Yantykova Yu.N. [Epidemiological situation on WNF, monitoring of the species composition and number of vectors of the WNF agent in the Republic of Tatarstan]. In: [Current Issues in the Study of Particularly Dangerous and Natural-Focal Diseases. Collection of Papers of the Scientific and Practical Conference]. Novosibirsk; 2019. P. 185–7.

7. Popov S.F., Ioannidi E.A., Aleksandrov O.V. [Severe course of West-Nile fever in a patient of senile age (a case from practice)]. *Vestnik Volgogradskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta [Bulletin of the Volgograd State Medical University]*. 2020; 1(73):150–2. DOI: 10.19163/1994-9480-2020-1(73)-150-152.

8. Riccò M., Zaniboni A., Satta E., Ranzieri S., Cerviere M.P., Marchesi F., Peruzzi S. West Nile virus infection: a cross-sectional study on Italian medical professionals during summer season 2022. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2022; 7(12):404. DOI: 10.3390/tropicalmed7120404.

9. Musa-Gobe R., Omeiza G., Nafarnda W., Adamu A. Evidence of West Nile virus in chickens and horses in Nigeria: results from a serosurvey. *Vet. Ital.* 2022; 58(3). DOI: 10.12834/VetIt.2596.16323.2.

10. Macias A., Martín P., Pérez-Olmeda M., Fernández-Martínez B., Gómez-Barroso D., Fernández E., Ramos J.M., Herrero L., Rodríguez S., Delgado E., Sánchez-Seco M.P., Galán M., Corbacho A.J., Jimenez M., Montero-Peña C., Valle A., Vázquez A. West Nile virus emergence in humans in Extremadura, Spain 2020. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2023; 13:1155867. DOI: 10.3389/fcimb.2023.1155867.

11. Idrisova M.Sh., Suktushinova S.N., Burlaka U.I., Pakhrutdinova Zh.M., Akvuba Zh.O. [Study of modern clinical and epidemiological aspects of West Nile fever]. *Forcipe.* 2020; 3(Special ed.):318–9.

12. [Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being. From the history of epidemiology: West Nile fever]. (Cited 15 Nov 2023). [Internet]. Available from: https://www.rosпотребнадзор.ru/about/info/news/news_details.php?ELEMENT_ID=18728.

13. Kadraliev T.K., Kamenetskaya D.M., Menishova I.R., Popova A.A., Cheplakova P.A., Khvorostukhina A.I. [Epidemiological features of West Nile fever in the Saratov Region]. *Byulleten' Meditsinskikh Internet-Konferentsij [Bulletin of Medical Internet Conferences]*. 2020; 10(1):11.

14. Florescu A.M., Lundbo L.F., Knudsen J.A., Kondziella D., Mens H. A case of imported West Nile encephalitis. *Ugeskr. Laeger.* 2023; 185(11):V11220708.

15. Baturin A.A., Antonov V.A., Smelyansky V.P., Zhukov K.V., Chernobay V.F., Kolyakina N.N. [The role of birds as potential reservoirs of West Nile virus on the territory of the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2012; (4):18–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2012-4-18-21.

16. Savitskaya T.A., Trifonov V.A., Serova I.V., Agafonova E.V., Petrova D.N., Isaeva G.Sh., Reshetnikova I.D. [Epidemiological aspects of the study of West Nile fever in Tatarstan]. In: [Problems of Particularly Dangerous Infections in the North Caucasus. Materials of a Regional Scientific and Practical Conference with International Participation, Dedicated to the 70th Anniversary of the Founding of the Stavropol Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor]. Stavropol: "Expo-Media"; 2022. P. 51.

17. Ostrovsky A.M. [Blood-sucking mosquitoes and midges are carriers of the West Nile virus in Belarus]. *Sbornik Nauchnykh Trudov Vserossiyskogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Ovtsevodstva i Kozovodstva [Collection of Scientific Works of the All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding]*. 2015; 1(8):671–5.

18. Di Sabatino D., Bruno R., Sauro F., Danzetta M.L., Cito F., Iannetti S., Narcisi V., De Massis F., Calistri P. Epidemiology of West Nile disease in Europe and in the Mediterranean Basin from 2009 to 2013. *Biomed. Res. Int.* 2014; 2014:907852. DOI: 10.1155/2014/907852.

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

20. [On the State of Sanitary and Epidemiological Well-Being of the Population in the Russian Federation in 2021]. State Report. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Well-being; 2022. 340 p.

21. [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. 370 p.

22. Ricco M., Peruzzi S., Balzarini F. Epidemiology of West Nile virus infections in Humans, Italy, 2012–2020: a summary of available evidences. *Trop. Med. Infect. Dis.* 2021; 6(2):61. DOI: 10.3390/tropicalmed6020061.

23. Barzon L., Pacenti M., Franchin E., Pagni S., Martello T., Cattai M., Cusinato R., Palù G. Excretion of West Nile virus in urine during acute infection. *J. Infect. Dis.* 2013; 208(7):1086–92. DOI: 10.1093/infdis/jit290.

24. Zamarina T.V., Khrapova N.P., Barkova I.A., Pimenova E.V., Kuzytina Yu.A., Tkachenko G.A., Baturin A.A., Lemasova L.V., Ledeneva M.L., Teteryatnikova N.N. [The informative value of immunological and genetic tests in the diagnosis West Nile fever]. *Vestnik Volgogradskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta [Bulletin of the Volgograd State Medical University]*. 2020; (4):42–5. DOI: 10.19163/1994-9480-2020-4(76)-42-45.

25. Baturin A.A., Tkachenko G.A., Ledeneva M.L., Lemasova L.V., Bondareva O.S., Kaysarov I.D., Shpak I.M., Boroday N.V., Korol' E.V., Teteryatnikova N.N. [Molecular genetic analysis of West Nile virus variants circulating in the European part of Russia between 2010 and 2019]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]*. 2021; 98(3):308–18. DOI: 10.36233/0372-9311-85.

26. Trifonov V.A., Boyko V.A., Potapov V.S., Fassakhov R.S., Kutyrkin A.V. [Basic epidemiological patterns of incidence of some natural focal infections in the Republic of Tatarstan]. *Dezinfektsionnoe Delo [Disinfection Affairs]*. 2009; (3):39–42.

27. [The USAIS R&TD. Letter "On the implementation of Resolution No. 2 dated March 31, 2023"]. (Cited 25 Jan 2024). [Internet]. Available from: https://www.rosid.ru/media/ikrbs_prepared_analytics_material_pdf/2023/12/18/6k2x3z5t5b5vrvondahp_wins9q.pdf.

28. [FSBI Directorate for Hydrometeorology and Environmental Monitoring of the Republic of Tatarstan. Weather features in 2023]. (Cited 13 Nov 2023). [Internet]. Available from: <http://www.tatarmeteo.ru/meteorologiya-i-klimat/obzor-pogodyi-po-mesyacam.html>.

29. [Online news outlet of the Kazan Federal University (KFU). An ornithologist at KFU related which birds will return to Tatarstan first]. [Internet]. (Cited 13 Nov 2023). Available from: <https://media.kpfu.ru/news/ornitolog-kfu-rasskazal-kakie-pticy-vernutsya-v-tatarstan-pervymi>.

Authors:

Patyashina M.A., Avdonina L.G. Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan (Tatarstan); 30, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420111, Russian Federation; e-mail: RPN.RT@tatar.ru. Kazan State Medical Academy – Affiliated Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of the Russian Federation; 36, Butlerova St., Kazan, 420012, Russian Federation.

Aleshina A.G. Rospotrebnadzor Administration in the Republic of Tatarstan (Tatarstan). 30, Bolshaya Krasnaya St., Kazan, 420111, Russian Federation; e-mail: RPN.RT@tatar.ru.

Sizova E.P., Stavropol'skaya L.V., Karpova I.A., Goncharova A.V., Nurtidinova A.R. Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan (Tatarstan). 13a, Sechenova St., Kazan, 420061, Russian Federation.

Badamshina G.G. Center of Hygiene and Epidemiology in the Republic of Tatarstan (Tatarstan); 13a, Sechenova St., Kazan, 420061, Russian Federation. Kazan State Medical University; 49, Butlerova St., Kazan, 420012, Russian Federation.

Antonov A.S. Volgograd Research Anti-Plague Institute. 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Об авторах:

Патяшина М.А., Авдонина Л.Г. Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан (Татарстан); Российская Федерация, 420111, Казань, ул. Большая Красная, 30; e-mail: RPN.RT@tatar.ru. Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО; Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Бултерова, 36.

Алешина А.Г. Управление Роспотребнадзора по Республике Татарстан (Татарстан). Российская Федерация, 420111, Казань, ул. Большая Красная, 30. E-mail: RPN.RT@tatar.ru.

Сизова Е.П., Ставропольская Л.В., Карпова И.А., Гончарова А.В., Нуртдинова А.Р. Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан). Российская Федерация, 420061, Казань, ул. Сеченова, 13а.

Бадамшина Г.Г. Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан); Российская Федерация, 420061, Казань, ул. Сеченова, 13а. Казанский государственный медицинский университет; Российская Федерация, 420012, Казань, ул. Бултерова, 49.

Антонов А.С. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-167-177

УДК 614.4(672.4)

С.А. Портенко¹, Е.В. Найденова¹, Д.А. Агафонов¹, Д.А. Кузнецова², А.В. Евтеев², А.А. Тушинский², Л.Н. Дмитриева¹, А.Д. Катышев¹, В.Е. Куклев¹, N. Obissa³, V. Mabila⁴, J. Loubano⁴, M. Mpompolo⁴, J.-C. Mobousse Misse³, С.А. Щербакoва¹, В.В. Кутырев¹

Организация совместных лабораторных исследований при проведении санитарно-эпидемиологических мероприятий на территории Республики Конго специалистами Роспотребнадзора

¹ФКВН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация; ²ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт», Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ³Министерство здравоохранения и народонаселения Республики Конго, Браззавиль, Республика Конго; ⁴Генеральный госпиталь г. Долизи, Долизи, Республика Конго

В работе представлены данные об организации лабораторных исследований проб клинического материала и из объектов окружающей среды при этиологической расшифровке вспышки острых кишечных инфекций специалистами объединенной СПЭБ Роспотребнадзора в г. Долизи (Республика Конго) в период с 7 по 24 августа 2023 г. **Материалы и методы.** С целью выявления возбудителей холеры и других острых кишечных инфекций бактериальной и вирусной природы исследовано 177 проб клинического материала и из объектов окружающей среды, а также посева на плотных питательных средах и бактериальные взвеси. Всего проведено 1023 исследования с помощью ПЦР и 305 – бактериологическим методом. **Результаты и обсуждение.** Во всех исследованных пробах возбудитель холеры не обнаружен. Методом ПЦР маркеры возбудителей острых кишечных инфекций (*Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Rotavirus A*) выявлены в 23 пробах клинического материала и 1 пробе бактериальной взвеси. В объектах окружающей среды ДНК/РНК возбудителей не обнаружена. При проведении культуральных исследований из 8 клинических образцов выделены культуры *Salmonella enterica* serovar Typhi, определена их чувствительность к антибактериальным препаратам. Методом полногеномного секвенирования через нанопоры на платформе MinIon (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания) изучены нуклеотидные последовательности 4 изолятов *S. Typhi* и депонированы в международную базу данных NCBI GenBank (№ CP141260, CP141193, CP141194, CP141195). Также при исследовании образцов из стерильных локусов (кровь, перитонеальная жидкость, операционный материал) от пациентов Генерального и Референс госпиталей г. Долизи выделено 5 культур неферментирующих бактерий, определена их чувствительность к антибактериальным препаратам.

Ключевые слова: *Shigella*, *Salmonella* Typhi, *Vibrio cholerae*, полимеразная цепная реакция, бактериологические исследования, сиквенс, клинические образцы, пробы окружающей среды, Республика Конго.

Корреспондирующий автор: Портенко Светлана Анатольевна, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Портенко С.А., Найденова Е.В., Агафонов Д.А., Кузнецова Д.А., Евтеев А.В., Тушинский А.А., Дмитриева Л.Н., Катышев А.Д., Куклев В.Е., Obissa N., Mabila V., Loubano J., Mpompolo M., Mobousse Misse J.-C., Щербакoва С.А., Кутырев В.В. Организация совместных лабораторных исследований при проведении санитарно-эпидемиологических мероприятий на территории Республики Конго специалистами Роспотребнадзора. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 2:167–177. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-167-177

Поступила 04.04.2024. Отправлена на доработку 03.05.2024. Принята к публ. 03.06.2024.

S.A. Portenko¹, E.V. Naidenova¹, D.A. Agafonov¹, D.A. Kuznetsova², A.V. Evteev², A.A. Tushinsky², L.N. Dmitrieva¹, A.D. Katyshev¹, V.E. Kuklev¹, N. Obissa³, V. Mabila⁴, J. Loubano⁴, M. Mpompolo⁴, J.-C. Mobousse Misse³, S.A. Shcherbakova¹, V.V. Kutyrev¹

Organization of Joint Laboratory Studies during Sanitary and Epidemiological Interventions in the Republic of the Congo by Rospotrebnadzor Specialists

¹Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation; ²Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don, Russian Federation; ³Ministry of Health and Population of the Republic of the Congo, Brazzaville, Republic of the Congo; ⁴Dolisie General Hospital, Dolisie, Republic of the Congo

Abstract. The study presents the data on organization of laboratory testing of clinical and environmental samples within the framework of establishing the etiology of the acute intestinal infections outbreak, performed by the specialists of the joint SAET of the Rospotrebnadzor in Dolisie (Republic of the Congo) in the period of 07–24 July, 2023. **Materials and methods.** In order to identify the causative agents of cholera and other acute intestinal infections of bacterial and viral nature, 177 clinical and environmental samples were tested, as well as cultures on solid nutrient media and bacterial suspensions. A total of 1023 tests were carried out by polymerase chain reaction (PCR) and 305 – using bacteriological method. **Results and discussion.** The causative agent of cholera has not been detected in any of the samples tested. Using the PCR method, markers of acute intestinal diseases agents (*Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Rotavirus A*) have been identified in 23 clinical samples and 1 sample of bacterial suspension. No DNA/RNA of pathogens has been detected in environmental samples. During culture studies, *Salmonella enterica* serovar Typhi have been isolated from 8 clinical samples, and their antibiotic sensitivity has been determined. Applying whole-genome nanopore sequencing, using the MinIon platform (Oxford Nanopore Technologies, UK), nucleotide sequences of 4 *S. Typhi* isolates have been investigated and deposited in the international database NCBI GenBank (No. CP141260, CP141193,

CP141194, CP141195). Additionally, the analysis of initially sterile samples (blood, peritoneal fluid, intraoperative samples) from the patients of General and Reference hospitals of Dolisie has resulted in the identification of 5 cultures of non-fermenting bacteria, and their antibiotic sensitivity has been determined.

Key words: *Shigella*, *Salmonella* Typhi, *Vibrio cholerae*, polymerase chain reaction, bacteriological studies, sequence, clinical samples, environmental samples, Republic of the Congo.

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

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

Bioethics: The collection of biological material from patients was carried out upon their informed consent.

Acknowledgments: The team of authors expresses gratitude for the assistance in organizing the research activities to the specialists of the Ministry of Health and Population of the Republic of the Congo and the Department of Health of the Province of Niari, the management and staff of the General Hospital (Dolisie), the Reference Hospital (Dolisie), Adolphe Sise General Hospital (Pointe-Noire), as well as the laboratory of the Institute of Public Health of the Republic of the Congo (Brazzaville).

Corresponding author: Svetlana A. Portenko, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Portenko S.A., Naidenova E.V., Agafonov D.A., Kuznetsova D.A., Evteev A.V., Tushinsky A.A., Dmitrieva L.N., Katyshev A.D., Kuklev V.E., Obissa N., Mabila V., Loubano J., Mpompolo M., Mobousse Misse J.-C., Shcherbakova S.A., Kutryev V.V. Organization of Joint Laboratory Studies during Sanitary and Epidemiological Interventions in the Republic of the Congo by Rospotrebnadzor Specialists. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:167–177. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-167-177

Received 04.04.2024. Revised 03.05.2024. Accepted 03.06.2024.

Portenko S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8334-9173>
Naidenova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6474-3696>
Agafonov D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9273-6063>
Kuznetsova D.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4198-0629>
Evteev A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0087-9153>
Tushinsky A.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-2889-4724>

Dmitrieva L.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3564-985X>
Katyshev A.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8260-4670>
Kuklev V.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9834-8544>
Obissa N., ORCID: <http://orcid.org/0009-0006-9744-459X>
Shcherbakova S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1143-4069>
Kutryev V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3788-3452>

Острые кишечные инфекции (ОКИ) являются глобальной проблемой для общественного здравоохранения во всем мире, но особенно сложная ситуация наблюдается в развивающихся странах, где они являются одной из основных причин заболеваемости и смертности населения [1]. Известно, что ежегодно в мире регистрируется от 10,9 до 21 млн случаев заболеваний людей брюшным тифом и паратифами [2–5], из них 110–120 тыс. заканчиваются летальным исходом.

Во многих странах улучшение бытовых условий и применение антибактериальных препаратов (АБП) способствовали снижению количества больных, однако для стран Африки это остается серьезной проблемой. Так, по данным ВОЗ, 42 из 57 стран Африки сообщили как минимум об одном зарегистрированном случае брюшного тифа и паратифов, а общее количество заболевших в 2023 г. составило около 3 млн человек. Также в 2023 г. 17 африканских стран уведомили ВОЗ о выявлении на их территории заболевания холерой [6]. Но реальную картину распространения заболеваний ОКИ в Африке трудно оценить из-за слабости систем здравоохранения и отсутствия в большинстве случаев лабораторной диагностики этой группы заболеваний.

Пробы клинического материала от больных с ОКИ исследуют с использованием бактериологических, иммуносерологических и молекулярно-генетических методов [7, 8]. Для выявления возбудителя в объектах окружающей среды используют ПЦР и бактериологический метод [9]. В ситуации, когда проведение лабораторных исследований проблематично, при установлении диагноза, как правило, опираются на клинические симптомы [10]. В связи с этим больные получают только эмпирическое лечение АБП, что зачастую способствует воз-

никновению множественной лекарственной устойчивости возбудителей. Также остаются открытыми вопросы организации и проведения противоэпидемических мероприятий. Очевидно, что выделение бактериальных культур из образцов клинического материала или эпидемиологически значимых объектов окружающей среды является предпочтительным, так как позволяет подтвердить наличие жизнеспособных бактерий и изучить свойства патогена, в том числе его чувствительность к АБП [11]. Таким образом, сложно переоценить значимость точных и своевременных результатов лабораторных исследований для клиницистов и эпидемиологов, сталкивающихся как с брюшнотифозной инфекцией, так и с другими ОКИ.

В июле 2023 г. Министерство здравоохранения и народонаселения Республики Конго (г. Браззавиль) сообщило о резком увеличении случаев ОКИ, не включая брюшной тиф, шигеллез и холеру, на территории пяти провинций. Первый заболевший в ходе данной вспышки выявлен 28.06.2023, а на 29.08.2023 зарегистрировано в общей сложности 2389 больных, в том числе 52 смерти (общий коэффициент летальности – 2,2 %). Случаи заболевания с подозрением на брюшной тиф составили 50,2 % (n=1200); шигеллез – 46,9 % (n=1120); холеру – 2,9 % (n=69). Преобладающей симптоматикой являлась лихорадка (39–40 °C), головная боль, боли в животе, диарея, рвота и слабость. Выявлено 1384 заболевших, неотложная хирургическая помощь по поводу перфорации кишечника оказана 88 (3,7 %) пациентам. Эпицентром событий стал г. Долизи, третий по численности город страны [12, 13].

С целью оказания консультативно-методической и практической помощи конголезским коллегам в купировании этой вспышки и в рамках выполнения

поручения Правительства Российской Федерации в Республику Конго была направлена объединенная специализированная противоэпидемическая бригада (СПЭБ) Роспотребнадзора, в состав которой вошли эпидемиологи, бактериологи и специалисты по лабораторной диагностике из Российского противочумного института «Микроб» и Ростовского-на-Дону противочумного института, а также инфекционисты из Центрального научно-исследовательского института эпидемиологии. Перед сотрудниками СПЭБ поставлены следующие задачи: проведение эпидемиологического расследования в г. Долизи (Республика Конго), разработка рекомендаций по комплексу противоэпидемических мероприятий, проведение индикации и идентификации возбудителей ОКИ, включая дифференциальную диагностику, с целью выявления этиологических агентов, вызвавших вспышку и расширенное изучение выделенных штаммов.

Материалы и методы

Пробы клинического материала (82 образца от 65 пациентов) в лабораторию СПЭБ поступали из медицинских организаций г. Долизи (Генеральный госпиталь и Госпиталь Референс), а также г. Пуэнт-Нуар (Госпиталь Адольфа Сисе), куда была направлена часть заболевших ОКИ из г. Долизи. Отбор проб воды из поверхностных водоемов, источников водоснабжения, сточных вод, смывов, готовых блюд, овощей проводили силами специалистов СПЭБ Роспотребнадзора совместно с сотрудниками департамента Министерства здравоохранения и народонаселения г. Долизи в соответствии с требованиями ГОСТ 31942-2012 (ISO 19458:2006) и МУК 4.2.3745-22. Всего отобрано и исследовано 64 пробы из объектов окружающей среды: 41 образец воды (17 – из открытых водоемов, 21 – из источников водоснабжения), 8 проб пищевых продуктов (4 – из готовых блюд, 4 – из свежих овощей и зелени) и 15 образцов смывов (3 – с рук персонала общепита, 12 – с кухонного инвентаря). Из лаборатории Института общественного здравоохранения г. Браззавиль были доставлены пробы фекалий (5), культуральных взвесей (3) и воды (14), всего 22 образца; из бактериологической лаборатории Генерального госпиталя г. Долизи поступили 9 объектов с посевами проб клинического материала на плотных питательных средах.

Отбор, упаковку и доставку проб клинического и биологического материала осуществляли в соответствии с требованиями СанПиН 3.3686-21 и в сопровождении направительных документов. При отборе проб из объектов окружающей среды заполняли протокол с указанием необходимой информации, в том числе координат точек отбора образцов [12].

С целью выявления возбудителей и/или маркеров холеры и других ОКИ бактериальной и вирусной природы все пробы клинического материала и окружающей среды, а также объекты с посевами исследованы с помощью ПЦР и бактериологическим

методом с использованием диагностических препаратов, представленных в табл. 1. Работу проводили в соответствии с требованиями действующих в Российской Федерации нормативно-методических документов: МУК 4.2.1884-04, МУ 1.3.2569-09, МУК 4.2.3745-22, МУ 2.1.5.800-99, МУ 4.2.2723-10 и МУК 4.2.1890-04.

Все результаты исследований образцов клинического материала оформлены в виде протоколов на французском языке и переданы в медицинские организации, направившие пробы.

Для изучения молекулярно-генетических свойств выделенных культур брюшнотифозного микроба применяли метод полногеномного секвенирования на платформе MinIon с набором реагентов SQK-RBK110.96 (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). При сборке генома использовали алгоритм Flye assembler v2.9.3 [14]. Типирование штаммов методом мультилокусного секвенирования (MLST) [15] осуществляли с ресурсом Enterobase [16], поиск единичных полиморфизмов – с пакетом программ Snippy v4.6.0. Для определения генотипа и прогнозирования фенотипа устойчивости к АБП *S. Typhi* полученные данные анализировали с помощью комплексной базы данных CARD [17], биоинформационной платформы CGE [18] и алгоритма BLAST [19].

Результаты и обсуждение

Предварительный анализ ситуации в Республике Конго в связи со вспышкой ОКИ показал ряд проблем при проведении исследований, в частности нехватку диагностических препаратов и оборудования, квалифицированного персонала, после чего руководством Роспотребнадзора было принято решение об усилении лабораторной базы в эпицентре вспышки ОКИ – г. Долизи.

В помещениях лаборатории Генерального госпиталя г. Долизи были оборудованы рабочие места для регистрации, кодирования поступающих проб и оформления результатов анализа, приема и подготовки образцов, выделения ДНК/РНК, бактериологических исследований. На базе доставленной в Республику Конго пневмокаркасной лаборатории СПЭБ Роспотребнадзора организована работа методом ПЦР, стерилизация питательных сред, обеззараживание объектов с патогенными биологическими агентами путем автоклавирования.

В результате исследований, проведенных с помощью ПЦР и бактериологического метода, в пробах клинического материала и объектов окружающей среды возбудитель холеры и его генетические маркеры не обнаружены.

Методом ПЦР маркеры ОКИ бактериальной и вирусной природы выявлены в 29 пробах из 82 (35,4%), из них в 8 обнаружена ДНК *S. Typhi* (9,7% от общего числа исследованных проб клинического материала) (табл. 2).

Таблица 1 / Table 1

Диагностические препараты и реактивы, используемые в работе
Diagnostic kits and reagents used in the study

Название Name	Производитель Manufacturer	Назначение Purpose
«АмплиСенс® <i>Vibrio cholerae</i> -FL» “AmpliSense® <i>Vibrio cholerae</i> -FL”	ФБУН ЦНИИЭ, Россия CRIE, Russia	Выявление ДНК <i>Vibrio cholerae</i> , идентификация патогенных штаммов <i>V. cholerae</i> и для определения принадлежности к серогруппам O1 и O139 в биологическом материале и объектах окружающей среды методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией Detection of <i>Vibrio cholerae</i> DNA, identification of <i>V. cholerae</i> pathogenic strains and determination of their appurtenance to serogroups O1 and O139, in biological material and environmental objects using real-time PCR
«АмплиСенс® ОКИ скрин-FL» “AmpliSense® ОКИ screen-FL”		Выявление и дифференциация ДНК микроорганизмов <i>Shigella</i> spp., энтероинвазивных <i>Escherichia coli</i> (EIEC), <i>Salmonella</i> spp. и термофильных <i>Campylobacter</i> spp., <i>Adenovirus F</i> и РНК <i>Rotavirus A</i> , <i>Norovirus</i> 2-го генотипа, <i>Astrovirus</i> в объектах окружающей среды и клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией Detection and differentiation of DNA of <i>Shigella</i> spp., interinvasive <i>Escherichia coli</i> (EIEC), <i>Salmonella</i> spp. and thermophilic <i>Campylobacter</i> spp., <i>Adenovirus F</i> and RNA of <i>Rotavirus A</i> , <i>Norovirus</i> genotype 2, <i>Astrovirus</i> , in clinical and environmental samples, by real-time PCR
«АмплиСенс® <i>Salmonella typhi</i> -FL» “AmpliSense® <i>Salmonella typhi</i> -FL”		Выявление ДНК <i>Salmonella Typhi</i> в объектах окружающей среды и клиническом материале методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией Detection of <i>Salmonella Typhi</i> DNA in clinical and environmental samples, by real-time PCR
Пептон основной Base peptone	ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия SRCAMB, Russia	Среды накопления Enrichment media
Селенитовый бульон Selenite broth		
Щелочной агар Alkaline agar		
TCBS-агар TCBS-agar		Питательные и дифференциально-диагностические среды для выделения и идентификации возбудителей холеры и ОКИ бактериальной природы Nutrient and differentiation media for isolation and identification of agents of cholera and acute intestinal diseases of bacterial origin
Висмут-сульфит-ГРМ агар Bismuth sulfite-GRM agar		
Агар Эндо-ГРМ Endo-GRM agar		
Агар Плоскирева-ГРМ Ploskirev GRM agar		
Агар Клигlera-ГРМ Kligler GRM agar		
Агар Мюллера – Хинтон II Mueller – Hinton II agar		
Диски с АБП Antibiotic discs	BIOANALYSE Limited, Турция BIOANALYSE Limited, Turkey	Определение чувствительности к АБП выделенных культур Antibiotic susceptibility testing
Набор для идентификации <i>Enterobacteriaceae</i> и других неприхотливых грамотрицательных палочек API 20 E Antibiotic discs Kit for identification of <i>Enterobacteriaceae</i> and other unpretentious gram-negative rods API 20 E	bioMerieux SA, Франция bioMerieux SA, France	Изучение биохимических свойств выделенных культур Study of biochemical features of isolates
Набор для идентификации неприхотливых грамотрицательных аэробных/микроаэрофильных палочек API 20 NE Kit for identification of unpretentious gram-negative aerobic/microanaerophylic rods API 20 NE		
О- и Н-агглютинирующие диагностические сальмонеллезные сыворотки Петсала O- and H-agglutinating diagnostic salmonella Petsal serums	ФГУП СПбНИИВС ФМБА, Россия SPbRIVS, Russia	Определение антигенной структуры сальмонелл Study of <i>Salmonella</i> antigen structure

Таблица 2 / Table 2

Результаты исследований проб клинического материала и объектов окружающей среды
Results of studies of clinical and environmental samples

Вид материала Sample type	Количество проб Number of samples	ПЦП PCR				Бактериологические исследования Bacteriological studies			
		Всего исследовано Studied total	Обнаружены маркеры Markers detected	абс. abs.	%	Всего исследовано Studied total	Выделены культуры Cultures isolated	абс. abs.	%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Клинический материал (82 пробы от 65 пациентов) Clinical samples (82 samples from 65 patients)									
Ректальные мазки Rectal swabs	18	168	<i>Salmonella</i> spp. (из них <i>S. Typhi</i>) (of those <i>S. Typhi</i>)	6 (3)	7,3	36	<i>S. Typhi</i>	4	4,9
			<i>Shigella</i> spp.	2	2,5				
			<i>Campylobacter</i> spp.	1	1,2				
			<i>Rotavirus A</i>	1	1,2				
Фекалии Feces	30	273	<i>Salmonella</i> spp. (из них <i>S. Typhi</i>) (of those <i>S. Typhi</i>)	3 (1)	3,6	60	<i>S. Typhi</i>	1	1,2
Содержимое назогастрального зонда Contents of the nasogastric tube	1	9	–	0	–	2	–	0	–
Содержимое колостомы Contents of colostoma	4	37	<i>Salmonella</i> spp.	1	1,2	8	–	0	–
Операционный материал Surgical material	13	124	<i>Salmonella</i> spp.	7	8,5	26	–	0	–
Перитонеальная жидкость Peritoneal fluid	7	68	<i>Salmonella</i> spp. (из них <i>S. Typhi</i>) (of those <i>S. Typhi</i>)	5 (3)	6,1	14	<i>S. Typhi</i>	1	1,2
Содержимое кишечника Contents of intestine	2	20	<i>Salmonella</i> spp.	2	2,4	4	<i>S. Typhi</i>	1	1,2
Кровь Blood	20	21	<i>Salmonella</i> spp.	1	1,2	1	–	0	–
Проведено исследований Tests performed		632		22	26,8	133	<i>S. Typhi</i>	7	8,5
Пробы объектов окружающей среды (41) Environmental samples (41)									
Вода из открытых водоемов (реки, озера, ручьи, пруды) Water from open reservoirs (rivers, lakes, springs, ponds)	17	51	–	0	–	34	–	0	–
Вода из источников водоснабжения Water from water supply system	21	63	–	0	–	42	–	–	–
Пробы сточных вод, поврежденной канализации Wastewater samples from damaged sewers	3	9	–	0	–	6	–	0	–
Пробы готовых блюд, овощей, смывы с кухонного инвентаря, рук персонала точек общественного питания (23) Samples of cooked dishes, vegetables; swabs of kitchen equipment, hands of public catering staff (23)									
Готовые блюда Cooked dishes	4	12	–	0	–	8	–	0	–

Окончание табл. 2 / Ending of table 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Овощи, зелень свежие Vegetables, fresh greengrocery	4	12	–	0	–	8	–	0	–
Смывы с рук повара Swabs of hands of a cook	3	9	–	0	–	6	–	0	–
Смывы с кухонного инвентаря Swabs of kitchen equipment	12	36	–	0	–	24	–	0	–
Проведено исследований Tests performed		192				128			
Пробы, доставленные из лаборатории Генерального госпиталя г. Долизи (9) Samples delivered from the laboratory of Dolisie General Hospital (9)									
Посевы на плотных питательных средах Cultures on solid nutrient media	9	81	–	0	–	18	–	–	–
Проведено исследований Tests performed		81	–	0	–	18	–	–	–
Пробы, доставленные из лаборатории института общественного здравоохранения г. Браззавиль (22) Samples delivered from the laboratory of the Public Health Institute of Brazzaville (22)									
Фекалии Feces	5	46	<i>Salmonella</i> spp. (из них <i>S. Typhi</i>) (of those <i>S. Typhi</i>)	1 (1)	4,5	10	<i>S. Typhi</i>	–	–
Культуральная взвесь Culture suspension	3	27	<i>Salmonella</i> spp.	1	4,5	6	–	–	–
Вода Water	14	126	–	0	–	28	–	0	–
Проведено исследований Tests performed		199	<i>Salmonella</i> spp.	2	9,1	44	<i>S. Typhi</i>	1	4,5

Во всех пробах из объектов окружающей среды, посевах на плотных питательных средах и во всех образцах (за исключением одной пробы фекалий и одной пробы культуральной взвеси), направленных из лаборатории Института общественного здравоохранения г. Браззавиль, ДНК/РНК возбудителей ОКИ бактериальной и вирусной природы не выявлены.

При проведении культуральных исследований из 8 клинических образцов (7 – от пациентов медицинских организаций, 1 – из лаборатории Института общественного здравоохранения г. Браззавиль) выделены культуры, идентифицированные по совокупности морфологических, биохимических и антигенных свойств, а также методом ПЦР как *Salmonella enterica* serovar Typhi (рис. 1).

Для семи выделенных штаммов сальмонелл проведено определение чувствительности к АБП с помощью диско-диффузионного метода (ДДМ) в соответствии с требованиями МУК 4.2.1890-04, во всех случаях выявлена чувствительность к фторхинолонам, цефалоспорином и карбапенемам, к хлорамфениколу – варьировала (у четырех изолятов – S, у трех – I). Все изученные штаммы брюшнотифозного микроба обладали устойчивостью к

бета-лактамам – антибиотикам – аминопенициллинам, в том числе ингибиторзащищенным (табл. 3). Чувствительность к АБП восьмого изолята сотрудники лаборатории госпиталя определяли самостоятельно после отъезда специалистов СПЭБ.

В результате изучения выделенных культур брюшнотифозного микроба методом полногеномного секвенирования для четырех из них установлено, что они относятся к виду *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi, степень подобия составила до 99,8 %, выявленные различия обусловлены преимущественно ошибками в гомополимерных участках последовательностей. Проведенный анализ семи генов, применяющихся для типирования штаммов сальмонелл методом MLST (*aroC*, *dnaN*, *hemD*, *hisD*, *purE*, *sucA*, *thrA*), показал, что все изученные культуры имели одинаковый аллельный профиль, соответствующий 2-му сиквенс-типу (ST2). Для визуализации полученных результатов MLST и филогенетических связей между штаммами на основе выявленных полиморфизмов семи указанных генов построена дендрограмма (рис. 2), в качестве референтной использовали последовательность штамма LT2 ser. serovar Typhimurium (GenBank AE006468).

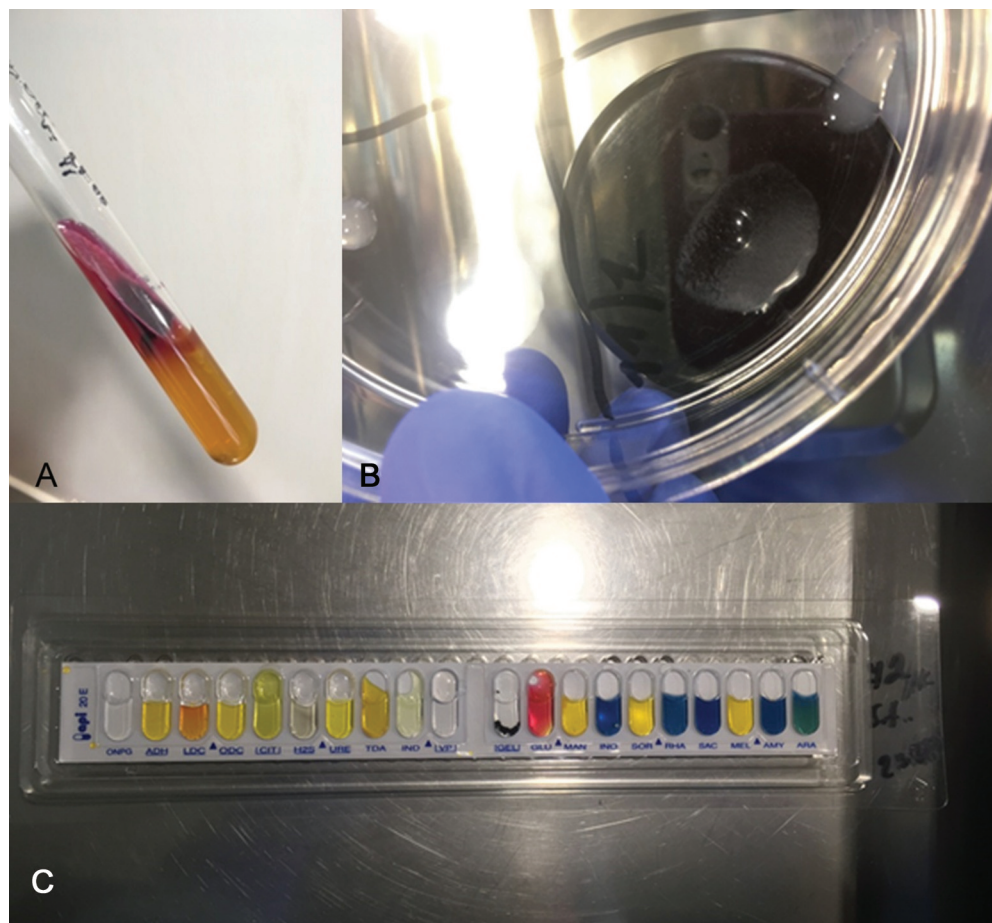


Рис. 1. Свойства выделенных культур *S. Typhi*:

A – рост на агаре Клигера-ГРМ; *B* – реакция агглютинации с сывороткой диагностической сальмонеллезной моновалентной О-сывороткой 9; *C* – учет результатов биохимических тестов с помощью набора API 20 E (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi* с вероятностью 99,4 %)

Fig. 2. Properties of the isolated *S. Typhi* cultures:

A – growth on Kligler-GRM agar; *B* – agglutination with the diagnostic Salmonella monovalent O-serum 9; *C* – results of the biochemical tests performed with the API 20 E kit (*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi* with a likeliness of 99.4 %)

Таблица 3 / Table 3

Результаты оценки чувствительности к АБП у выделенных штаммов *S. Typhi*
 Results of the antibiotic susceptibility tests in isolated strains of *S. Typhi*

Наименования АБП Antibiotic	Содержание в диске, мкг Disc content, µg	Номера выделенных штаммов No. of the isolated strains													
		0011		0012		0026		0043		0067		0072		0723X6N1*	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Ампициллин / Ampicillin	10	9	P	9	P	9	P	9	P	9	P	9	P	9	P
Амоксициллин-клавуланат / Amoxicillin-clavulanate	20/10	9	P	15	Π	9	P	9	P	9	P	9	P	9	P
Цефтриаксон / Ceftriaxone	30	28	Ч	28	Ч	28	Ч	28	Ч	28	Ч	28	Ч	28	Ч
Цефтазидим / Cefazidime	30	24	Ч	24	Ч	24	Ч	24	Ч	24	Ч	24	Ч	24	Ч
Цефиксим / Cefixime	5	22	Ч	22	Ч	22	Ч	22	Ч	22	Ч	22	Ч	22	Ч
Меропенем / Meropenem	10	20	Ч	20	Ч	20	Ч	20	Ч	20	Ч	20	Ч	20	Ч
Гентамицин / Gentamicin	10	19	Ч	19	Ч	19	Ч	19	Ч	19	Ч	19	Ч	19	Ч
Офлоксацин / Ofloxacin	5	20	Ч	20	Ч	20	Ч	20	Ч	20	Ч	20	Ч	20	Ч
Левифлоксацин / Levofloxacin	5	21	Ч	21	Ч	21	Ч	21	Ч	21	Ч	21	Ч	21	Ч
Хлорамфеникол / Chloramphenicol	30	15	Π	15	Π	15	Π	15	Π	21	Ч	21	Ч	21	Ч

Примечание: 1 – диаметр зон подавления роста, мм; 2 – критерии интерпретации результатов определения чувствительности: Ч – чувствительные штаммы; Π – штаммы с промежуточной чувствительностью; P – резистентные штаммы; * образец получен из лаборатории Института общественного здравоохранения г. Браззавиль.

Note: 1 – diameter of growth inhibition zones, mm; 2 – criteria for interpreting sensitivity results: Ч – sensitive strains; Π – intermediate susceptibility strains; P – resistant strains; * sample acquired from the laboratory of the Institute of Public Health of Brazzaville.

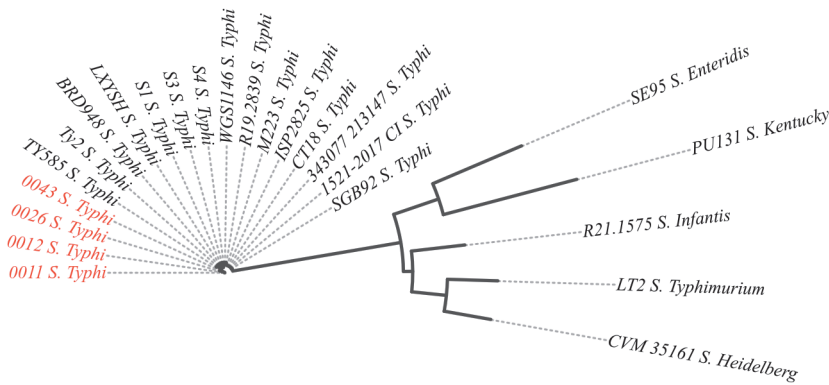


Рис. 2. Дендрограмма, построенная на основе результатов MLST. Красным цветом отмечены изоляты, полученные при проведении данной работы

Fig. 2. Dendrogram built based on the MLST results. Red color indicates the strains isolated within the frames of the current study

Генетические последовательности всех изученных штаммов депонированы в базу данных Gen Bank (№ CP141260, CP141193, CP141194, CP141195).

При дальнейшем анализе полученных нуклеотидных последовательностей с целью определения генотипа и прогнозирования фенотипа устойчивости к АБП для четырех изученных штаммов определены гены устойчивости к бета-лактамам [*bla*TEM-1B], тетрациклину [*tet*(B)] и аминогликозидам [*aph*(3'')-Ib, APH(3'')-Ib], что полностью коррелирует с данными, полученными при определении чувствительности к АБП в условиях *in vitro*.

Все изученные штаммы оказались чувствительными к офлоксацину и левофлоксацину не только при исследовании с помощью ДММ, но и при анализе нуклеотидных последовательностей генов *gyrA*, *gyrB*, *parC* и *parE*, определяющих устойчивость к фторхинолонам и находящихся в прямой зависимости от количества мутаций [20, 21]. Замены обнаружены в последовательности гена *gyrB* по локусу S464Y, что, по литературным данным, не приводит к снижению чувствительности к препаратам фторхинолонового ряда (офлоксацин и левофлоксацин).

При поиске детерминант резистентности плазмидной локализации нами не выявлены гены устойчивости к хинолонам *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC* и *qnrD*, в качестве референс-последовательностей использовали аллели генов из базы данных NCBI GenBank (для *qnrA* – 12 аллелей, *qnrB* – 20, *qnrC* – 1, *qnrD* – 3, *qnrS* – 14). Также у всех штаммов отсутствовала последовательность гена старта репликации плазмид *repA* (GenBank AE006471). Полученные данные позволяют сделать выводы об отсутствии как плазмидных генов резистентности к хинолонам у изученных нами четырех штаммов брюшнотифозного микроба, так и непосредственно плазмид *pHSM1* и *pHSM2*.

При исследовании проб клинического материала от пациентов госпиталей г. Долизи, полученных, в том числе, из стерильных в норме локусов, выделены три культуры *Pseudomonas aeruginosa* (из проб крови, кишечного содержимого, перитонеальной жидкости от пациентов с лабораторно подтвержденной брюшнотифозной инфекцией) и две – *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* (из крови и кишечного содержимого от пациентов с лабораторно подтвержденной брюшнотифозной инфекцией).

Идентификацию неферментирующих бактерий проводили на основании комплекса морфологических, культуральных и биохимических свойств (с помощью набора API 20 NE). Учитывая, что указанные микроорганизмы входят в группу патогенов ESCAPE – наиболее значимых возбудителей внутрибольничных инфекций (инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи), проведены исследования по определению их чувствительности к АБП ДДМ. Штаммы синегнойной палочки оказались чувствительны к ампициллин-сульбактаму, меропенему, фторхинолонам. Чувствительность к трем препаратам класса аминогликозидов была характерна для всех штаммов, за исключением 0073, который оказался умеренно-резистентным к гентамицину. Устойчивость к цефтриаксону отмечена для всех изолятов *P. aeruginosa*, к цефтазидиму штамм 0074 был чувствителен, культуры 0071 и 0072 оказались умеренно-резистентными. Выделенные штаммы *A. baumannii/calcoaceticus* были чувствительны ко всем АБП, за исключением цефалоспоринов III поколения (табл. 4).

При согласовании с конголезской стороной все культуры *S. Typhi* были переданы специалистам бактериологической лаборатории Генерального госпиталя г. Долизи вместе с паспортами штаммов, оформленными на французском языке.

В результате работы установлено, что вспышка ОКИ в г. Долизи в большинстве случаев вызвана бактериями *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi*. Во всех пробах, собранных и исследованных сотрудниками СПЭБ, возбудитель холеры или его маркеры не обнаружены. Полученные лабораторные данные коррелируют с выводами клиницистов и инфекционистов [12].

Таким образом, силами специалистов объединенной СПЭБ Роспотребнадзора при содействии сотрудников Министерства здравоохранения и народонаселения Республики Конго, медицинских организаций городов Долизи и Пуэнт-Нуар были организованы исследования проб клинического материала и из объектов окружающей среды для выявления этиологических агентов, вызвавших вспышку ОКИ в Республике Конго. Проведено 1023 анализа с помощью ПЦР и 305 – бактериологическим методом, а также расширенное изучение выделенных штаммов. По результатам работы разработан ряд рекомен-

Таблица 4 / Table 4

Результаты оценки чувствительности к АБП у штаммов неферментирующих бактерий, выделенных из проб клинического материала
Results of the antibiotic susceptibility testing in the strains of non-fermenting bacteria isolated from clinical samples

Наименования АБП Antibiotic	Содержание в диске, мкг Disc content, µg	Номера выделенных штаммов No. of isolated strains									
		<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>				<i>P. aeruginosa</i>					
		0013		0072		0071		0073		0074	
		1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Ампициллин-сульбактам / Ampicillin-sulbactam	10/10	22	Ч	21	Ч	20	Ч	20	Ч	20	Ч
Цефтриаксон / Ceftriaxone	30	9	Р	15	П	9	Р	9	Р	9	Р
Цефтазидим / Ceftazidime	30	9	Р	9	Р	15	П	15	П	25	Ч
Меропенем / Meropenem	10	20	Ч	20	Ч	21	Ч	22	Ч	22	Ч
Гентамицин / Gentamicin	10	18	Ч	18	Ч	17	Ч	14	П	17	Ч
Тобрамицин / Tobramycin	10	18	Ч	18	Ч	17	Ч	17	Ч	17	Ч
Амикацин / Amikacin	30	19	Ч	19	Ч	18	Ч	18	Ч	18	Ч
Офлоксацин / Ofloxacin	5	21	Ч	21	Ч	24	Ч	24	Ч	24	Ч
Левифлоксацин / Levofloxacin	5	22	Ч	22	Ч	25	Ч	25	Ч	25	Ч

Примечание: 1 – диаметр зон подавления роста, мм; 2 – критерии интерпретации результатов определения чувствительности: Ч – чувствительные штаммы; П – штаммы с промежуточной чувствительностью; Р – резистентные штаммы.

Note: 1 – diameter of growth inhibition zones, mm; 2 – criteria for interpreting sensitivity results: Ч – sensitive strains; П – intermediate susceptibility strains; Р – resistant strains.

даций по проведению комплекса противоэпидемических мероприятий, индикации и идентификации возбудителей ОКИ, включая и дифференциальную диагностику.

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. Забор биологического материала от больных проводился с их информированного согласия.

Благодарность. Авторский коллектив выражает благодарность за помощь в организации исследований специалистам Министерства здравоохранения и народонаселения Республики Конго и департамента здравоохранения провинции Ниари, руководству и сотрудникам Генерального госпиталя (г. Долизи), Госпиталя Референс (г. Долизи), Генерального госпиталя Адольфа Сисе (г. Пуэнт-Нуар), а также лаборатории Института общественного здравоохранения Республики Конго (г. Браззавиль).

Список литературы

1. Kim J.H., Im J., Parajulee P., Holm M., Cruz Espinoza L.M., Poudyal N., Mogeni O.D., Marks F. A systematic review of typhoid fever occurrence in Africa. *Clin. Infect. Dis.* 2019; 69(Suppl. 6):S492-S498. DOI: 10.1093/cid/ciz525.
 2. GBD 2017 Typhoid and Paratyphoid Collaborators. The global burden of typhoid and paratyphoid fevers: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet. Infect. Dis.* 2019; 19(4):369–81. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30685-6.
 3. Mogasale V., Maskery B., Ochiai R.L., Lee J.S., Mogasale V.V., Ramani E., Kim Y.E., Park J.K., Wierzba T.F. Burden of typhoid fever in low-income and middle-income countries: a systematic, literature-based update with risk factor adjustment. *Lancet. Glob. Health.* 2014; 2(10):e570-80. *Lancet. Glob. Health.* 2014; 2(10):e570-80. DOI: 10.1016/S2214-109X(14)70301-8.

4. Antillón M., Warren J.L., Crawford F.W., Weinberger D.M., Kürüm E., Pak G.D., Marks F., Pitzer V.E. The burden of typhoid fever in low- and middle-income countries: a meta-regression approach. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(2):e0005376. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005376.
 5. Kim J.H., Mogasale V., Im J., Ramani E., Marks F. Updated estimates of typhoid fever burden in sub-Saharan Africa. *Lancet. Glob. Health.* 2017; 5(10):e969. DOI: 10.1016/S2214-109X(17)30328-5.
 6. Cholera Outbreaks in Central and West Africa: 2017 Regional Update – Week 14. [Электронный ресурс]. URL: http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/WCA%20Cholera_Update_W14.pdf (дата доступа 12.03.2024).
 7. Shahapur P.R., Shahapur R., Nimal A., Suvvari T.K., Silva R.G.D., Kandi V. Traditional Widal agglutination test versus rapid immunochromatographic test in the diagnosis of enteric fever: A prospective study from South India. *Cureus.* 2021; 13(10):e18474. DOI: 10.7759/cureus.18474.
 8. Kim H.J., Jung Y., Kim M.J., Kim H.Y. Novel heptaplex PCR-based diagnostics for enteric fever caused by typhoidal salmonella serovars and its applicability in clinical blood culture. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2023; 33(11):1457–66. DOI: 10.4014/jmb.2307.07031.
 9. Rigby J., Elmerhebi E., Diness Y., Mkwanda C., Tonholo K., Galloway H., Miles R., Henrion M.Y.R., Edwards T., Gauld J., Msefula C., Johnston R., Nair S., Feasey N., Elviss N.C. Optimized methods for detecting *Salmonella* Typhi in the environment using validated field sampling, culture and confirmatory molecular approaches. *J. Appl. Microbiol.* 2022; 132(2):1503–17. DOI: 10.1111/jam.15237.
 10. Antillon M., Saad N.J., Baker S., Pollard A.J., Pitzer V.E. The relationship between blood sample volume and diagnostic sensitivity of blood culture for typhoid and paratyphoid fever: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect. Dis.* 2018; 218(suppl_4):S255-S267. DOI: 10.1093/infdis/jiy471.
 11. Carey M.E., Dyson Z.A., Ingle D.J., Amir A., Aworh M.K., Chattaway M.A., Chew K.L., Crump J.A., Feasey N.A., Howden B.P., Keddy K.H., Maes M., Parry C.M., Van Puyvelde S., Webb H.E., Afolayan A.O., Alexander A.P., Anandan S., Andrews J.R., Ashton P.M., Basnyat B., Bavdekar A., Bogoch I.I., Clemens J.D., da Silva K.E., De A., de Ligt J., Diaz Guevara P.L., Dolecek C., Dutta S., Ehlers M.M., Francois Watkins L., Garrett D.O., Godbole G., Gordon M.A., Greenhill A.R., Griffin C., Gupta M., Hendriksen R.S., Heyderman R.S., Hooda Y., Hormazabal J.C., Ikimiukor O.O., Iqbal J., Jacob J.J., Jenkins C., Jinka D.R., John J., Kang G., Kante A., Kapil A., Karkey A., Kariuki S., Kingsley R.A., Koshy R.M., Lauer A.C., Levine M.M., Linge Gowda R.K., Luby S.P., Mackenzie G.A., Mashe T., Msefula C., Mutreja A., Nagaraj G., Nagaraj S., Nair S., Naseri T.K., Nimarota-Brown S., Njamkepo E., Okeke I.N., Perumal S.P.B., Pollard A.J., Pragasam A.K., Qadri F., Qamar F.N., Rahman S.I.A., Rambocus S.D., Rasko D.A., Ray P., Robins-Browne R., Rongsen-Chandola T., Rutanga J.P., Saha S.K., Saha S., Saigal K., Sajib M.S.I., Seidman J.C., Shakya J., Shamanna V., Shastri J.,

- Shrestha R., Sia S., Sikorski M.J., Singh A., Smith A.M., Tagg K.A., Tamrakar D., Tanmoy A.M., Thomas M., Thomas M.S., Thomsen R., Thomson N.R., Tupua S., Vaidya K., Valcanis M., Veeraraghavan B., Weill F.-X., Wright J., Dougan G., Argimón S., Keane J.A., Aanensen D.M., Baker S., Holt K.E.: Global Typhoid Genomics Consortium Group Authorship. Global diversity and antimicrobial resistance of typhoid fever pathogens: Insights from a meta-analysis of 13,000 *Salmonella* Typhi genomes. *eLife*. 2023; 12:e85867. DOI: 10.7554/eLife.85867.
12. Пшеничная Н.Ю., Найденова Е.В., Гопаца Г.В., Кузнецова Д.А., Дмитриева Л.Н., Евтеев А.В., Тушинский А.А., Портенко С.А., Обисса Н., Мромполо М., Elenga-Bongo Sh.L., Inana M., Mobousse Misse J.-C., Кутырев В.В., Смоленский В.Ю. Результаты работы инфекционистов и эпидемиологов Роспотребнадзора во время вспышки острых кишечных инфекций в Республике Конго (Браззавиль) в 2023 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 1:102–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-102-112.
13. Посольство Российской Федерации в Республике Конго. Общая информация о Конго. [Электронный ресурс]. URL: https://congo.mid.ru/ru/o_kongo/obshchaya_informatsiya_o_kongo/.
14. Kolmogorov M., Yuan J., Lin Y., Pevzner P.A. Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nat. Biotechnol.* 2019; 37(5):540–6. DOI: 10.1038/s41587-019-0072-8.
15. Yan S., Zhang W., Li C., Liu X., Zhu L., Chen L., Yang B. Serotyping, MLST, and core genome MLST analysis of *Salmonella enterica* from different sources in China during 2004–2019. *Front. Microbiol.* 2021; 12:688614. DOI: 10.3389/fmicb.2021.688614.
16. Enterobase. *Salmonella*. [Электронный ресурс]. URL: <https://enterobase.warwick.ac.uk/species/index/senterica>.
17. Alcock B.P., Huynh W., Chalil R., Smith K.W., Raphenya A.R., Wlodarski M.A., Edalatmand A., Petkau A., Syed S.A., Tsang K.K., Baker S.J.C., Dave M., McCarthy M.C., Mukiri K.M., Nasir J.A., Golbon B., Imtiaz H., Jiang X., Kaur K., Kwong M., Liang Z.C., Niu K.C., Shan P., Yang J.Y.J., Gray K.L., Hoad G.R., Jia B., Bhando T., Carfrae L.A., Farha M.A., French S., Gordzevich R., Rachwalski K., Tu M.M., Bordeleau E., Dooley D., Griffiths E., Zubyk H.L., Brown E.D., Maguire F., Beiko R.G., Hsiao W.W.L., Brinkman F.S.L., Van Domselaar G., McArthur A.G. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Res.* 2023; 51(D1):D690–D699. DOI: 10.1093/nar/gkac920.
18. DTU. Center for Genomic Epidemiology. [Электронный ресурс]. URL: <http://genepi.food.dtu.dk/resfinder>.
19. Basic Local Alignment Search Tool. [Электронный ресурс]. URL: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
20. Егорова С.А., Кулешов К.В., Кафтырева Л.А., Матвеева З.Н. Чувствительность к антибиотикам, механизмы резистентности и филогенетическая структура популяции *S. Typhi*, выделенных в 2005–2018 гг. в Российской Федерации. *Инфекция и иммунитет*. 2020; 10(1):99–110. DOI: 10.15789/2220-7619-ASM-1171.
21. Павлова А.С., Бочарова Ю.А., Кулешов К.В., Подколзин А.Т., Чеботарь И.В. Молекулярные детерминанты резистентности *Salmonella enterica* к антибиотикам. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021; 98(6):721–30. DOI: 10.36233/0372-9311-140.
- immuno-chromatographic test in the diagnosis of enteric fever: A prospective study from South India. *Cureus*. 2021; 13(10):e18474. DOI: 10.7759/cureus.18474.
8. Kim H.J., Jung Y., Kim M.J., Kim H.Y. Novel heptaplex PCR-based diagnostics for enteric fever caused by typhoidal salmonella serovars and its applicability in clinical blood culture. *J. Microbiol. Biotechnol.* 2023; 33(11):1457–66. DOI: 10.4014/jmb.2307.07031.
9. Rigby J., Elmerhebi E., Diness Y., Mkwanda C., Tonthola K., Galloway H., Miles R., Henrion M.Y.R., Edwards T., Gauld J., Msefula C., Johnston R., Nair S., Feasey N., Elviss N.C. Optimized methods for detecting *Salmonella* Typhi in the environment using validated field sampling, culture and confirmatory molecular approaches. *J. Appl. Microbiol.* 2022; 132(2):1503–17. DOI: 10.1111/jam.15237.
10. Antillon M., Saad N.J., Baker S., Pollard A.J., Pitzer V.E. The relationship between blood sample volume and diagnostic sensitivity of blood culture for typhoid and paratyphoid fever: a systematic review and meta-analysis. *J. Infect. Dis.* 2018; 218(suppl_4):S255–S267. DOI: 10.1093/infdis/jiy471.
11. Carey M.E., Dyson Z.A., Ingle D.J., Amir A., Aworh M.K., Chattaway M.A., Chew K.L., Crump J.A., Feasey N.A., Howden B.P., Keddy K.H., Maes M., Parry C.M., Van Puyvelde S., Webb H.E., Afolayan A.O., Alexander A.P., Anandan S., Andrews J.R., Ashton P.M., Basnyat B., Bavdekar A., Gogoch I.I., Clemens J.D., da Silva K.E., De A., de Ligt J., Diaz Guevara P.L., Dolecek C., Dutta S., Ehlers M.M., Francois Watkins L., Garrett D.O., Godbole G., Gordon M.A., Greenhill A.R., Griffin C., Gupta M., Hendriksen R.S., Heyderman R.S., Hooda Y., Hormazabal J.C., Ikimiukor O.O., Iqbal J., Jacob J.J., Jenkins C., Jinka D.R., John J., Kang G., Kanteh A., Kapil A., Karkey A., Kariuki S., Kingsley R.A., Koshy R.M., Lauer A.C., Levine M.M., Lingegowda R.K., Luby S.P., Mackenzie G.A., Mashe T., Msefula C., Mutreja A., Nagaraj G., Nagaraj S., Nair S., Naseri T.K., Nimarota-Brown S., Njamkepo E., Okeke I.N., Perumal S.P.B., Pollard A.J., Pragasam A.K., Qadri F., Qamar F.N., Rahman S.I.A., Rambocus S.D., Rasko D.A., Ray P., Robins-Browne R., Rongsen-Chandola T., Rutanga J.P., Saha S.K., Saha S., Saigal K., Sajib M.S.I., Seidman J.C., Shakya J., Shamanna V., Shastri J., Shrestha R., Sia S., Sikorski M.J., Singh A., Smith A.M., Tagg K.A., Tamrakar D., Tanmoy A.M., Thomas M., Thomas M.S., Thomsen R., Thomson N.R., Tupua S., Vaidya K., Valcanis M., Veeraraghavan B., Weill F.-X., Wright J., Dougan G., Argimón S., Keane J.A., Aanensen D.M., Baker S., Holt K.E.: Global Typhoid Genomics Consortium Group Authorship. Global diversity and antimicrobial resistance of typhoid fever pathogens: Insights from a meta-analysis of 13,000 *Salmonella* Typhi genomes. *eLife*. 2023; 12:e85867. DOI: 10.7554/eLife.85867.
12. Pshenichnaya N.Yu., Naidenova E.V., Gopatsa G.V., Kuznetsova D.A., Dmitrieva L.N., Evteev A.V., Tushinsky A.A., Portenko S.A., Obissa N., Mrompolo M., Elenga-Bongo Sh.L., Inana M., Mobousse Misse J.-C., Kutyrev V.V., Smolensky V.Yu. [The results of work of infectious disease specialists and epidemiologists of the Rosпотребнадзор during the outbreak of acute intestinal infections in the Republic of the Congo (Brazzaville) in 2023]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 1(1):102–12. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-102-112.
13. [Embassy of the Russian Federation in the Republic of Congo. General information about Congo]. [Internet]. Available from: https://congo.mid.ru/ru/o_kongo/obshchaya_informatsiya_o_kongo/.
14. Kolmogorov M., Yuan J., Lin Y., Pevzner P.A. Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nat. Biotechnol.* 2019; 37(5):540–6. DOI: 10.1038/s41587-019-0072-8.
15. Yan S., Zhang W., Li C., Liu X., Zhu L., Chen L., Yang B. Serotyping, MLST, and core genome MLST analysis of *Salmonella enterica* from different sources in China during 2004–2019. *Front. Microbiol.* 2021; 12:688614. DOI: 10.3389/fmicb.2021.688614.
16. Enterobase. *Salmonella*. [Internet]. Available from: <https://enterobase.warwick.ac.uk/species/index/senterica>.
17. Alcock B.P., Huynh W., Chalil R., Smith K.W., Raphenya A.R., Wlodarski M.A., Edalatmand A., Petkau A., Syed S.A., Tsang K.K., Baker S.J.C., Dave M., McCarthy M.C., Mukiri K.M., Nasir J.A., Golbon B., Imtiaz H., Jiang X., Kaur K., Kwong M., Liang Z.C., Niu K.C., Shan P., Yang J.Y.J., Gray K.L., Hoad G.R., Jia B., Bhando T., Carfrae L.A., Farha M.A., French S., Gordzevich R., Rachwalski K., Tu M.M., Bordeleau E., Dooley D., Griffiths E., Zubyk H.L., Brown E.D., Maguire F., Beiko R.G., Hsiao W.W.L., Brinkman F.S.L., Van Domselaar G., McArthur A.G. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Res.* 2023; 51(D1):D690–D699. DOI: 10.1093/nar/gkac920.
18. DTU. Center for Genomic Epidemiology. [Internet]. Available from: <http://genepi.food.dtu.dk/resfinder>.
19. Basic Local Alignment Search Tool. [Internet]. Available from: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.
20. Егорова С.А., Кулешов К.В., Кафтырева Л.А., Матвеева З.Н. [The antimicrobial susceptibility, resistance mechanisms and phylogenetic structure of *S. Typhi* isolated in 2005–2018 in the Russian Federation]. *Infektsiya i Immunitet [Russian Journal of Infection*

References

1. Kim J.H., Im J., Parajulee P., Holm M., Cruz Espinoza L.M., Poudyal N., Mogeni O.D., Marks F. A systematic review of typhoid fever occurrence in Africa. *Clin. Infect. Dis.* 2019; 69(Suppl. 6):S492–S498. DOI: 10.1093/cid/ciz525.
2. GBD 2017 Typhoid and Paratyphoid Collaborators. The global burden of typhoid and paratyphoid fevers: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet. Infect. Dis.* 2019; 19(4):369–81. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30685-6.
3. Mogasale V., Maskery B., Ochiai R.L., Lee J.S., Mogasale V.V., Ramani E., Kim Y.E., Park J.K., Wierzbza T.F. Burden of typhoid fever in low-income and middle-income countries: a systematic, literature-based update with risk factor adjustment. *Lancet. Glob. Health.* 2014; 2(10):e570–80. DOI: 10.1016/S2214-109X(14)70301-8.
4. Antillon M., Warren J.L., Crawford F.W., Weinberger D.M., Kürüm E., Pak G.D., Marks F., Pitzer V.E. The burden of typhoid fever in low- and middle-income countries: a meta-regression approach. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2017; 11(2):e0005376. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005376.
5. Kim J.H., Mogasale V., Im J., Ramani E., Marks F. Updated estimates of typhoid fever burden in sub-Saharan Africa. *Lancet. Glob. Health.* 2017; 5(10):e969. DOI: 10.1016/S2214-109X(17)30328-5.
6. Cholera Outbreaks in Central and West Africa: 2017 Regional Update – Week 14. (Cited 12 March 2024). [Internet]. Available from: <http://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/WCA%20Cholera Update W14.pdf>.
7. Shahapur P.R., Shahapur R., Nimbale A., Suvvari T.K., Silva R.G.D., Kandi V. Traditional Widal agglutination test versus rapid

and Immunity]. 2020; 10(1):99–110. DOI: 10.15789/2220-7619-ASM-1171.

21. Pavlova A.S., Bocharova Yu.A., Kuleshov K.V., Podkolzin A.T., Chebotar I.V. [Molecular determinants of antibiotic resistance in *Salmonella enterica* antibiotic resistance]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2021; 98(6):721–30. DOI: 10.36233/0372-9311-140.

Authors:

Portenko S.A., Naidenova E.V., Agafonov D.A., Dmitrieva L.N., Katyshev A.D., Kuklev V.E., Shcherbakova S.A., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”. 46 Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap1@microbe.ru.

Kuznetsova D.A., Evteev A.V., Tushinsky A.A. Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute. 117/40 M. Gorkogo St., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation. E-mail: plague@aaanet.ru.

Obissa N., Mobousse Misse J.-S. Ministry of Health and Population of the Republic of the Congo. Brazzaville, Republic of the Congo.

Mabiala V., Loubano J., Mpompolo M. Dolisie General Hospital. Dolisie, Republic of the Congo.

Об авторах:

Портенко С.А., Найденова Е.В., Агафонов Д.А., Дмитриева Л.Н., Катъшев А.Д., Куклев В.Е., Щербакова С.А., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap1@microbe.ru.

Кузнецова Д.А., Евтеев А.В., Тушинский А.А. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aaanet.ru.

Обисса Н., Мобуссе Миссе Ж.-С. Министерство здравоохранения и народонаселения Республики Конго. Республика Конго, Браззавиль.

Мабьяла В., Лубано Ж., Мпмполо М. Генеральный госпиталь г. Долизи. Республика Конго, Долизи.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-178-187

УДК 616.98:578.834.1

А.В. Шиповалов, Г.А. Кудров, Е.К. Ивлева, В.В. Омигов, О.В. Пьянков, О.С. Таранов

Сравнительное исследование патоморфологических изменений тканей легких животных при моделировании инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2

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

Целью работы явилось изучение особенностей инфекционного процесса в легких животных, применяемых как модели для оценки патогенности вируса SARS-CoV-2. **Материалы и методы.** В работе использовали штамм геноварианта альфа вируса SARS-CoV-2. Эксперименты проводили на линейных и трансгенных мышах, сирийских хомячках, морских свинках, хорьках и двух видах приматов: макак-резус и зеленая мартышка. Патоморфологическое исследование проводили методом оптической микроскопии гистологических препаратов легких с использованием компьютеризированного микроскопа с цифровым микрофотографированием. **Результаты и обсуждение.** Проведен сравнительный гистологический анализ легких шести различных видов лабораторных животных при моделировании новой коронавирусной инфекции, определены сходные морфометрические признаки тяжести течения заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2 у чувствительных животных, выявлена дозозависимая корреляция патологических изменений в тканях легких при интраназальном введении различных инфицирующих доз. Охарактеризованы особенности патоморфологических изменений у шести различных видов животных при моделировании новой коронавирусной инфекции, определен их дозозависимый характер. Представленные результаты исследований могут быть применены для выбора модельного животного с целью углубленного изучения патогенеза COVID-19, вызванного вновь выделяемыми эпидемически значимыми геновариантами коронавируса, динамики иммунных реакций организма во время развития заболевания, а также при изучении *in vivo* протективного действия перспективных терапевтических препаратов и вакцин.

Ключевые слова: SARS-CoV-2, COVID-19, модельное животное, патоморфология, легкие.

Корреспондирующий автор: Шиповалов Андрей Владимирович, e-mail: shipovalov_av@vector.nsc.ru.

Для цитирования: Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Ивлева Е.К., Омигов В.В., Пьянков О.В., Таранов О.С. Сравнительное исследование патоморфологических изменений тканей легких животных при моделировании инфекции, вызванной вирусом SARS-CoV-2. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 2:178–187. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-178-187

Поступила 02.02.2024. Отправлена на доработку 20.05.2024. Принята к публ. 23.05.2024.

A.V. Shipovalov, G.A. Kudrov, E.K. Ivleva, V.V. Omigov, O.V. P'yankov, O.S. Taranov

Comparative Study of Pathomorphological Changes in Animal Lung Tissue when Modeling Infection Caused by the SARS-CoV-2 Virus

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

Abstract. The aim of the work was to study the features of the infectious process in the lungs of animals used as models for assessing SARS-CoV-2 pathogenicity. **Materials and methods.** The strain of SARS-CoV-2 alpha variant virus was used in the work. The experiments were carried out on linear and transgenic mice, Syrian hamsters, guinea pigs, ferrets and two types of primates: rhesus macaques and green monkey. The pathomorphological examination was performed by optical microscopy of histological lung preparations using a computerized microscope with digital microphotography. **Results and discussion.** A comparative histological analysis of the lungs in six different types of laboratory animals was carried out when modeling a new coronavirus infection; similar morphometric signs of the severity of the disease caused by the SARS-CoV-2 virus in sensitive animals were determined, and a dose-dependent correlation of pathological changes in lung tissues with intranasal administration of various infectious doses was revealed. The features of pathomorphological changes in six different animal species in the simulation of a new coronavirus infection have been characterized, and their dose-dependent nature determined. The presented research results can be used to select a model animal for the purpose of in-depth study of the pathogenesis of COVID-19 caused by newly isolated coronavirus variants, the dynamics of immune reactions of the body during the development of the disease, as well as *in vivo* studies of the protective effect of promising therapeutic drugs and vaccines.

Key words: SARS-CoV-2, COVID-19, animal model, pathomorphology, lungs.

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

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

Bioethics: All experiments on animals were approved by the Bioethical Committee of the Federal Budgetary Institution of Science "State Scientific Center of Virology and Biochemistry "Vector" of the Rospotrebnadzor" (protocol dated June 15, 2021 No. 3) and were carried out in accordance with national and international guidelines for the care and humane use of animals.

Corresponding author: Andrey V. Shipovalov, e-mail: shipovalov_av@vector.nsc.ru.

Citation: Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Ivleva E.K., Omigov V.V., P'yankov O.V., Taranov O.S. Comparative Study of Pathomorphological Changes in Animal Lung Tissue when Modeling Infection Caused by the SARS-CoV-2 Virus. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:178–187. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-178-187

Received 02.02.2024. Revised 20.05.2024. Accepted 23.05.2024.

Shipovalov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1201-8307>
Kudrov G.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8251-7040>
Ivleva E.K., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1194-7219>

Omigov V.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2028-6099>
P'yankov O.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3340-8750>
Taranov O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6746-8092>

Выявление в человеческой популяции в декабре 2019 г. нового коронавируса, способного вызывать тяжелое заболевание с поражением тканей легких, потребовало от научного сообщества создания новых лекарственных препаратов и вакцин. Скрининг перспективных соединений на противовирусную активность в отношении SARS-CoV-2 можно проводить *in vitro* на чувствительных перевиваемых культурах клеток [1]. Доклинические исследования требуют животных моделей, воспроизводящих клинические проявления и патологические нарушения в тканях легких, наблюдаемые у людей [2]. В проведенных ранее исследованиях были выявлены подходящие для моделирования инфекции виды: мыши [3, 4], сирийские хомячки [5], морские свинки [6], хорьки [7] и низшие приматы [8].

«Классическим» показателем патогенности инфекционного агента в исследованиях *in vivo* является летальность [9]. Ни одна из предложенных ранее моделей COVID-19, кроме трансгенных мышей, не отвечает этому требованию. Тем не менее для оценки тяжести инфекционного процесса у лабораторных животных применимы как показатели вирусной нагрузки в назальных смывах, бронхоальвеолярных лаважах, легочной паренхиме и слизистой носовых ходов, так и клинические, биохимические, рентгенологические и патоморфологические маркеры повреждения легких как основного органа-мишени [10].

Степень поражения легочной ткани можно оценивать на прижизненной рентгенографии по балльной шкале Brixia [11] и/или компьютерной томографией (КТ) по баллам, включающим типы поражения (симптом «матового стекла», утолщение альвеолярных перегородок с переменным альвеолярным наполнением, уплотнение или утолщение плевры и объем поражения) и оцененным для каждой доли [12].

Также одним из маркеров тяжести респираторных вирусных инфекций является острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС), обнаруживаемый гистологическими методами у погибших от COVID-19. В основе патогенеза ОРДС лежит как прямое цитопатическое действие вируса на эндотелий легочных капилляров и эпителий альвеол, так и повреждение легочной паренхимы каскадом воспалительных реакций, индуцированных вирусными белками [13].

Согласно стандартной методике [14], предложенной для изучения ОРДС при нелетальных инфекциях мелких лабораторных животных, степень поражения тканей легких оценивают по формуле, учитывающей параметры патоморфологических изменений. Основным недостатком данного метода является изучение патологических изменений на ранних (острых) стадиях развития инфекции, без учета геморрагических проявлений и клеточных инфиль-

траций. Кроме того, использование данной методики не позволяет достоверно оценить различия инфекционного процесса в зависимости от инфицирующих доз.

Для мышинной модели был разработан метод сравнительного изучения патологий легких, вызванных различными патогенами, учитывающий большее количество выявляемых гистологических признаков, но не оценивающий их количественно [15]. Позднее метод был модифицирован и использован для оценки различий инфекционного процесса, вызванного вирусом SARS-CoV-2, у сирийских хомячков различного возраста. Патоморфологические признаки повреждений тканей легких были выделены в три группы: (1) оценка воспаления легких, включая тяжесть (i) интерстициальной пневмонии, (ii) бронхита, (iii) эпителиального некроза бронхов и альвеол и (iv) гиперплазии альвеолоцитов II типа; (2) показатель инфильтрации паренхимы с учетом присутствия (i) нейтрофилов, (ii) макрофагов и (iii) лимфоцитов в легких, а также (iv) периваскулярной лимфоцитарной инфильтрации; и (3) показатель накопления внесосудистой жидкости в тканях легких, включающий (i) альвеолярный и (ii) периваскулярный отек [16]. Применение стандартизированных критериев оценки большого количества параметров патологических изменений тканей легких позволило выявить особенности инфекционного процесса у сирийского хомячка в сравнении с низшими приматами (*Macaca mulatta*) и пациентами с COVID-19 [17].

Целью данной работы явилось исследование особенностей патоморфологических изменений у разных видов животных при моделировании новой коронавирусной инфекции, возможности использования методов морфометрии для сравнительной гистологической оценки степени повреждения тканей легкого как основного органа-мишени у широкого круга лабораторных животных, включая трансгенных мышей.

Материалы и методы

Вирусы. В работе использовали штамм hCoV-19/Russia/MOS-2512/2020 (EPI_ISL_6565012) геноварианта альфа вируса SARS-CoV-2. Данный штамм получен из Государственной коллекции микроорганизмов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Штамм коронавируса выделен в культуре клеток Vero E6, аликвоты вируса из одной наработки (стока) были заморожены и хранились при температуре минус 70 °С. Инфекционный титр стоков составлял не менее 10⁶ ТЦД₅₀/мл. Для каждого эксперимента брали новую аликвоту из одного стока.

Животные. В эксперименте использовали мышей инбредной линии BALB/c, аутбредных сирийских хомячков, морских свинок и хорьков, по-

лученных из питомника ФБУН ГНЦ БВ «Вектор» Роспотребнадзора, и два вида приматов: макак-резус и зеленая маргышка, – полученных из питомника Научно-исследовательского института медицинской приматологии (Сочи, Россия).

Животные имели неограниченный доступ к пище и воде. Аклиматизация к условиям эксперимента проведена в течение 7 дней до заражения. Во время экспериментов температура в шкафах для содержания животных составляла 22–24 °С, относительная влажность – 40–55 %.

Перед интраназальным заражением животных предварительно наркотизировали внутримышечно препаратом Zoletil 100 (Virbac, Франция).

Все эксперименты на животных одобрены Биоэтическим комитетом ФБУН ГНЦ БВ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол от 15.06.2021 № 3) и проводились в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

Гистологические исследования. Для изучения структурных изменений ряда паренхиматозных органов экспериментальных животных использовали образцы, залитые в гистомикс (или смесь легкоплавких парафинов). Асептически извлеченные легкие фиксировали в 4 % растворе забуференного формалина для гистологических исследований («БиоВитрум», Россия). Через сутки легкие нарезали по методике, регламентированной в инструкции отдела микроскопических исследований ФБУН ГНЦ БВ «Вектор» Роспотребнадзора, и снова фиксировали в свежем фиксаторе.

После фиксации образцы проводили через гистологический автомат в соответствии с хорошо отработанной гистологической методикой: последовательное обезвоживание в спиртах возрастающей концентрации, пропитывание в смеси ксилола и парафина и заливка в парафиновые блоки. С помощью аппарата Tissue-Tek TEC 6 (Sacura, Япония) заливали парафиновые блоки и помещали их в холодильник при +6 °С для равномерного застывания гистомикса. Для получения срезов толщиной 4–5 микрон использовали автоматический ротационный микротом Tissue-Tek AutoSection (Sacura, Япония). Данное оборудование обладает программой, в которую заносилась необходимая толщина среза. При помощи кисточки срезы опускали на воду с температурой 43–45 °С для расправления и монтировали их на предметное стекло.

Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, затем покрывали покровной пленкой в автоматическом стейнере Tissue Tek Film (Sacura, Япония). Светооптическое исследование и микрофотосъемку проводили на микроскопе AxioImager Z1 (Zeiss, Германия) с использованием программного пакета AxioVision 4.8.2 (Zeiss, Германия). Оценку распространенности и степени выраженности патологических проявлений инфекционного процесса проводили при анализе сканов серийных срезов, по-

лученных на цифровом сканере микропрепаратов Olympus SlideView VS200 (Olympus, Германия; программный пакет VS200ASW 3.2) с использованием объектива ×20.

При гистологическом исследовании легких животных, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, использовали метод морфометрических стандартизованных критериев для сравнительной оценки степени повреждения тканей. В качестве стандартных (общих для всех чувствительных видов) учитывали следующие признаки: воспалительная клеточная инфильтрация межальвеолярных перегородок, перибронхиальная и периваскулярная воспалительная инфильтрация, кровоизлияние в просвет альвеол и бронхов, наличие фибрина и белкового преципитата в альвеолярном пространстве, выраженность отека, в том числе и межальвеолярных перегородок, проявлений застоя в сосудах малого круга кровообращения.

Степень распространенности основных патоморфологических проявлений – воспалительной клеточной инфильтрации и альвеолярно-геморрагического синдрома – оценивали по 5-балльной шкале, учитывающей площадь патологических изменений на срезе. Все остальные признаки инфекции оценивали по 3-балльной шкале в зависимости от степени выраженности.

Результаты и обсуждение

В ходе исследования обнаружено, что характер патоморфологических изменений легких различных лабораторных животных, инфицированных вирусом SARS-CoV-2, не однотипен. Однако определены параметры инфекционной патологии в модели COVID-19, встречающиеся у большинства видов и позволяющие оценить степень повреждения тканей легкого как основного органа-мишени у широкого круга лабораторных животных, включая трансгенных мышей. Ниже приведены результаты патоморфологических изменений, наблюдаемых у конкретного вида лабораторных животных.

Сирийские хомячки. Это наиболее чувствительные (восприимчивые) животные к вирусу SARS-CoV-2, что обуславливает их широкое применение в качестве модельного животного. В эксперименте выявлена зависимость между количеством вируса, вызвавшего инфекцию, и тяжестью патоморфологических изменений тканей легких. Животные, инфицированные при совместном содержании, также демонстрировали признаки патологии легких, как и хомячки, зараженные интраназально, но в более легкой форме. Это согласуется с данными других исследователей [18] и подтверждает полученные нами данные. Кроме того, отмечено постепенное изменение основных патологических проявлений в тканях легких при интраназальной инокуляции различными дозами вируса SARS-CoV-2 (рис. 1).

Как показано нами ранее [5], при интраназальном введении сопоставимых доз штаммы генова-

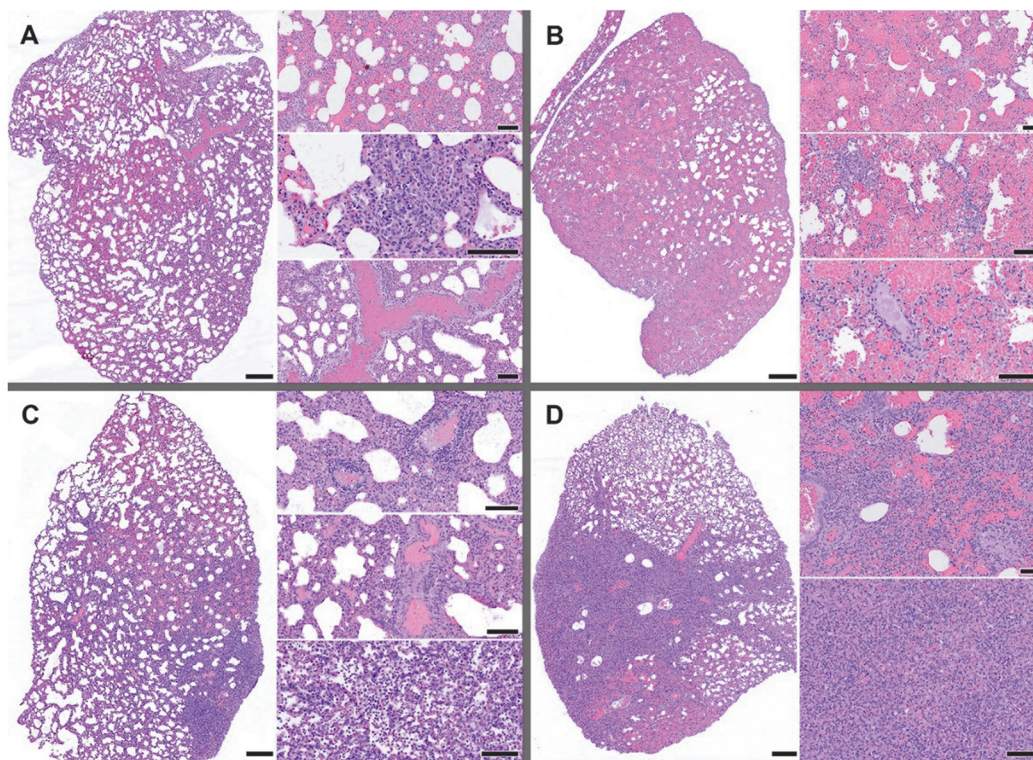


Рис. 1. Гистологический срез легкого сирийских хомячков при различных инфицирующих дозах вируса SARS-CoV-2. Окраска гематоксилином и эозином. Обзорные фото бар 500 мкм (слева), детализирующие – 100 мкм (справа):

A – инфицирующая доза 10^5 TCID₅₀. Обзорное фото: геморрагия, сладж эритроцитов в сосудах, воспалительная инфильтрация межальвеолярных перегородок. Детализирующие фото (сверху вниз): геморрагия, фокус воспалительной инфильтрации с гиперплазией альвеолоцитов, сладж эритроцитов; *B* – инфицирующая доза 10^4 TCID₅₀. Обзорное фото: массивная геморрагия. Детализирующие фото (сверху вниз): геморрагия, фокус воспалительной инфильтрации, фибрин в кровеносном сосуде; *C* – инфицирующая доза 10^3 TCID₅₀. Обзорное фото: воспалительная инфильтрация на фоне геморрагии. Детализирующие фото (сверху вниз): периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация, сладж эритроцитов, альвеолоциты и макрофаги в полости альвеол; *D* – инфицирующая доза 10^2 TCID₅₀. Обзорное фото: массивная воспалительная инфильтрация. Детализирующие фото (сверху вниз): воспалительная инфильтрация на фоне геморрагии, полиморфноклеточная инфильтрация легкого

Fig. 1. Lung histological sections of Syrian hamsters exposed to various infecting doses of SARS-CoV-2 virus. Staining with hematoxylin and eosin. Overview photo bar 500 microns (left), detailing photo – 100 microns (right):

A – the infecting dose is 10^5 TCID₅₀. Overview photo: hemorrhage, erythrocyte sludge in the vessels, inflammatory infiltration of the interalveolar septa. Detailed photos (from top to bottom): hemorrhage, focus of inflammatory infiltration with alveolocyte hyperplasia, erythrocyte sludge; *B* – the infecting dose is 10^4 TCID₅₀. Overview photo: massive hemorrhage. Detailed photos (from top to bottom): hemorrhage, focus of inflammatory infiltration, fibrin in the blood vessel; *C* – the infecting dose is 10^3 TCID₅₀. Overview photo: inflammatory infiltration against hemorrhage background. Detailed photos (from top to bottom): perivascular lymphocytic infiltration, erythrocyte sludge, alveolocytes and macrophages in the alveolar cavity; *D* – the infecting dose is 10^2 TCID₅₀. Overview photo: massive inflammatory infiltration of the lung. Detailed photos (from top to bottom): inflammatory infiltration against the background of hemorrhage, polymorphocellular infiltration of the lung

риантов коронавируса различаются по патогенности для сирийского хомячка. Выявленные различия инфицирующих доз и патологических изменений в легких позволяют сравнивать патогенность различных генетических вариантов. Кроме того, снижение частоты встречаемости патоморфологических изменений тканей легких вследствие подавления репликации вируса SARS-CoV-2 является одной из основных характеристик протективного действия профилактических, терапевтических или иммунологических препаратов.

Мыши линии BALB/c. Линейные мыши чувствительны к геновариантам альфа, бета, гамма и омикрон вируса SARS-CoV-2, при этом варианты Ухань и дельта инфекционный процесс не вызывают. Как показано ранее, патоморфологические изменения в тканях легких линейных мышей коррелируют с величиной инфицирующей дозы вируса SARS-CoV-2 [4]. Для изучения патоморфологических изменений использовали мышей линии BALB/c, зараженных серией десятикратных раз-

ведений вируса SARS-CoV-2 геноварианта альфа, с последующей гистологической оценкой препаратов. В результате исследования выявили ряд патологических изменений: дистелектаз, диффузные кровоизлияния, единичные лимфоцитарные инфильтраты. Основные патоморфологические изменения в тканях легких мышей BALB/c приведены на рис. 2. При анализе гистологических препаратов наблюдали прямую зависимость площади кровоизлияний от вирусной нагрузки, что подтверждает взаимосвязь данных изменений с патологическим действием вируса SARS-CoV-2 на легкие мышей. Степень распространенности геморрагического синдрома коррелировала с инфицирующей дозой вируса. Снижение площади дистелектаза обусловлено увеличением площади геморрагий. Такой признак воспаления, как клеточная инфильтрация, был слабо выражен. Клеточная инфильтрация бронха и стенок сосудов находилась в прямой зависимости с дозой заражения. Инфильтрация стенки альвеол имела место, но без видимой взаимосвязи с инфицирующей до-

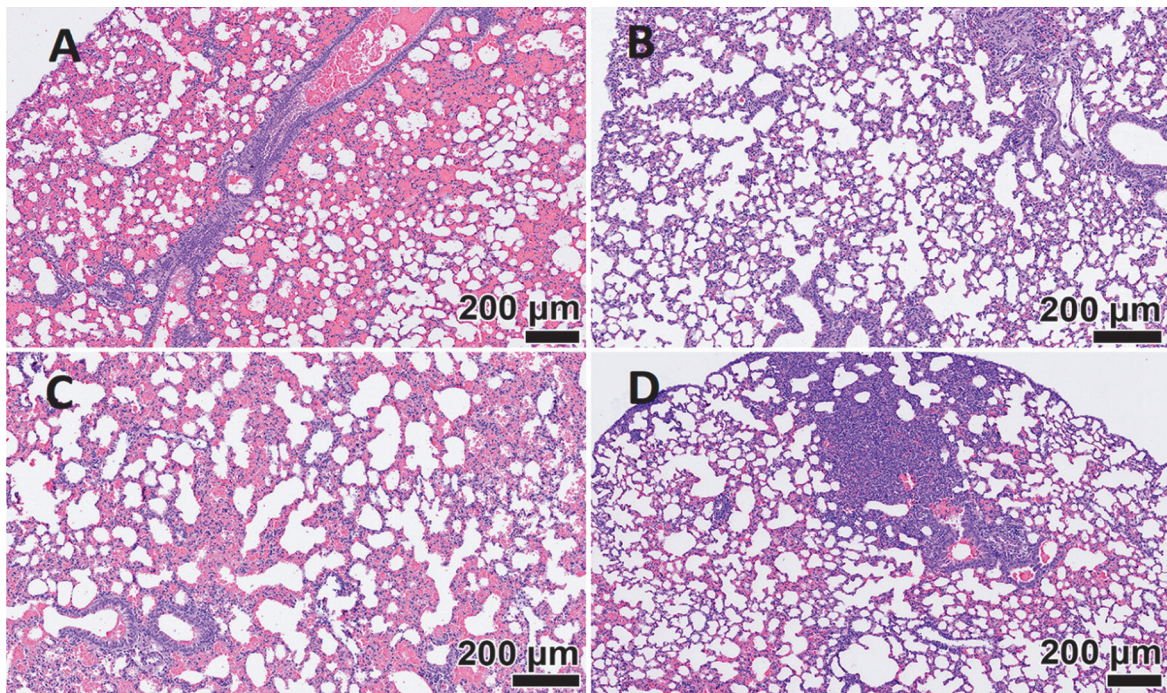


Рис. 2. Гистологический срез легкого мыши BALB/c при различных инфицирующих дозах вируса SARS-CoV-2. Окраска гематоксилином и эозином:

A – инфицирующая доза 10^4 TCID₅₀. Геморрагия, альвеолярно-геморрагический синдром; *B* – инфицирующая доза 10^3 TCID₅₀. Мелкие очаги кровоизлияния, инфильтрация стенок альвеол и сосудов; *C* – инфицирующая доза 10^2 TCID₅₀. Геморрагия, альвеолярно-геморрагический синдром; *D* – инфицирующая доза 10 TCID₅₀. Фокус воспалительной инфильтрации легкого на фоне геморрагии

Fig. 2. Lung histological sections of BALB/c mice exposed to various infecting doses of SARS-CoV-2 virus. Staining with hematoxylin and eosin:

A – infecting dose of 10^4 TCID₅₀. Hemorrhage, alveolar hemorrhagic syndrome; *B* – infecting dose of 10^3 TCID₅₀. Small foci of hemorrhage, infiltration of the alveolar and vascular walls; *C* – infecting dose of 10^2 TCID₅₀. Hemorrhage, alveolar hemorrhagic syndrome; *D* – infecting dose of 10 TCID₅₀. Focus of lung inflammatory infiltration against the hemorrhage background

зой. В виде единичных находок также определялись сладж эритроцитов в сосудах, периваскулярный отек. Основным морфологическим проявлением COVID-19 в легких человека является диффузное альвеолярное повреждение тканей легких в сочетании с вовлечением в патологический процесс сосудистого русла и альвеолярно-геморрагическим синдромом [19]. Выявление подобных признаков протекания заболевания у мышей, зараженных вирусом SARS-CoV-2, говорит об адекватности выбранной животной модели для изучения возбудителя новой коронавирусной инфекции. Среди патологических изменений в легких мышей преобладал признак геморрагии, что нетипично для других животных моделей (сирийский хомячок и приматы), применяемых при моделировании заболевания, вызванного вирусом SARS-CoV-2, где преимущественно выявлялся признак лимфоцитарной инфильтрации.

Трансгенные мыши. Трансгенные мыши характеризуются экспрессией ACE2-рецептора, что увеличивает чувствительность данной модели к вирусу SARS-CoV-2. В эксперименте использованы две трансгенные мышинные модели: UBC-ACE2^{Tx} и Rosa-ACE2^{Tx}. Основным отличием данных моделей от мышей инбредных линий является чувствительность ко всем геновариантам вируса SARS-CoV-2. Патоморфологические изменения тканей легких, выявленные при инфицировании трансгенных мы-

шей альфа-вариантом коронавируса и изученным ранее геновариантом Ухань [3], были сопоставимы по тяжести и частоте встречаемости. Картина патологических изменений в образцах легких животных обеих моделей включала утолщение бронхов и стенок альвеол, вызванное диффузной гиперплазией клеток альвеолярного эпителия II типа с легкой лимфоцитарной инфильтрацией и отеком, гиперплазией эпителия бронхиол и множественными скоплениями эритроцитов в сосудах (рис. 3). Данная патоморфологическая картина схожа с наблюдаемой в эксперименте у сирийского хомячка.

Морские свинки. Выявленные при гистологическом исследовании патоморфологические изменения легочной ткани носили характер диффузного альвеолярного повреждения. На микропрепаратах превалирует внутриальвеолярный отек. Отечная жидкость в просвете альвеол содержит макрофаги и нейтрофилы как маркеры воспалительной реакции, отмечена инфильтрация межальвеолярных перегородок. Цитопатическое действие вируса SARS-CoV-2 приводит к появлению многоядерных клеток, изменению формы и увеличению самих клеток и их ядер. Внутриальвеолярное кровоизлияние с частичным или практически полным заполнением просвета альвеол эритроцитами встречалось достаточно часто. Регистрировали массы эритроцитов в просвете кровеносных сосудов, отмечен тромбоз мелких сосу-

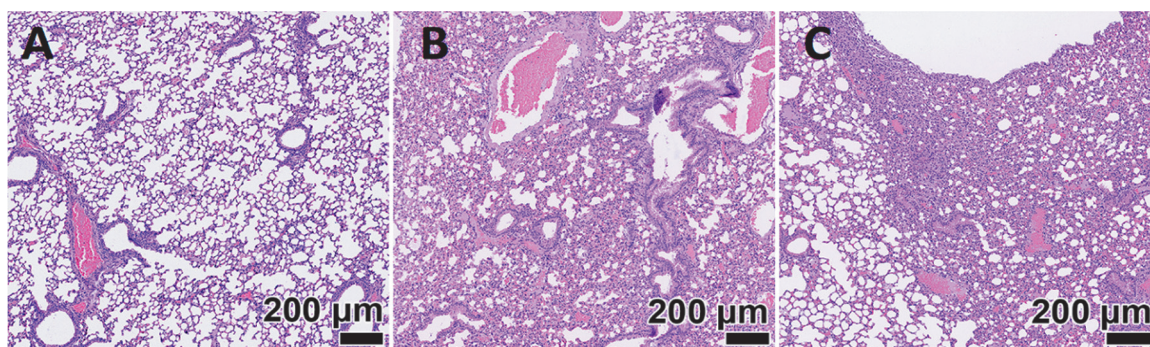


Рис. 3. Гистологический срез легкого линейных мышей, инфицированных вирусом SARS-CoV-2. Окраска гематоксилином и эозином:

A – линия BALB/c. Мелкие очаги кровоизлияния, инфильтрация стенок альвеол и сосудов; *B* – линия Rosa-ACE2^{Тх}. Массивная воспалительная инфильтрация; *C* – линия UBC-ACE2^{Тх}. Лейкоцитарная инфильтрация межальвеолярных перегородок, дистелектаз, фокусы альвеолярной консолидации легочной ткани

Fig. 3. Lung histological sections of linear mice infected with SARS-CoV-2 virus. Hematoxylin and eosin staining:

A – BALB/c line. Small hemorrhage foci, infiltration of alveolar and vascular walls; *B* – Rosa-ACE2^{Тх} line. Massive inflammatory infiltration; *C* – UBC-ACE2^{Тх} line. Leukocyte infiltration of inter-alveolar septa, distelectasis, foci of lung tissue alveolar consolidation

дов. В ряде случаев присутствовала воспалительная инфильтрация вокруг кровеносного сосуда, явления васкулита (рис. 4, А–D).

Определенные нами постинфекционные изменения в тканях легких морской свинки имели сходство с описанными ранее при проведении гистологического анализа тканей легкого пациентов, погибших от COVID-19 [20].

Хорьки. У хорьков, инфицированных SARS-CoV-2, наблюдались ринит и трахеит легкой и умеренной степени тяжести с редким одноклеточным некрозом эпителия слизистой. Эпителий слизистой оболочки носовых пазух был ослаблен, терял реснички, в просвете регистрировали некоторое количество слизи, содержащей нейтрофилы. Воспаление бронхов и бронхиол носило локальный характер. Поражения характеризовались инфильтрацией слизистой оболочки бронхов и бронхиол лимфоцитами, плазматическими клетками и нейтрофилами. Кроме того, наблюдали умеренный периваскулит капилляров легочной ткани (рис. 4, Е–F).

Приматы. В исследовании использовали два вида приматов: зеленая мартышка (*Chlorocebus aethiops*) и макак-резус (*Macaca mulatta*).

При гистологическом исследовании срезов легких *Ch. aethiops* и *M. mulatta* отмечено наличие минимальных, как правило, мелкоочаговых единичных участков геморрагии и плазморрагии. Нарушение гемодинамики проявлялось резкой гиперемией капилляров с явлениями эритростаза и внутрисосудистого гемолиза. Кроме того, для всех групп приматов было характерно отсутствие либо слабая степень выраженности воспалительной реакции легочной паренхимы. Данный признак проявлялся в виде умеренно выраженного отека межальвеолярных перегородок и лимфоцитарной инфильтрации. В ряде случаев наблюдались участки с выраженными проявлениями васкулита и бронхиолита. Наиболее выраженные проявления нарушения воздухонаполнения легких (в виде дистелектазов) наблюдались

у приматов *Ch. aethiops*. Наименьшие патологические проявления инфекции отмечены у *M. mulatta*, на гистологических препаратах преобладала близкая к норме морфологическая картина легких. У одного животного в одном из образцов присутствовали несколько синцитиальных образований в полости альвеол (единичные очаги). У некоторых животных обоих видов встречались проявления денудации: слущивание альвеолярного эпителия, присутствие в полостях альвеол крупных округлых клеток с высоким ядерно-цитоплазматическим соотношением и эозинофильной цитоплазмой. Отмечены различия патоморфологических проявлений инфекционного процесса в зависимости от вида примата. Перибронхиальная инфильтрация чаще встречалась у *Ch. aethiops*, а альвеолярно-геморрагический синдром – у *M. mulatta* (рис. 5, А–J).

Использование для изучения *in vivo* биологических свойств вируса SARS-CoV-2 различных видов лабораторных животных позволяет решать широкий спектр задач. Применение малоинвазивных методов исследования, начиная с отбора биологического материала (смывы, бронхоальвеолярный лаваж) и до контроля состояния легких (пульсоксиметрия, рентгенография, КТ), позволяет изучить максимальное количество параметров инфекционного процесса при минимальном количестве экспериментальных животных. Тем не менее при отсутствии летальности у изучаемых животных основным методом, подтверждающим клинические проявления инфекции, является анализ гистологических препаратов тканей легких. При этом картина патоморфологических изменений отличается в зависимости от вида лабораторного животного, геноварианта вируса SARS-CoV-2, вызывающего инфекционный процесс, инфицирующей дозы.

Например, при заражении мышей BALB/c и сирийских хомячков высокими дозами коронавируса в тканях легких наблюдаются проявления альвеолярно-геморрагического синдрома, вызванные прямым ци-

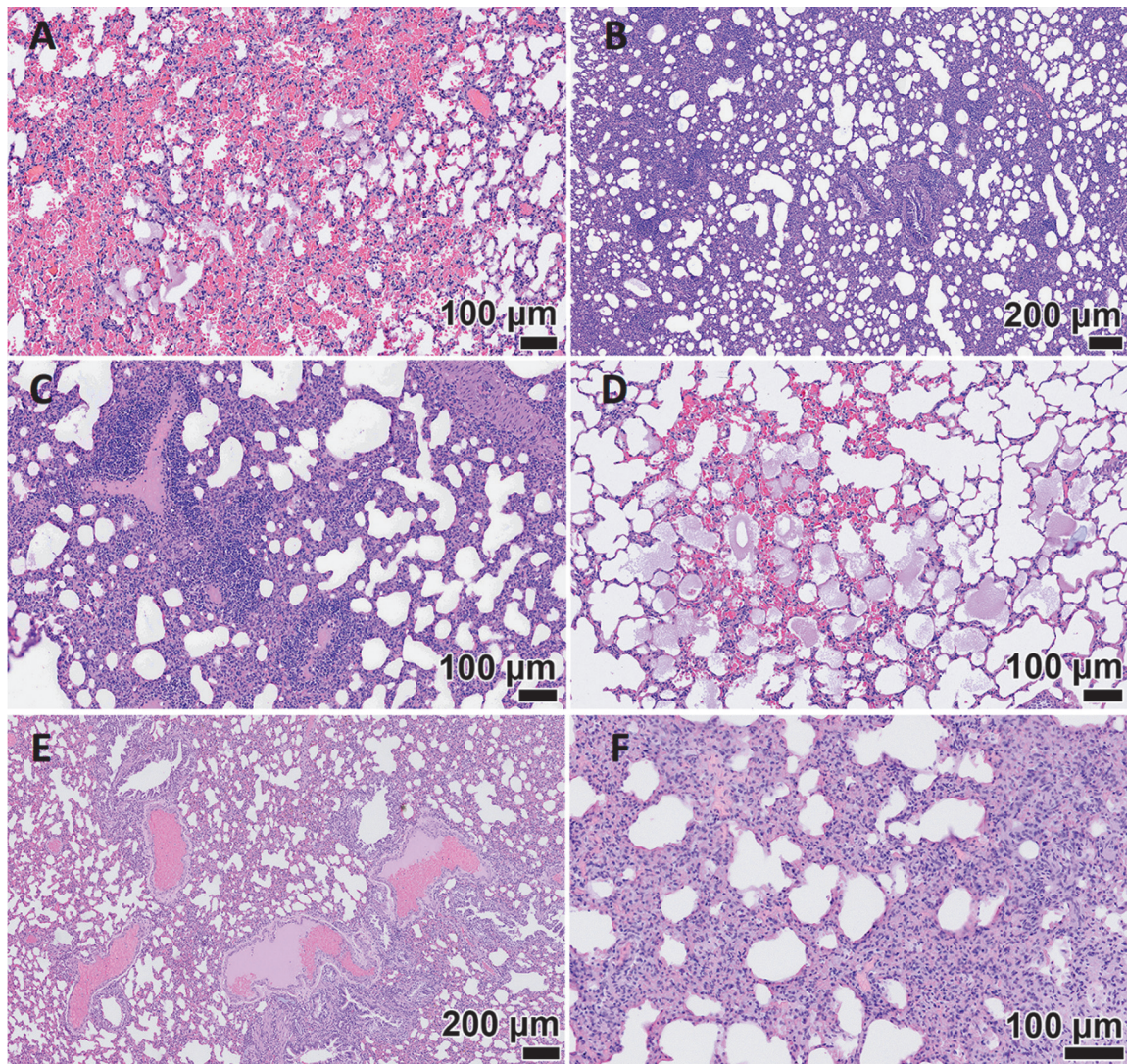


Рис. 4. Гистологические срезы легкого морских свинок (A–D) и хорьков (E–F), инфицированных вирусом SARS-CoV-2. Окраска гематоксилином и эозином.

A – геморрагия; *B* – инфильтрация лейкоцитами межальвеолярных перегородок; *C* – периваскулярная инфильтрация, лимфоцитарные «муфты» вокруг сосудов; *D* – альвеолярный отек и геморрагия; *E* – скопление эритроцитов и сепарация плазмы; *F* – лейкоцитарная инфильтрация межальвеолярных перегородок

Fig. 4. Lung histological sections of guinea pigs (A–D) and ferrets (E–F) infected with SARS-CoV-2 virus. Staining with hematoxylin and eosin:

A – hemorrhage; *B* – infiltration of inter-alveolar septa by leukocytes; *C* – perivascular infiltration, lymphocytic “couplings” around vessels; *D* – alveolar edema and hemorrhage; *E* – sludge of erythrocytes and plasma separation; *F* – leukocyte infiltration of inter-alveolar septa

топатическим действием вируса на альвеолоциты и эндотелий капилляров, что характерно для многих респираторных инфекционных агентов, включая высокопатогенный вирус гриппа птиц [21].

Однако основной причиной смертности у пациентов с COVID-19 является не увеличение вирусной нагрузки, а длительность инфекционного процесса и сопряженное с ним усиление иммунных и воспалительных реакций организма и, как следствие, возникновение системной воспалительной реакции – острого респираторного дистресс-синдрома [22]. Подобные особенности инфекционного процесса, вызванного вирусом SARS-CoV-2, характерны и для животных моделей. На гистологических препаратах наблюдается ярко выраженная консолидация паренхимы легкого, утолщение межальвеолярных перегородок за счет отека и вос-

палительной инфильтрации. Описываемые изменения тканей легких мы наблюдали у морских свинок, также у мышей BALB/c и сирийских хомячков при низких дозах инфицирования. Следует отметить, что подобное влияние вирус-индуцированного воспаления на тяжесть инфекционного процесса характерно и для вируса гриппа, хотя и в меньшей степени [23, 24].

Хорьки и приматы являются самыми крупными моделями, применяемыми при изучении патогенеза COVID-19. Размеры тела позволяют контролировать инфекционный процесс с помощью рентгенографии и КТ, прижизненно получать бронхоальвеолярный лаваж для определения вирусной нагрузки в тканях легких. Однако размер тела и специальные условия содержания создают некоторые трудности при проведении экспериментов на этих животных.

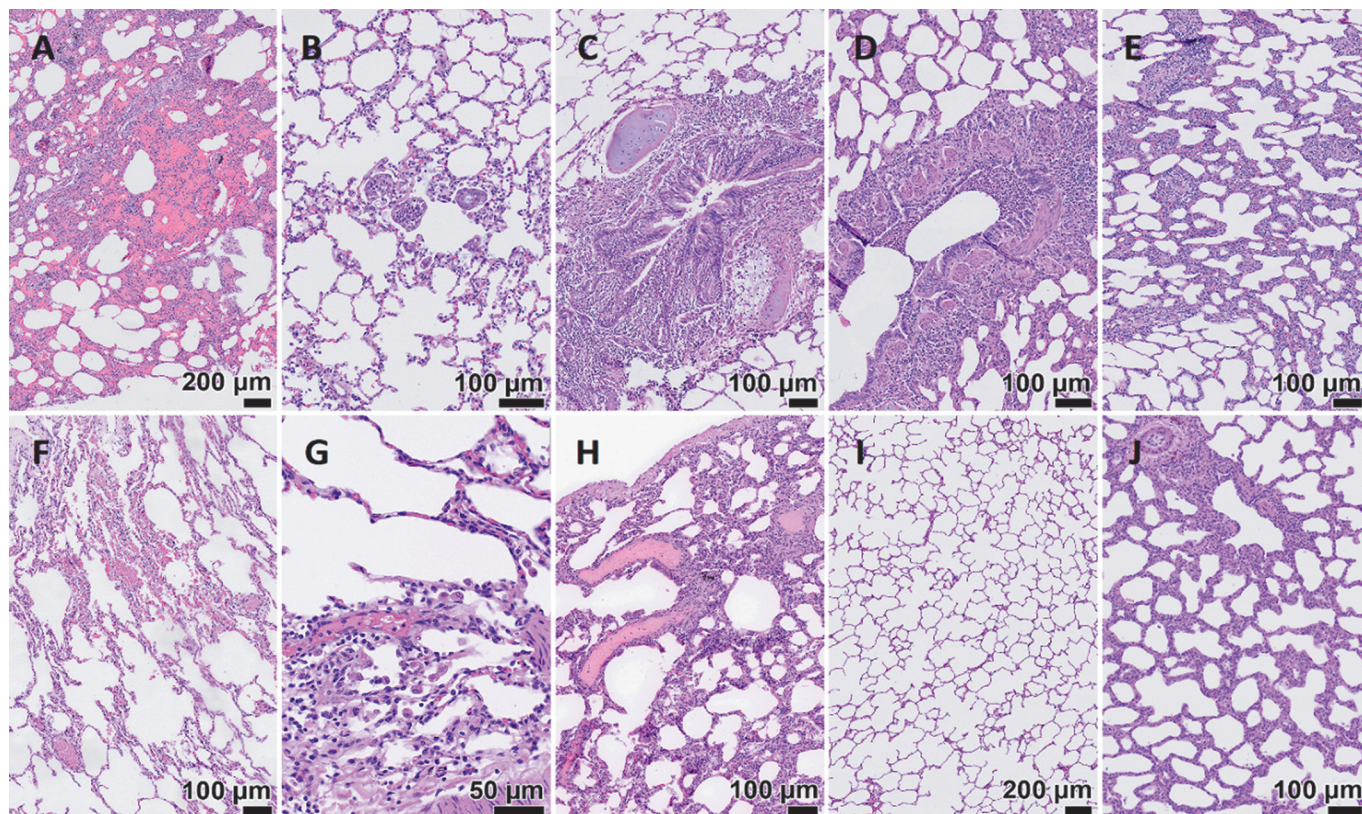


Рис. 5. Гистологические срезы легкого зеленых мартышек (А–Е) и макаки-резус (F–J), инфицированных вирусом SARS-CoV-2. Окраска гематоксилином и эозином.

А – геморрагия – альвеолярно-геморрагический синдром; В – синцитии в полости альвеол; С – перибронхиальная инфильтрация лейкоцитами, дистрофия эпителия, локальный отек стенки бронха; D – перибронхиальная инфильтрация, гнойный экссудат в просвете бронха; E – лимфоцитарная инфильтрация межальвеолярных перегородок – интерстициальная пневмония; F – мелкая геморрагия; G – макрофаги в полости альвеол; H – полнокровие альвеолярных капилляров, снижение воздушности по типу дистелектаза; I – участок легкого без патологии; J – лимфоцитарная инфильтрация межальвеолярных перегородок – интерстициальная пневмония

Fig. 5. Lung histological sections of green monkeys (A–E) and rhesus macaques (F–J) infected with SARS-CoV-2 virus. Hematoxylin and eosin staining.

A – hemorrhage – alveolar hemorrhagic syndrome; B – syncytia in the alveolar cavity; C – peribronchovascular interstitial pneumonia, epithelial dystrophy, local edema of the bronchial wall; D – peribronchovascular interstitial pneumonia, purulent exudate in the bronchial lumen; E – lymphocytic infiltration of the inter-alveolar septa – interstitial pneumonia; F – small hemorrhage; G – macrophages in the cavity of the alveoli; H – dilation and congestion of capillaries in alveolar walls, decreased airiness by type of distelectase; I – lung area without pathology; J – lymphocytic infiltration of the inter-alveolar septa – interstitial pneumonia

У макаки-резус инфекционный процесс развивается медленнее, при этом площадь поврежденных тканей легких выше, инкубационный период сопоставим по сроку с человеческим. При сходной клинике у зеленых мартышек регистрировали более быстрое развитие инфекционного процесса, признаки пневмонии, внутриальвеолярные кровоизлияния, утолщение и отек межальвеолярных перегородок с лимфоцитарной инфильтрацией, что указывает на развитие цитокинового шторма. Вирусная нагрузка и картина легочной патологии у зеленых мартышек сопоставимы с таковыми у пациентов с COVID-19.

Инфекционный процесс у хорьков скоротечен, протекает в основном на слизистой оболочке носа, что позволяет использовать их как модель воздушно-капельной передачи коронавируса. Вирусная нагрузка в образцах назальных смывов достигает максимальных значений на вторые сутки после интраназального введения вируса, после чего снижается. На седьмые сутки вирус не определяется, патоморфологические изменения легких отсутствуют.

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что наиболее близкая к человеческой патоморфологическая картина изменений тканей легких среди распространенных модельных животных отмечена у мышей BALB/c и морских свинок. Тем не менее и другие изученные в качестве моделей COVID-19 лабораторные животные также могут быть использованы в экспериментах *in vivo*.

Охарактеризованы особенности патоморфологических изменений у шести различных видов животных при моделировании новой коронавирусной инфекции, определен их дозозависимый характер. Представленные результаты исследований могут быть применены для выбора модельного животного с целью углубленного изучения патогенеза COVID-19, вызванного вновь выделяемыми эпидемически значимыми геновариантами коронавируса, динамики иммунных реакций организма во время развития заболевания, а также при изучении *in vivo* протективного действия перспективных терапевтических препаратов и вакцин.

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. Все эксперименты на животных одобрены Биоэтическим комитетом ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (протокол от 15.06.2021 № 3) и проводились в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

Список литературы

- Leneva I., Kartashova N., Poromov A., Gracheva A., Korchevaya E., Glubokova E., Borisova O., Shtro A., Loginova S., Shchukina V., Khamitov R., Faizuloev E. Antiviral activity of umifenovir *in vitro* against a broad spectrum of coronaviruses, including the novel SARS-CoV-2 virus. *Viruses*. 2021; 13(8):1665. DOI: 10.3390/v13081665.
- Sutton T.C., Subbarao K. Development of animal models against emerging coronaviruses: From SARS to MERS coronavirus. *Virology*. 2015; 479-480:247-58. DOI: 10.1016/j.virol.2015.02.030.
- Dolskiy A.A., Gudymo A.S., Taranov O.S., Grishchenko I.V., Shitik E.M., Prokopov D.Y., Soldatov V.O., Sobolevskaya E.V., Bodnev S.A., Danilchenko N.V., Moiseeva A.A., Torzhkova P.Y., Bulanovich Y.A., Onhonova G.S., Ivleva E.K., Kubekina M.V., Belykh A.E., Tregubchak T.V., Ryzhikov A.B., Gavrilova E.V., Maksyutov R.A., Deykin A.V., Yudkin D.V. The tissue distribution of SARS-CoV-2 in transgenic mice with inducible ubiquitous expression of hACE2. *Front. Mol. Biosci.* 2022; 8:821506. DOI: 10.3389/fmolb.2021.821506.
- Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Томилов А.А., Боднев С.А., Болдырев Н.Д., Овчинникова А.С., Зайковская А.В., Таранов О.С., Пьянков О.В., Максютов Р.А. Изучение восприимчивости линий мышей к вызывающим обеспокоенность вариантам вируса SARS-CoV-2. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 1:148-55. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-148-155.
- Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Томилов А.А., Боднев С.А., Болдырев Н.Д., Овчинникова А.С., Зайковская А.В., Таранов О.С., Ивлева Е.К., Пьянков О.В., Максютов Р.А. Патогенность вызывающих обеспокоенность вариантов вируса SARS-CoV-2 для сирийского хомячка. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2022; 3:164-9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-164-169.
- Kumar S., Yadav P.K., Srinivasan R., Perumal N. Selection of animal models for COVID-19 research. *Virusdisease*. 2020; 31(4):453-8. DOI: 10.1007/s13337-020-00637-4.
- Kim Y.I., Kim S.G., Kim S.M., Kim E.H., Park S.J., Yu K.M., Chang J.H., Kim E.J., Lee S., Casel M.A.B., Um J., Song M.S., Jeong H.W., Lai V.D., Kim Y., Chin B.S., Park J.S., Chung K.H., Foo S.S., Poo H., Mo I.P., Lee O.J., Webby R.J., Jung J.U., Choi Y.K. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe*. 2020; 27(5):704-709.e2. DOI: 10.1016/j.chom.2020.03.023.
- Рыжиков А.Б., Рыжиков Е.А., Богрянцева М.П., Даниленко Е.Д., Имадинов И.Р., Нечаева Е.А., Пьянков О.В., Пьянкова О.Г., Суслопаров И.М., Таранов О.С., Гудымо А.С., Данильченко Н.В., Слепцова Е.С., Боднев С.А., Онхонова Г.С., Петров В.Н., Моисеева А.А., Торжкова П.Ю., Пьянков С.А., Трегубчак Т.В., Антонец Д.В., Гаврилова Е.В., Максютов Р.А. Иммуногенные и протективные свойства пептидной вакцины против SARS-CoV-2. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2021; 76(1):5-19. DOI: 10.15690/vramn1528.
- Casadevall A., Pirofski L. Host-pathogen interactions: the attributes of virulence. *J. Infect. Dis.* 2001; 184(3):337-44. DOI: 10.1086/322044.
- Yuan L., Tang Q., Cheng T., Xia N. Animal models for emerging coronavirus: progress and new insights. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1):949-61. DOI: 10.1080/22221751.2020.1764871.
- Borghesi A., Zigliani A., Masciullo R., Golemi S., Maculotti P., Farina D., Maroldi R. Radiographic severity index in COVID-19 pneumonia: relationship to age and sex in 783 Italian patients. *Radiol. Med.* 2020; 125(5):461-4. DOI: 10.1007/s11547-020-01202-1.
- Naninck T., Kahlaoui N., Lemaitre J., Maisonnasse P., De Mori A., Pascal Q., Contreras V., Marlin R., Relouzat F., Delache B., Hérate C., Aldon Y., van Gils M., Zabaleta N., Ho Tsong Fang R., Bosquet N., Sanders R.W., Vandenbergh L.H., Chapon C., Le Grand R. Computed tomography and ¹⁸F-FDG PET imaging provide additional readouts for COVID-19 pathogenesis and therapies evaluation in non-human primates. *iScience*. 2022; 25(4):104101. DOI: 10.1016/j.isci.2022.104101.
- Upadhyay S., Rehman J., Malik A.B., Chen S. Mechanisms of lung injury induced by SARS-CoV-2 infection. *Physiology*. 2022; 37(2):88-100. DOI: 10.1152/physiol.00033.2021.
- Matute-Bello G., Downey G., Moore B.B., Greshong S.D., Matthay M.A., Slutsky A.S., Kuebler W.M. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011; 44(5):725-38. DOI: 10.1165/rcmb.2009-0210ST.
- Dieter K., Gutbier B., Wienhold S.M., Reppe K., Jiang X., Yao L., Chaput C., Naujoks J., Brack M., Kupke A., Peteranderl C., Becker S., von Lachner C., Baal N., Slevogt H., Hocke A.C., Witzernath M., Opitz B., Herold S., Hackstein H., Sander L.E., Suttrop N., Gruber A.D. Spectrum of pathogen- and model-specific histopathologies in mouse models of acute pneumonia. *PLoS One*. 2017; 12(11):e0188251. DOI: 10.1371/journal.pone.0188251.
- Osterrieder N., Bertzbach L.D., Dieter K., Abdelgawad A., Vladimirova D., Kunec D., Hoffmann D., Beer M., Gruber A.D., Trimpert J. Age-dependent progression of SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters. *Viruses*. 2020; 12(7):779. DOI: 10.3390/v12070779.
- Gruber A.D., Osterrieder N., Bertzbach L.D., Vladimirova D., Greuel S., Ihlow J., Horst D., Trimpert J., Dieter K. Standardization of reporting criteria for lung pathology in SARS-CoV-2-infected hamsters: what matters? *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2020; 63(6):856-9. DOI: 10.1165/rcmb.2020-0280LE.
- Sia S.F., Yan L.M., Chin A.W.H., Fung K., Choy K.T., Wong A.Y.L., Kaewpredee P., Perera R.A.P.M., Poon L.L.M., Nicholls J.M., Peiris M., Yen H.L. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature*. 2020; 583(7818):834-8. DOI: 10.1038/s41586-020-2342-5.
- Зайратьянц О.В., редактор. Патологическая анатомия COVID-19. Атлас. М.: ГБУ «НИИОЗМ ДЗМ»; 2020. 140 с.
- Самсонова М.В., Михалева Л.М., Зайратьянц О.В., Варясин В.В., Быканова А.В., Мишнев О.Д., Березовский Ю.С., Тишкевич О.А., Гомзикова Е.А., Черняев А.Л., Хованская Т.Н. Патология легких при COVID-19 в Москве. *Архив патологии*. 2020; 82(4):32-40. DOI: 10.17116/patol20208204132.
- Шестопалова Л.В., Прокопьева Е.А., Корчагина К.В., Максимова Д.А., Зайковская А.В., Шкурупий В.А., Шестопалов А.М. Ультраструктурные изменения альвеолоцитов и макрофагов легких под влиянием высокопатогенного вируса гриппа птиц H5N1. *Вестник НГУ. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2011; 9(1):58-65.
- Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C., Liu S., Zhao P., Liu H., Zhu L., Tai Y., Bai C., Gao T., Song J., Xia P., Dong J., Zhao J., Wang F.S. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet. Respir. Med.* 2020; 8(4):420-2. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
- Almansa R., Martinez-Orellana P., Rico L., Iglesias V., Ortega A., Vidiña B., Martinez J., Expósito A., Montoya M., Bermejo-Martin J.F. Pulmonary transcriptomic responses indicate a dual role of inflammation in pneumonia development and viral clearance during 2009 pandemic influenza infection. *PeerJ*. 2017; 5:e3915. DOI: 10.7717/peerj.3915.
- To K.K., Hung I.F., Li I.W., Lee K.L., Koo C.K., Yan W.W., Liu R., Ho K.Y., Chu K.H., Watt C.L., Luk W.K., Lai K.Y., Chow F.L., Mok T., Buckley T., Chan J.F., Wong S.S., Zheng B., Chen H., Lau C.C., Tse H., Cheng V.C., Chan K.H., Yuen K.Y. Delayed clearance of viral load and marked cytokine activation in severe cases of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 50(6):850-9. DOI: 10.1086/650581.

References

- Leneva I., Kartashova N., Poromov A., Gracheva A., Korchevaya E., Glubokova E., Borisova O., Shtro A., Loginova S., Shchukina V., Khamitov R., Faizuloev E. Antiviral activity of umifenovir *in vitro* against a broad spectrum of coronaviruses, including the novel SARS-CoV-2 virus. *Viruses*. 2021; 13(8):1665. DOI: 10.3390/v13081665.
- Sutton T.C., Subbarao K. Development of animal models against emerging coronaviruses: From SARS to MERS coronavirus. *Virology*. 2015; 479-480:247-58. DOI: 10.1016/j.virol.2015.02.030.
- Dolskiy A.A., Gudymo A.S., Taranov O.S., Grishchenko I.V., Shitik E.M., Prokopov D.Y., Soldatov V.O., Sobolevskaya E.V., Bodnev S.A., Danilchenko N.V., Moiseeva A.A., Torzhkova P.Y., Bulanovich Y.A., Onhonova G.S., Ivleva E.K., Kubekina M.V., Belykh A.E., Tregubchak T.V., Ryzhikov A.B., Gavrilova E.V., Maksyutov R.A., Deykin A.V., Yudkin D.V. The tissue distribution of SARS-CoV-2 in transgenic mice with inducible ubiquitous expression of hACE2. *Front. Mol. Biosci.* 2022; 8:821506. DOI: 10.3389/fmolb.2021.821506.
- Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Tomilov A.A., Bodnev S.A., Boldyrev N.D., Ovchinnikova A.S., Zaikovskaya A.V., Taranov O.S., P'yankov O.V., Maksyutov R.A. [Susceptibility to SARS-CoV-2 virus variants of concern in mouse models]. *Problemy Osobo*

Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2022; (1):148–55. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-1-148-155.

5. Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Tomilov A.A., Bodnev S.A., Boldyrev N.D., Ovchinnikova A.S., Zaikovskaya A.V., Taranov O.S., Ivleva E.K., P'yankov O.V., Maksyutov R.A. [Pathogenicity of the SARS-CoV-2 virus variants of concern for the Syrian golden hamster]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; (3):164–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-164-169.

6. Kumar S., Yadav P.K., Srinivasan R., Perumal N. Selection of animal models for COVID-19 research. *Virusdisease*. 2020; 31(4):453–8. DOI: 10.1007/s13337-020-00637-4.

7. Kim Y.I., Kim S.G., Kim S.M., Kim E.H., Park S.J., Yu K.M., Chang J.H., Kim E.J., Lee S., Casel M.A.B., Um J., Song M.S., Jeong H.W., Lai V.D., Kim Y., Chin B.S., Park J.S., Chung K.H., Foo S.S., Poo H., Mo I.P., Lee O.J., Webby R.J., Jung J.U., Choi Y.K. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. *Cell Host Microbe*. 2020; 27(5):704–709.e2. DOI: 10.1016/j.chom.2020.03.023.

8. Ryzhikov A.B., Ryzhikov E.A., Bogryantseva M.P., Danilenko E.D., Imatdinov I.R., Nechaeva E.A., Pyankov O.V., Pyankova O.G., Susloparov I.M., Taranov O.S., Gudymo A.S., Danilchenko N.V., Sleptsova E.S., Bodnev S.A., Onkhonova G.S., Petrov V.N., Moiseeva A.A., Torzhkova P.Yu., Pyankov S.A., Tregubchak T.V., Antonets D.V., Gavrilova E.V., Maksyutov R.A. [Immunogenicity and protectivity of the peptide vaccine against SARS-CoV-2]. *Vestnik Rossijskoj Akademii Meditsinskikh Nauk [Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences]*. 2021; 76(1):5–19. DOI: 10.15690/vramn1528.

9. Casadevall A., Pirofski L. Host-pathogen interactions: the attributes of virulence. *J. Infect. Dis.* 2001; 184(3):337–44. DOI: 10.1086/322044.

10. Yuan L., Tang Q., Cheng T., Xia N. Animal models for emerging coronavirus: progress and new insights. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9(1):949–61. DOI: 10.1080/22221751.2020.1764871.

11. Borghesi A., Zigliani A., Masciullo R., Golemi S., Maculotti P., Farina D., Maroldi R. Radiographic severity index in COVID-19 pneumonia: relationship to age and sex in 783 Italian patients. *Radiol. Med.* 2020; 125(5):461–4. DOI: 10.1007/s11547-020-01202-1.

12. Naninck T., Kahlaoui N., Lemaitre J., Maisonnasse P., De Mori A., Pascal Q., Contreras V., Marlin R., Relouzat F., Delache B., Hérate C., Aldon Y., van Gils M., Zabaleta N., Ho Tsong Fang R., Bosquet N., Sanders R.W., Vandenbergh L.H., Chapon C., Le Grand R. Computed tomography and [¹⁸F]-FDG PET imaging provide additional readouts for COVID-19 pathogenesis and therapies evaluation in non-human primates. *iScience*. 2022; 25(4):104101. DOI: 10.1016/j.isci.2022.104101.

13. Upadhyya S., Rehman J., Malik A.B., Chen S. Mechanisms of lung injury induced by SARS-CoV-2 infection. *Physiology*. 2022; 37(2):88–100. DOI: 10.1152/physiol.00033.2021.

14. Matute-Bello G., Downey G., Moore B.B., Grohong S.D., Matthay M.A., Slutsky A.S., Kuebler W.M. An official American Thoracic Society workshop report: features and measurements of experimental acute lung injury in animals. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2011; 44(5):725–38. DOI: 10.1165/rcmb.2009-0210ST.

15. Dietert K., Gutbier B., Wienhold S.M., Reppe K., Jiang X., Yao L., Chaput C., Naujoks J., Brack M., Kupke A., Peteranderl C., Becker S., von Lachner C., Baal N., Slevogt H., Hocke A.C., Witznath M., Opitz B., Herold S., Hackstein H., Sander L.E., Suttrop N., Gruber A.D. Spectrum of pathogen- and model-specific histopathologies in mouse models of acute pneumonia. *PLoS One*. 2017; 12(11):e0188251. DOI: 10.1371/journal.pone.0188251.

16. Osterrieder N., Bertzbach L.D., Dietert K., Abdelgawad A., Vladimirova D., Kunec D., Hoffmann D., Beer M., Gruber A.D., Trimpert J. Age-dependent progression of SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters. *Viruses*. 2020; 12(7):779. DOI: 10.3390/v12070779.

17. Gruber A.D., Osterrieder N., Bertzbach L.D., Vladimirova D., Greuel S., Ihlow J., Horst D., Trimpert J., Dietert K. Standardization of reporting criteria for lung pathology in SARS-CoV-2-infected hamsters: what matters? *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2020; 63(6):856–9. DOI: 10.1165/rcmb.2020-0280LE.

18. Sia S.F., Yan L.M., Chin A.W.H., Fung K., Choy K.T., Wong A.Y.L., Kaewpreedee P., Perera R.A.P.M., Poon L.L.M., Nicholls J.M., Peiris M., Yen H.L. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature*. 2020; 583(7818):834–8. DOI: 10.1038/s41586-020-2342-5.

19. Zairat'yants O.V., editor. [Pathological Anatomy of COVID-19. Atlas]. Moscow; 2020. 140 p.

20. Samsonova M.V., Mikhaleva L.M., Zairat'yants O.V., Varyasin V.V., Bykanova A.V., Mishnev O.D., Berezovsky Yu.S., Tishkevich O.A., Gomzikova E.A., Chernyaev A.L., Khovanskaya T.N. [Lung pathology of COVID-19 in Moscow]. *Arkhiv Patologii [Archive of Pathology]*. 2020; 82(4):32–40. DOI: 10.17116/ptol20208204132.

21. Shestopalova L.V., Prokopieva E.A., Korchagina K.V., Maksimova D.A., Zaikovskaya A.V., Shkurupi V.A., Shestopalov A.M. [Ultrastructural changes in lung alveolocytes and macrophages under the influence of highly pathogenic avian influenza virus H5N1]. *Vestnik Novosibirskogo Gosudarstvennogo Universiteta [Bulletin of Novosibirsk State University. Series: Biology and Clinical Medicine]*. 2011; 9(1):58–65.

22. Xu Z., Shi L., Wang Y., Zhang J., Huang L., Zhang C., Liu S., Zhao P., Liu H., Zhu L., Tai Y., Bai C., Gao T., Song J., Xia P., Dong J., Zhao J., Wang F.S. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet. Respir. Med.* 2020; 8(4):420–2. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.

23. Almansa R., Martínez-Orellana P., Rico L., Iglesias V., Ortega A., Vidana B., Martínez J., Expósito A., Montoya M., Bermejo-Martin J.F. Pulmonary transcriptomic responses indicate a dual role of inflammation in pneumonia development and viral clearance during 2009 pandemic influenza infection. *PeerJ*. 2017; 5:e3915. DOI: 10.7717/peerj.3915.

24. To K.K., Hung I.F., Li I.W., Lee K.L., Koo C.K., Yan W.W., Liu R., Ho K.Y., Chu K.H., Watt C.L., Luk W.K., Lai K.Y., Chow F.L., Mok T., Buckley T., Chan J.F., Wong S.S., Zheng B., Chen H., Lau C.C., Tse H., Cheng V.C., Chan K.H., Yuen K.Y. Delayed clearance of viral load and marked cytokine activation in severe cases of pandemic H1N1 2009 influenza virus infection. *Clin. Infect. Dis.* 2010; 50(6):850–9. DOI: 10.1086/650581.

Authors:

Shipovalov A.V., Kudrov G.A., Ivleva E.K., Omigov V.V., P'yankov O.V., Taranov O.S. State Scientific Center of Virology and Biotechnology "Vector". Kol'tsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

Об авторах:

Шиповалов А.В., Кудров Г.А., Ивлева Е.К., Омигов В.В., Пьянков О.В., Таранов О.С. Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор». Российская Федерация, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово. E-mail: vector@vector.nsc.ru.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-188-192

УДК 616.936(689.4)

Patrick Loti^{1,2}, Stanley S. Nyirenda^{1,3}, Frank K. Chisulo⁴, Agness Chama⁵, Majory Singogo⁶,
Daniel B. Chileshe⁷, James L. Mwansa⁸

Investigation of Malaria Parasitemia among Asymptomatic Individuals in Designated Districts of Central and Muchinga Provinces of Zambia – A Cross Sectional Study

¹Chreso University, Department of Research and Postgraduate Studies, Lusaka, Republic of Zambia; ²Nchanga North General Hospital, Clinical Laboratory, Chingola, Republic of Zambia; ³Central Veterinary Research Institute, Balmoral, Lusaka, Republic of Zambia; ⁴Chilonga Mission General Hospital, Mpika, Republic of Zambia; ⁵MedNest Healthcare and Diagnostics, Chingola, Republic of Zambia; ⁶Women and Newborn Hospital, Lusaka, Republic of Zambia; ⁷Chama District Hospital, Chama, Republic of Zambia; ⁸Lusaka Apex Medical University, Department of Research and Postgraduate Studies, Lusaka, Republic of Zambia

Abstract. The aim of the study was to investigate asymptomatic malaria in health-conscious population across four selected districts. Malaria is a life-threatening disease caused by *Plasmodium* spp. transmitted through bites of infected female *Anopheles* mosquitoes. Asymptomatic malaria refers to the presence of malaria parasites *in vivo* without symptoms, which usually provides a reservoir for the disease transmission. **Materials and methods.** Blood collected in EDTA underwent testing through RDT (SD Bioline one-step malaria antigen P.f. (HRP-II) rapid test kits), while thin and thick blood smears Giemsa stained were microscopically examined. **Results and discussion.** Out of 385 individuals examined, 84 people (21.8 %) tested positive for malaria using RDT and 101/385 (26.2 %) – through microscopy. Microscopic examination further identified 27 individuals (7.0 %) with gametocytes and 74 (19.2 %) – with trophozoites. Intriguingly, 17 (4.4 %) samples showed negative results in RDT but exhibited trophozoites and gametocytes upon smear examination. District-wise analysis demonstrated the highest malaria positivity rate in Kanchibiya district, with 32 cases (8.3 %) detected by RDT and 35 (8.5 %) – through microscopy. Chitambo district followed closely: with RDT and microscopy values of 25 (6.5 %) and 33 (8.4 %), respectively; while Mpika and Serenje districts had 13 (3.4 %) and 14 (3.6 %) prevalence, respectively, with RDT and microscopy at 12 (3.1 %) in both districts [$\chi^2=16.3$, p -value=0.0118]. The study also revealed that 365/385 (95 %) of the participants demonstrated knowledge and positive attitudes toward malaria. Our findings accentuate the presence of asymptomatic malaria, encompassing trophozoites and gametocytes, among seemingly healthy individuals which poses a health risk to the community. Therefore, it is imperative to implement preventive chemotherapy and strengthen vector control efforts against malaria in order to reduce the infection rate.

Key words: asymptomatic malaria, malaria parasitemia, *Plasmodium* species, prevalence.

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

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

Bioethics: This study was a field community based study, involving direct contact with participants. The human blood samples were used for the study. Confidentiality of participants were maintained by ensuring that no participant's name or identity number appeared on data information sheet; newly generated identification numbers were applied. Permission to carry out the study was obtained from the Provincial Health Directors of Central and Muchinga Provinces. The study was approved by the Chreso University Research Ethics Committee (CUREC), Protocol REF No. 1577-12-2022 and National Health Research Ethics Board, NHRA REF No. B005/12/06/2023.

Acknowledgements: The authors would like to thank the staffs in Toxicity and Tropical Diseases Laboratory, Institute of Tropical Medicine, Joint Vietnam-Russia Tropical Science and Technology Research Center for technical assistance.

Corresponding author: Stanley S. Nyirenda, e-mail: stanleynyirenda@yahoo.co.uk.

Citation: Patrick Loti, Stanley S. Nyirenda, Frank K. Chisulo, Agness Chama, Majory Singogo, Daniel B. Chileshe, James L. Mwansa. Investigation of Malaria Parasitemia among Asymptomatic Individuals in Designated Districts of Central and Muchinga Provinces of Zambia – A Cross Sectional Study. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:188–192. (In English). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-188-192

Received 04.03.2024. Revised 05.04.2024. Accepted 16.05.2024.

Patrick Loti, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8942-8908>
Stanley S. Nyirenda, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0374-457X>
Frank K. Chisulo, ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-8656-7552>

Agness Chama, ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-3505-7803>
Majory Singogo, ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-4928-8963>

Patrick Loti^{1,2}, Stanley S. Nyirenda^{1,3}, Frank K. Chisulo⁴, Agness Chama⁵, Majory Singogo⁶, Daniel B. Chileshe⁷, James L. Mwansa⁸

Исследование малярийной паразитемии среди бессимптомных лиц в ряде округов провинций Центральная и Мучинга Замбии – перекрестное исследование

¹ Университет Чресо, факультет исследований и последипломного образования, Лусака, Республика Замбия;

² Северная больница общего профиля Нчанга, клиническая лаборатория, Чингола, Республика Замбия;

³ Центральный институт ветеринарных исследований, Балморал, Лусака, Республика Замбия;

⁴ Больница общего профиля миссии Чилонга, Мпика, Республика Замбия;

⁵ MedNest Healthcare and Diagnostics, Чингола, Республика Замбия;

⁶ Больница матери и новорожденного, Лусака, Республика Замбия;

⁷ Районная больница Чама, Чама, Республика Замбия;

⁸ Медицинский университет Анекс, факультет исследований и последипломного образования, Лусака, Республика Замбия

Цель исследования – изучение бессимптомной малярии среди населения, заботящегося о своем здоровье, в четырех районах Замбии. Бессимптомная малярия означает наличие малярийных паразитов *in vivo* без симптомов и является резервуаром для передачи заболевания. **Материалы и методы.** Кровь, собранную в пробирки с ЭДТА, тестировали с помощью ИХА (наборы для одноэтапного экспресс-тестирования на антиген P.f. [HRP-II] SD Bioline [Южная Корея]), а окрашенные по Гимза тонкие и толстые мазки крови подвергались микроскопическому исследованию. **Результаты и обсуждение.** Из 385 обследованных лиц 84 (21,8 %) дали положительный результат на малярию с помощью ИХА и 101 (26,2 %) – с помощью метода микроскопии. При микроскопическом исследовании у 27 (7,0 %) идентифицированы гаметоциты и у 74 (19,2 %) – трофозоиты. Показали отрицательные результаты при ИХА 17 (4,4 %) образцов, но при исследовании мазка обнаружили трофозоиты и гаметоциты. Анализ по районам показал, что в районе Канчибия наблюдается самый высокий показатель положительных результатов по малярии: 32 (8,3 %) выявлены с помощью экспресс-теста и 35 (8,5 %) – с помощью микроскопии. В провинции Читамбо показатели ИХА и микроскопии были 25 (6,5 %) и 33 (8,4 %) соответственно, в то время как результаты ИХА в округе Мпика и Серенье были 13 (3,4 %) и 14 (3,6 %), а при использовании микроскопии – 12 (3,1 %) в обоих округах [$\chi^2=16,3$, p -значение=0,0118]. Продемонстрировали знания и серьезное отношение к малярии 365 из 385 (95 %) участников. Наши результаты подтверждают возможность бессимптомного течения болезни, вызванной возбудителями малярии, включая трофозоиты и гаметоциты, среди внешне здоровых людей, которые представляют риск для здоровья общества. Поэтому крайне важно проводить профилактическую химиотерапию и активизировать усилия по борьбе с переносчиками инфекции, чтобы снизить уровень инфицирования.

Ключевые слова: малярия, бессимптомное течение, малярийная паразитемия, виды *Plasmodium*, распространенность.

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. Исследование являлось полевым исследованием на уровне общины и включало прямой контакт с участниками. Для этого исследования были использованы образцы человеческой крови. Конфиденциальность участников сохранялась за счет того, что имя или идентификационный номер участника не появлялись в информационном листе, а использовались заново сгенерированные идентификационные номера. Разрешение на проведение исследования получено от руководителей здравоохранения провинций Центральная и Мучинга. Исследование одобрено Комитетом по этике исследований Университета Чресо (CUREC), протокол REF № 1577-12-2022 и Национальным советом по этике исследований в области здравоохранения, NHRA REF № B005/12/06/2023.

Благодарность. Выражаем благодарность участникам отбора проб из соответствующих районов. Благодарим также Министерство здравоохранения и Университет Чресо за разрешение провести исследование.

Корреспондирующий автор: Stanley S. Nyirenda, e-mail: stanleynyirenda@yahoo.co.uk.

Для цитирования: Patrick Loti, Stanley S. Nyirenda, Frank K. Chisulo, Agness Chama, Majory Singogo, Daniel B. Chileshe, James L. Mwansa. Исследование малярийной паразитемии среди бессимптомных лиц в ряде округов провинций Центральная и Мучинга Замбии – перекрестное исследование. *Проблемы особо опасных инфекций.* (На англ.) 2024; 2:188–192. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-188-192

Поступила 04.03.2024. Отправлена на доработку 05.04.2024. Принята к публ. 16.05.2024.

Asymptomatic malaria refers to the presence of malaria parasites in the blood without symptoms, serving as a reservoir for transmission and preceding the onset of symptomatic malaria [1]. Gametocytes play a direct role in preserving *Plasmodium falciparum*, the most lethal human parasite. Malaria, a life-threatening disease transmitted through bites of infected female *Anopheles* mosquitoes, which is preventable and curable. The disease presents symptoms of fever, headache and chills, though these symptoms may be mild and difficult to re-

cognize. Among the five parasite species causing malaria in humans, *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* pose the greatest threat. Despite extensive interventions for malaria elimination, it remains a serious global health challenge.

Globally, 3.2 billion people are at risk of malaria, with an estimated 229 million cases and 409,000 deaths in 2019. Africa bore the brunt with an estimated 215 million cases, constituting 94 % of global malaria cases in 2019. The concerted efforts of vector control, preventive

chemotherapy, and improved diagnosis and treatment contributed to a 60 % decline in malaria deaths in many regions worldwide [2]. Despite these interventions and a reduction in mortality and morbidity, malaria remains a persistent cause of death in Africa. Malaria affects all age groups, with pregnant mothers and children under-five being the most vulnerable.

Malaria persists as a prominent public health challenge and the primary cause of morbidity and mortality in Zambia [3]. Despite a reduction in cases between 2000 and 2015, malaria is still burdensome in Zambian communities. The presence of gametocytes in asymptomatic populations may act as a reservoir, which is crucial for completing the malaria life cycle and transmission [4]. Particularly noteworthy is the role of gametocytaemia in asymptomatic individuals as an infective stage aiding continuous malaria transmission [5].

In Zambia, malaria burden is influenced by climatic factors. At the community level, Zambia faces challenges, especially in highly endemic areas, with provinces like Luapula, Northern, Central, Muchinga, and North Western having a prevalence ranging 11–30 % in 2020. The overall malaria prevalence in Zambia is reported at 78.6 % [6]. Despite ongoing malaria programs, cases persist, with limited information on parasitemia profiles in asymptomatic individuals. Zambia continues to strive for malaria elimination, emphasizing the need for comprehensive identification, treatment, and eradication of all *Plasmodium* species [7]. Detection of the disease is accomplished by using diagnostic tools such as RDT and microscopy examination. Microscopic examination is considered as the gold standard for investigation of malaria parasites. The blood smears are stained with Giemsa and examined for either the gametocytes, schizonts or the trophozoites. While some of the RDT kit may detect the antigen of *P. falciparum* in the blood and the kit mostly rely on the detection of specific malaria antigens produced by the malaria parasites. The most common target antigen is the histidine-rich protein II (HRP-II) produced by *P. falciparum*, the most deadly malaria parasite. Asymptomatic infections pose a unique challenge, acting as a substantial reservoir for parasites and contributing to malaria transmission [8]. This study holds great importance in generating information about the gametocytaemia profile in asymptomatic individuals, offering insights into parameters involved in malaria transmission. Policymakers and stakeholders can utilize this information to revise national malaria elimination guidelines, formulate effective interventions, and address the challenge of undiagnosed infection reservoirs. **The aim** of this study is to ascertain the prevalence of parasitemia and identify the most common *Plasmodium* species among asymptomatic individuals while assessing their knowledge levels about causes, transmission, treatment, and prevention of malaria. The findings will strengthen effective strategies for reducing malaria cases in Zambia, not only diminishing morbidity and mortality, but also contributing to the development and enhancement of malaria elimination strategies.

Materials and methods

Study site. The study was carried out in Central and Muchinga provinces of Zambia, selected purposefully because other than lying in epidemiological zone of malaria transmission and its ecological nature that provided a geographical gradient, it is also a rural area that experienced various aspects of social developmental inequalities. The study area included: Chitambo, Kanchibiya, Mpika and Serenje districts.

Research design. This was a cross-sectional study involving malaria asymptomatic individuals. The qualitative method of this study was antecedent to quantitative method. In the four selected districts, at least a minimum of 96 samples were collected and four Focus Groups discussion were conducted in each district. Focus groups are facilitated discussions, held with a small group of people who have specialist knowledge or interest in a particular topic. The individuals were selected by random systematic technique in communities/villages. In each selected village 10 % of households, was sampled, the houses were counted and the first house was randomly selected and the rest were systematically selected. The household head was interviewed, and eligible members were sampled for the study.

Eligibility criteria. All asymptomatic individuals of 18 years and above were included in the study.

Exclusion criteria. Symptomatic individuals, described by CDC 2023 and those on treatment for malaria within 3 weeks were not included in the study.

Sampling frame. The random systematic technique was used and a minimum of 96 participants were selected in each district. The participants were drawn from areas after considering district, constituency and wards. The three clusters were selected using random systematic methods, and Focus Group Discussion (FGDs) were also conducted.

Each participant had an interview by administering a questionnaire which helped in data capturing and blood sample was collected for RDT and microscopy examination. The FGDs of 10–12 members consist of different professionals in the community, i.e. farmers, teachers, business people and agriculture officers. The community health workers (CHWs) helped in community mobilization and introducing the data collector to the targeted area and clarify the stories that are associated with blood collection like Satanism and other myths.

Sample analysis. Blood samples were collected in EDTA tubes and examined for malaria infections using rapid diagnostic test known as SD Bioline one-step malaria antigen P.f. (HRP-II) rapid test kits (RDT) and smear light microscopy (SLM). The RDT was used to detect malaria for fast linkage of participant to care as the outcome for blood smear microscopy took a bit longer [9].

A. Specimen collection for Malaria examination using Giemsa staining. The blood smear were prepared from EDTA sample on the grease free frosted microscopic slide and stained using 10 % Giemsa stain. The

microscopic examination of blood smears were done by Qualified Biomedical personnel to detect malaria parasites and identify the most common *Plasmodium* species with reference to Paraistology manual [10].

B. Malaria Rapid Diagnostic Testing (RDT). The malaria rapid diagnostic tests were performed using cassettes of SD Bioline one-step malaria antigen P.f. (HRP-II) rapid test kits following the manufacturer's instructions, after running quality control on the kit daily in the morning and when a new kit was opened.

Knowledge Attitude and Practices (KAP) data. Both qualitative and quantitative data collection was done using the questionnaire and FGD to gather data on knowledge, attitudes and practices of malaria.

Data analysis. Data was entered in excel and analysed using SPSS version 24. Age characteristics, malaria stages, gametocytaemia and species were analysed using descriptive statistics and presented as means, frequencies and percentages. Data was checked for normality using the Shapiro Wilk Test and log transformed so that it is normally distributed. A p-value of ≤ 0.05 was considered statistically significant.

Results and discussion

A total of 385 individuals were involved in the four districts. Our study showed that 84 out of 385 (21.8 %) were positive for malaria using RDT kit, while 101 out of 385 (26.2 %) exhibited Malaria parasites [gametocytes 27 out of 385 (7.0 %) and trophozoites 74 out of 385 (19.2 %)] on microscopic examination. Additionally, 16 out of 385 (4.2 %) samples were negative under RDT but trophozoites and gametocytes were detected upon smear examination (three *P. falciparum*, ten *P. ovale*, three *P. malariae*).

The results also revealed that Kanchibiya district had the highest number of malaria positivity on both RDT (32 out of 385, 8.3 %) and Microscopic examination (35 out of 385, 8.5 %). This was followed by Chitambo district with RDT positivity at 25 out of 385 (6.5 %) and microscopy examinations at 33 out of 385 (8.4 %). Meanwhile, the districts of Mpika and Serenje exhibited a prevalence of 14 out of 385 (3.6 %) and 13 out of 385 (3.4 %) in RDT, respectively, and had equal results for microscopy, 12 out of 385 (3.1 %).

Plasmodium specie. *P. falciparum* is the most common species of malaria parasite, accounting for 86 out of 101 (85.1 %), followed by *P. ovale* at 12 out of 101 (10.9 %), *P. malariae* at 3 out of 101 (2.9 %), and there was no *P. vivax*.

KAP about Malaria. 365/385 (95 %) of the participants demonstrated that they have knowledge and a positive attitude toward malaria disease. Only 5 % of the participants exhibited a poor attitude toward malaria prevention and control measures. Income, religion, occupational status, and educational status of the participants were associated with poor knowledge, attitude, and practices toward malaria prevention and control measures.

A significant overall prevalence of 26.2 % and 21.8 % was observed, using microscopy examination and RDT techniques, respectively, in asymptomatic healthy individuals across four selected districts in the Central and Muchinga provinces of Zambia. While this figure is higher, it remains comparable to the asymptomatic malaria prevalence (6.7 %) reported in studies conducted in Ethiopia [11]. Notably, other studies in Ethiopia still demonstrated a lower prevalence of asymptomatic malaria infection at 21.7 % [12] compared to our findings. Our study adopts the definition of asymptomatic malaria as infections in individuals who exhibit no signs or symptoms and have not undergone treatment within the past 21 days.

The data shows that both gametocytes (7.0 %) and trophozoites (19.6 %) were detected in healthy individuals, with the Kanchibiya district exhibiting the highest prevalence. This suggests that preventive measures may not have been effectively implemented. The presence of gametocytes in blood smears holds the importance in the transition of malaria infections from asexual to sexual forms within a human host, contributing to the transmission of malaria from one host to another. This observation aligns with studies conducted in Afghanistan, India, and Tanzania and suggests revising the surveillance, monitoring, and evaluation system of malaria elimination programs.

The results also revealed that microscopic examination detected more malaria parasites than RDT techniques, suggesting that microscopy technique is more sensitive and serves as the gold standard for detecting malaria parasites compared to RDT, which may probably only detected one species of malaria, the *P. falciparum*. There could be some false-negatives in RDT as suggested by C.O. Falade *et al.* who reported that high parasitemia could be due to other infection or result from a prozone effect [13]. The authors reported that there were 49 cases of RDT false-negative results with a parasite density range of 40–54 059/ μ L. Our findings are consistent with those reported in Nigeria by B.I. Garba *et al.*, where RDT kit detected 8.6 %, while microscopy – 46.7 % [14]. M.C. Mwenda *et al.* reported high diagnostic accuracy of microscopic examination as compared to RDT: (91.3 % vs 84.6 % respectively) false-positive in RDT [15]. Such results are significant as clinicians often consider RDT negative results as accurate reflections of the patient's condition, which may be rectified through microscopy examination as recommended by other researchers.

Asymptomatic malaria infections were found in healthy individuals, a pattern observed in Afghanistan, India, Ethiopia, and Tanzania. The study also reveals that *P. falciparum* was the most common species (85.1 %), followed by *P. ovale* (11.9 %), and *P. malariae* (2.97 %), with no detection of *P. vivax*. While inconsistent with Afghanistan, these findings align with those in Ethiopia and Tanzania [16]. The study underscores the limitation of *P. falciparum*-specific RDTs, as they missed detecting species other than *P. falciparum*, which were only

identified through microscopic examination. This has significant implications for recognizing the risk of undiagnosed infection reservoirs in the context of malaria parasite elimination, especially given the current reliance on *P. falciparum*-specific RDTs in most healthcare settings.

The level of knowledge, attitude, and practices (KAP) towards malaria was generally good (95%). The results suggest that the majority of individuals interviewed possessed knowledge about the control and treatment of malaria disease.

In conclusion, asymptomatic malaria infections were identified in the study areas, the results indicates both trophozoites and gametocytes in healthy individuals. Notably, the RDT kit exhibited limitations in detecting certain infections, while microscopy revealed parasites in the same samples. *P. falciparum* was the most common species, second – *P. ovale*, third – *P. malariae* and there was no *P. vivax*. KAP towards malaria prevention and control measures were generally good in the study areas. Recommendations: strengthen health education on the management of malaria disease, introduce RDT Kits capable of detecting all species of *Plasmodium* in health centres lacking laboratory facilities for malaria detection. The utilization of RDT kit (specifically, SD Bioline one-step malaria antigen PF-HRP-II rapid test kits) is inadequate for detecting all types of malaria. There is a need for preventive chemotherapy against malaria and intensify vector control especially at the beginning of the rainy season in order to reduce the infection rate in the area.

References

- Chourasia M.K., Raghavendra K., Bhatt R.M., Swain D.K., Valecha N., Kleinschmidt I. Burden of asymptomatic malaria among a tribal population in a forested village of central India: a hidden challenge for malaria control in India. *Public Health*. 2017; 147:92–7. DOI: 10.1016/j.puhe.2017.02.010.
- Anam L.S., Badi M.M., Assada M.A., Al Serouri A.A. Evaluation of two malaria surveillance systems in Yemen using updated CDC guidelines: lessons learned and future perspectives. *Inquiry*. 2019; 56:46958019880736. DOI: 10.1177/0046958019880736.
- Nawa M., Hangoma P., Morse A.P., Michelo C. Investigating the upsurge of malaria prevalence in Zambia between 2010 and 2015: a decomposition of determinants. *Malar. J.* 2019; 18(1):61. DOI: 10.1186/s12936-019-2698-x.
- Beri D., Balan B., Tatu U. Commit, hide and escape: the story of *Plasmodium* gametocytes. *Parasitology*. 2018; 145(13):1772–82. DOI: 10.1017/S0031182018000926.
- Prusty D., Gupta N., Upadhyay A., Dar A., Naik B., Kumar N., Prajapati V.K. Asymptomatic malaria infection prevailing risks for human health and malaria elimination. *Infect. Genet. Evol.* 2021; 93:104987. DOI: 10.1016/j.meegid.2021.104987.
- Chipoya M.N., Shimaponda-Mataa N.M. Prevalence, characteristics and risk factors of imported and local malaria cases in North-Western Province, Zambia: a cross-sectional study. *Malar. J.* 2020; 19(1):430. DOI: 10.1186/s12936-020-03504-1.
- Zimmerman P.A., Howes R.E. Malaria diagnosis for malaria elimination. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2015; 28(5):446–54. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000191.
- Roberds A., Ferraro E., Luckhart S., Stewart V.A. HIV-1 impact on malaria transmission: a complex and relevant global health concern. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021; 11: 656938. DOI: 10.3389/fcimb.2021.656938.
- Obeagu E.I., Chijioko U.O., Ekelozie I.S. Malaria Rapid Diagnostic Test (RDTs). *Ann. Clin. Lab. Res.* 2018; 6(4):275. DOI: 10.21767/2386-5180.100275.
- Memeu D.M., Kaduki K.A., Mjomba A.C.K., Muriuki N.S., Gitonga L. Detection of plasmodium parasites from images of thin blood smears. *Open J. Clin. Diagn.* 2013; 3:183–94. DOI: 10.4236/ojcd.2013.34034.
- Tamiru A., Tolossa T., Regasa B., Mosisa G. Prevalence of asymptomatic malaria and associated factors in Ethiopia: Systematic review and meta-analysis. *SAGE Open Med.* 2022; 10:20503121221088085. DOI: 10.1177/20503121221088085.
- Tilaye T., Tessema B., Alemu K. High asymptomatic malaria among seasonal migrant workers departing to home from malaria endemic areas in northwest Ethiopia. *Malar. J.* 2022; 21(1):1843. DOI: 10.1186/s12936-022-04211-9.
- Falade C.O., Ajayi I.O., Nsungwa-Sabiiti J., Siribié M., Diarra A., Sermé L., Afonne C., Yusuf O.B., Gansane Z., Jegede A.S., Singlovic J., Gomes M. Malaria rapid diagnostic tests and malaria microscopy for guiding malaria treatment of uncomplicated fevers in Nigeria and prereferral cases in 3 African countries. *Clin. Infect. Dis.* 2016; 63(suppl. 5):S290–S297. DOI: 10.1093/cid/ciw628.
- Garba B.I., Muhammad A.S., Musa A., Edem B., Yusuf I., Bello N.K., Adeniji A.O., Kolawole T. Diagnosis of malaria: A comparison between microscopy and Rapid Diagnostic Test among under-five children at Gusau, Nigeria. *Sub-Saharan Afr. J. Med.* 2016; 3:96–101.
- Mwenda M.C., Fola A.A., Ciubotariu I.I., Mulube C., Mambwe B., Kasaro R., Hawela M.B., Hamainza B., Miller J.M., Carpi J., Bridges D.J. [Performance evaluation of RDT, light microscopy, and P&T-PCR for detecting *Plasmodium falciparum* malaria infections in the 2018 Zambia National Malaria Indicator Survey]. *Malar. J.* 2021; 20(1):1–21.
- Fekadu M., Yenit M.K., Lakew A.M. [The prevalence of asymptomatic malaria parasitemia and associated factors among adults in Dembia district, northwest Ethiopia, 2017]. *Arch Public Health*. 2018;76(1):1–6.

Authors:

Patrick Loti. Chreso University Department of Research and Postgraduate Studies; Lusaka, 37178, Republic of Zambia. Nchanga North General Hospitals, Clinical Laboratory; Box 10063, Chingola, Republic of Zambia.

Stanley S. Nyirenda. Chreso University Department of Research and Postgraduate Studies; Lusaka, Republic of Zambia. Central Veterinary Research Institute; Balmoral, Lusaka, Republic of Zambia.

Frank K. Chisulo. Chilonga Mission General Hospital. Mpika, Republic of Zambia.

Agness Chama. Mednest Healthcare and Diagnostics. Chingola, Republic of Zambia.

Majory Singogo. Mother and Newborn Hospital. Lusaka, Republic of Zambia.

Daniel B. Chileshe. Chama District Hospital. Chama, Republic of Zambia.

James L. Mwansa. Lusaka Apex Medical University, Department of Research and Postgraduate Studies. Lusaka, Republic of Zambia.

Об авторах:

Patrick Loti. Университет Чресо, факультет исследований и последипломного образования; Лусака, 37178, Республика Замбия. Северная больница общего профиля Нчанга, клиническая лаборатория; 10063, Чингола, Республика Замбия.

Stanley S. Nyirenda. Университет Чресо, факультет исследований и последипломного образования; Лусака, Республика Замбия. Центральный институт ветеринарных исследований; Балморал, Лусака, Республика Замбия.

Frank K. Chisulo. Больница общего профиля миссии Чилонга. Мпика, Республика Замбия.

Agness Chama. MedNest Healthcare and Diagnostics. Чингола, Республика Замбия.

Majory Singogo. Больница матери и новорожденного. Лусака, Республика Замбия.

Daniel B. Chileshe. Районная больница Чама. Чама, Республика Замбия.

James L. Mwansa. Медицинский университет Апекс, факультет исследований и последипломного образования. Лусака, Республика Замбия.

DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-193-195

УДК 616.932:579.61

А.В. Тюрина, Н.Е. Гаевская, И.А. Иванова, А.В. Филиппенко, Н.Д. Омельченко, А.А. Труфанова,
М.П. Погожова, А.О. Аноприенко, Ю.В. Сизова, Н.И. Пасюкова

Оценка эффективности использования холерных бактериофагов для профилактики экспериментальной холеры

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

Возможность завоза холеры на территорию нашей страны и увеличение числа штаммов холерных вибрионов, обладающих устойчивостью к антибактериальным средствам, обуславливают необходимость разработки альтернативных лечебно-профилактических биопрепаратов на основе бактериофагов. **Цель** работы – изучение эффективности применения холерных бактериофагов для профилактики экспериментальной холеры. **Материалы и методы.** В работе использовали холерные бактериофаги Rostov-M3, Rostov-13, активные в отношении холерных вибрионов серогруппы O1, и ФБ1, обладающий литической активностью в отношении серогруппы O139. Оценка эффективности профилактики холеры проводили на модели изолированной петли тонкого кишечника взрослого кролика. **Результаты и обсуждение.** Применение Rostov-M3 и Rostov-13 в течение пяти и, особенно, семи дней перед заражением вирулентными штаммами *Vibrio cholerae* серогруппы O1 предотвращает развитие инфекции в тонком кишечнике экспериментальных животных. Бактериофаг ФБ1 в отношении *V. cholerae* O139 такой способностью не обладал. Данные исследования свидетельствуют об эффективности использования фагов Rostov-M3 и Rostov-13 для профилактики экспериментальной холеры, вызванной холерными вибрионами серогруппы O1.

Ключевые слова: бактериофаги, профилактика холеры, эффективность.

Корреспондирующий автор: Тюрина Анна Владимировна, e-mail: turina_av@antiplague.ru.

Для цитирования: Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Иванова И.А., Филиппенко А.В., Омельченко Н.Д., Труфанова А.А., Погожова М.П., Аноприенко А.О., Сизова Ю.В., Пасюкова Н.И. Оценка эффективности использования холерных бактериофагов для профилактики экспериментальной холеры. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2024; 2:193–195. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-193-195

Поступила 09.01.2024. Отправлена на доработку 17.01.2024. Принята к публ. 26.01.2024.

A.V. Tyurina, N.E. Gaevskaya, I.A. Ivanova, A.V. Filippenko, N.D. Omel'chenko, A.A. Trufanova,
M.P. Pogozhova, A.O. Anoprienko, Yu.V. Sizova, N.I. Pasyukova

Assessment of the Effectiveness of Cholera Bacteriophages for Prevention of Experimental Cholera

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

Abstract. The possibility of cholera importation into our country and the increase in the number of *Vibrio cholerae* strains that are resistant to antibacterial agents necessitate the development of alternative therapeutic and prophylactic biological products based on bacteriophages. **The aim** of the work was to study the effectiveness of application of cholera bacteriophages for the prevention of experimental cholera. **Materials and methods.** The work involved cholera bacteriophages Rostov-M3, Rostov-13, active against cholera vibrios of the O1 serogroup; and FB1, which has lytic activity against the O139 serogroup. The effectiveness of cholera prevention was assessed using a model of an isolated loop of the small intestine in an adult rabbit. **Results and discussion.** The use of Rostov-M3 and Rostov-13 for five and especially seven days before infection with virulent strains of *V. cholerae* O1 serogroup prevents the development of infection in the small intestine of experimental animals. Bacteriophage FB1 did not have that ability against *V. cholerae* O139. These studies indicate the effectiveness of using phages Rostov-M3 and Rostov-13 for the prevention of experimental cholera caused by *V. cholerae* O1 serogroup.

Key words: bacteriophages, cholera prevention, effectiveness.

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

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

Bioethics: All stages of the research complied with the legislation of the Russian Federation, international ethical standards and regulatory documents of the institution, and were also approved by the Bioethics Commission of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of the Rospotrebnadzor (minutes of the meeting of the Bioethics Commission dated May 13, 2022 No. 6).

Corresponding author: Anna V. Tyurina, e-mail: turina_av@antiplague.ru.

Citation: Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Ivanova I.A., Filippenko A.V., Omel'chenko N.D., Trufanova A.A., Pogozhova M.P., Anoprienko A.O., Sizova Yu.V., Pasyukova N.I. Assessment of the Effectiveness of Cholera Bacteriophages for Prevention of Experimental Cholera. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2024; 2:193–195. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-193-195

Received 09.01.2024. Revised 17.01.2024. Accepted 26.01.2024.

Tyurina A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9359-3997>
Gaevskaya N.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0762-3628>
Ivanova I.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7068-4071>
Filippenko A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1103-4244>
Omel'chenko N.D., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5208-7724>

Trufanova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4770-5994>
Pogozhova M.P., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9779-3577>
Anoprienko A.O., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8466-9315>
Pasyukova N.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1525-5693>

Холера представляет серьезную проблему для современного здравоохранения в результате сезонного роста заболеваемости на эндемичных территориях с возможным формированием вторичных очагов [1]. Длительное действие факторов, стимулирующих эпидемический процесс, завозы инфекции в результате миграции населения и бесконтрольное использование антибактериальных препаратов приводят к увеличению количества штаммов антибиотикорезистентных микроорганизмов [2].

Лечение холеры может быть патогенетическим и этиотропным. Однако применение антибактериальных средств может быть ограничено ростом лекарственной устойчивости возбудителя, наличием противопоказаний к применению и частотой побочных реакций со стороны макроорганизма [3].

В связи с этим разработка новых высокоэффективных препаратов антимикробного действия приобретает особую актуальность. Интерес исследователей вызывают бактериофаги, обладающие рядом достоинств: безопасны для клеток высших организмов, нетоксичны, высокоспецифичны [4]. Однако у бактерий существует множество механизмов защиты, блокирующих каждый из этапов инфицирования клеток бактериофагами [5]. Поэтому при конструировании препаратов на их основе необходимо оценить их эффективность и целесообразность дальнейшего использования.

Целью работы стало изучение эффективности холерных бактериофагов для профилактики экспериментальной холеры на модели взрослых кроликов.

Материалы и методы

В работе использовали полученные из коллекции-депозитария лаборатории бактериофагов ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора вирулентные холерные бактериофаги: Rostov-M3, Rostov-13, активные в отношении холерных вибрионов O1-серогруппы, и ФБ1, обладающий литической активностью в отношении O139-серогруппы [6]. Свойства бактериофагов изучали согласно общепринятым методам [7].

Полученные фаги стерилизовали фильтрацией с помощью насадки Filtropur S 0,22 мкм. Далее производили очистку фаголизатов на хроматографической колонке Endo Trap HD (Германия) согласно инструкции производителя. Очищенные фаги соединяли в равных соотношениях (1:1:1). На основе данной композиции впоследствии планируется создание экспериментального фагового препарата для профилактики холеры.

Оценку эффективности фагопрофилактики проводили на взрослых кроликах массой 1,5 кг. Опытные и контрольные группы животных содержались в стандартных условиях вивария. Для статистической обработки все эксперименты проводили в трех повторах.

Кроликам (4 группы по 2 кролика) внутривенно через зонд вводили по 3 мл бактериофагов (отдельно фаги Rostov-M3, Rostov-13 и ФБ1, а также их смесь в соотношении 1:1:1) в концентрации $n \cdot 10^8$ –

$n \cdot 10^9$ БОЕ/мл в течение 3, 5 и 7 дней. Контрольная группа животных получала перорально 0,9 % забуференный раствор натрия хлорида (ЗФР) в объемах, аналогичных получаемым в опытных группах.

Эффективность фагопрофилактики оценивали на модели изолированной петли тонкого кишечника взрослого кролика [8].

Для заражения животных использованы токсигенные штаммы: *Vibrio cholerae* O1 classical 145 (Индия, 1958 г.), *V. cholerae* O1 El Tor 18899 (больной, 2006 г.), *V. cholerae* O139 16066 (Индия, 1993 г.), – полученные из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Свойства холерных штаммов изучали общепринятыми методами (МУК 4.2.3746-22).

Об энтеропатогенном эффекте судили по наличию/выраженности в опытной петле тонкого кишечника отека слизистой и подслизистой оболочек, кровоизлияния и некроза покровного эпителия ворсин. О холерогенном эффекте судили по присутствию жидкости в опытной петле [8].

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010 и StatSoft Statistica Windows 10.01. Определяли значения доверительных интервалов (L) среднеарифметического (M) для уровня достоверности (P) 95 %. Достоверности различий определяли по t-критерию Стьюдента. Уровень $p < 0,05$ оценивался как значимый.

Результаты и обсуждение

Исследование активности испытуемых препаратов бактериофагов показало, что их прием в течение трех дней недостаточен для предотвращения развития холеры в тонком кишечнике взрослых кроликов. При этом, оценивая влияние пятидневного введения фагов на развитие экспериментальной холеры, нами выявлены различия в патологоанатомической картине в перевязанных петлях тонкого кишечника у кроликов, получавших разные бактериофаги. Энтеропатогенный эффект, регистрируемый по патологоанатомической картине в перевязанной петле тонкого кишечника: наличию отека слизистой и подслизистой оболочек, кровоизлияний и некрозов [8], – наблюдали у животных, которым вводили фаг ФБ1 в течение пяти дней и затем заражали штаммом *V. cholerae* O139 16066. Опытные перевязанные петли тонкого кишечника этих животных были растянуты и заполнены полупрозрачным содержимым, что свидетельствовало о ярко выраженном холерогенном эффекте [8]. Такая же патогенетическая картина наблюдалась и после семидневного приема фага ФБ1. По-видимому, это обусловлено низкой (50 %) литической активностью данного фага в отношении холерных вибрионов серогруппы O139 [8], недостаточной для предотвращения развития холеры.

У кроликов, получавших фаги Rostov-M3 и Rostov-13 в течение пяти дней, зараженных в дальнейшем *V. cholerae* O1 classical 145 и *V. cholerae* O1

El Tor 18899 соответственно, в изолированных петлях тонкого кишечника отсутствовал холерогенный и регистрировался незначительный энтеропатогенный эффект. Введение этих фагов в течение семи дней препятствовало развитию холеры у всех взятых в эксперимент животных опытных групп: холерогенный и энтеропатогенный эффекты полностью отсутствовали.

У кроликов, получавших смесь бактериофагов Rostov-M3, Rostov-13 и ФБ1 в течение трех, пяти и семи дней и впоследствии зараженных смесью (1:1:1) штаммов *V. cholerae* O1 classical 145, *V. cholerae* O1 El Tor 18899 и *V. cholerae* O139 16066, обнаружено наличие выраженного холерогенного и энтеропатогенного эффекта. Отсутствие профилактического эффекта связано с использованием в смеси фага ФБ1 и его недостаточной литической активностью в отношении штамма *V. cholerae* O139, что и обусловило проявление инфекционного процесса в эксперименте.

Учитывая полученные результаты, сделан вывод, что применение бактериофага ФБ1 для профилактики холеры, вызываемой вибрионами O139-серогруппы, неэффективно, поэтому включение данного фага в состав экспериментального препарата нецелесообразно. Введение фагов Rostov-M3 и Rostov-13 в течение пяти и, особенно, семи дней перед заражением животных вирулентными штаммами *V. cholerae* O1 классического биовара и биовара El Tor предотвращает развитие инфекции в тонком кишечнике экспериментальных животных, что свидетельствует о перспективности этих фагов в качестве компонентов экспериментального профилактического противохолерного препарата.

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. Все этапы исследований соответствовали законодательству Российской Федерации, международным этическим нормам и нормативным документам учреждения, а также одобрены комиссией по биоэтике ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора (протокол заседания Комиссии по биоэтике от 13.05.2022 № 6).

Список литературы

1. Носков А.К., Кругликов В.Д., Москвитина Э.А., Миронова Л.В., Мохова 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. Das B., Verma J., Kumar P., Ghosh A., Ramamurthy T. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae*: Understanding the ecology of resistance genes and mechanisms. *Vaccine*. 2020; 38 Suppl. 1:A83–A92. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.06.031.
3. Аленикина Т.В., Овчинникова М.В., Киреев М.Н., Никифоров А.К. Перспективные сорбционные матрицы для конструирования антитоксического холерного энтеросорбента. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2013; 2:66–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-2-66-69.

4. Gordillo Altamirano F.L., Barr J.J. Phage therapy in the post-antibiotic era. *Clin. Microbiol. Rev.* 2019; 32(2):e00066-18. DOI: 10.1128/cmr.00066-18.

5. Заднова С.П., Плеханов Н.А., Спирина А.Ю., Швиденко И.Г., Савельев В.Н. Выявление фагоиндуцируемых мобильных генетических элементов в штаммах *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2023; 2:112–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119.

6. Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Погожова М.П., Аноприенко А.О. Изучение биологических и генетических свойств холерных бактериофагов, входящих в состав экспериментального профилактического препарата. В кн.: Попова А.Ю., редактор. Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены. Материалы XIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. Екатеринбург; 2021. С. 317–8.

7. Адамс М. Бактериофаги. М.: Изд-во иностранной литературы; 1961. 527 с.

8. Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Иванова И.А., Филиппенко А.В., Омельченко Н.Д., Труфанова А.А., Погожова М.П., Аноприенко А.О. Эффективность использования экспериментального фагового коктейля для профилактики холеры в опытах *in vivo*. В кн.: Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены. Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора. М.; 2022. С. 290–3.

References

1. Noskov A.K., Kruglikov V.D., Moskvitina E.A., Mironova L.V., Monakhova E.V., Soboлева E.G., Chemisova O.S., Vodopyanov 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. Das B., Verma J., Kumar P., Ghosh A., Ramamurthy T. Antibiotic resistance in *Vibrio cholerae*: Understanding the ecology of resistance genes and mechanisms. *Vaccine*. 2020; 38 Suppl. 1:A83–A92. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.06.031.

3. Alenikina T.V., Ovchinnikova M.V., Kireev M.N., Nikiforov A.K. [Prospective sorption matrices for antitoxic cholera enterosorbent constructing]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2013; (2):66–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-2-66-69.

4. Gordillo Altamirano F.L., Barr J.J. Phage therapy in the post-antibiotic era. *Clin. Microbiol. Rev.* 2019; 32(2):e00066-18. DOI: 10.1128/cmr.00066-18.

5. Zadnova S.P., Plekhanov N.A., Spirina A.Yu., Shvidenko I.G., Savel'ev V.N. [Detection of phage-induced mobile genetic elements in strains of *Vibrio cholerae* O1 Biorar El Tor]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; (2):112–9. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-112-119.

6. Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Pogozhova M.P., Anoprienko A.O. [Study of the biological and genetic properties of cholera bacteriophages included in the experimental prophylactic drug]. In: Popova A.Yu., editor. [Current Issues of Epidemiology, Microbiology and Hygiene. Materials of the XIII All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists of the Rospotrebnadzor]. Yekaterinburg; 2021. P. 317–8.

7. Adams M. [Bacteriophages]. Moscow: Foreign Literature Publishing House; 1961. 527 p.

8. Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Ivanova I.A., Filippenko A.V., Omel'chenko N.D., Trufanova A.A., Pogozhova M.P., Anoprienko A.O. [The effectiveness of using an experimental phage cocktail for the prevention of cholera in *in vivo* experiments]. In: [Current Issues of Epidemiology, Microbiology and Hygiene. Materials of the XIV All-Russian Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists of the Rospotrebnadzor]. Moscow; 2022. P. 290–3.

Authors:

Tyurina A.V., Gaevskaya N.E., Ivanova I.A., Filippenko A.V., Omel'chenko N.D., Trufanova A.A., Pogozhova M.P., Anoprienko A.O., Sizova Yu.V., Pasyukova N.I. 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:

Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Иванова И.А., Филиппенко А.В., Омельченко Н.Д., Труфанова А.А., Погожова М.П., Аноприенко А.О., Сизова Ю.В., Пасюкова Н.И. Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. E-mail: plague@aanet.ru.

Памяти Алексея Кимовича Носкова

31 марта 2024 г. на 53-м году жизни скоропостижно ушел из жизни директор ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора кандидат медицинских наук Алексей Кимович Носков.

Алексей Кимович продолжил династию врачей. В его послужном списке – воинская служба в должности начальника медицинской службы; работа в Читинской противочумной станции врачом-инфекционистом, заведующим бактериологической лабораторией, заместителем начальника станции по эпидемиологической работе; в Управлении Роспотребнадзора по Забайкальскому краю – в должности начальника отдела надзора на транспорте и санитарной охраны территории. Работая в Иркутском научно-исследовательском противочумном институте Сибири и Дальнего Востока, он был начальником СПЭБ, возглавил вновь созданный отдел санитарной охраны.

Свою жизнь Алексей Кимович посвятил обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения нашей страны, участвовал в организации спасательных мероприятий при ликвидации последствий землетрясения, паводков, опасных метеорологических явлений, внес большой вклад в борьбу с новой коронавирусной инфекцией.

С октября 2019 г. А.К. Носков занимал должность директора ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора. Под его руководством в институте проводились актуальные исследования по совершенствованию эпидемиологического надзора за холерой и другими особо опасными и природно-очаговыми инфекционными болезнями, их лабораторная диагностика и профилактика. Алексей Кимович являлся руководителем Референс-центра по мониторингу за холерой, председателем Ростовского регионального отделения Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. Большое внимание А.К. Носков уделял взаимодей-



ствием с другими учреждениями Роспотребнадзора и Министерства здравоохранения РФ.

Алексей Кимович является автором более 240 научных работ, 10 нормативно-методических документов федерального уровня, 8 свидетельств о регистрации баз данных.

Заслуги А.К. Носкова отмечены почетной грамотой Министерства здравоохранения и социального развития РФ, памятной медалью «90 лет Госсанэпидслужбе России» и благодарностью Губернатора Хабаровского края, нагрудным знаком «Почетный работник Рос-

потребнадзора», в 2022 г. он награжден орденом Пирогова и медалью Федора Гааза. А.К. Носков – лауреат премии лучшим врачам России «Призвание» (2014 и 2022 гг.) и победитель Всероссийского конкурса врачей в номинации «За создание нового метода диагностики» (2022 г.).

Мы всегда будем помнить Алексея Кимовича как целеустремленного, высококвалифицированного специалиста в области эпидемиологии, который постоянно совершенствовал свои знания и навыки. Его отличали подлинный профессионализм, целеустремленность и трудолюбие. Глубокие знания, большой практический опыт и весомый вклад в обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения страны принесли ему глубокое уважение и признание коллег. Безвременная смерть А.К. Носкова вызвала искреннюю скорбь у всех, кто работал с ним. Алексей Кимович навсегда останется в наших сердцах настоящим ученым, отзывчивым и жизнелюбивым человеком.

Коллектив ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций» выражают глубокие соболезнования семье и близким Алексея Кимовича Носкова.

Памяти Артура Викторовича Наумова

27 мая 2024 г. на 85-м году жизни скончался Артур Викторович Наумов, бывший директор Российского научно-исследовательского противочумного института «Микроб» (1988–1997 гг.), доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации.

А.В. Наумов в 1964 г. окончил Саратовский медицинский институт. После окончания курсов специализации по особо опасным инфекциям при Иркутском научно-исследовательском противочумном институте работал врачом-бактериологом на Азербайджанской противочумной станции с 1964 по 1966 г.

В институте «Микроб» работал с 1966 г., после окончания аспирантуры по специальности «биохимия» и защиты кандидатской диссертации. Принимал активное участие в ликвидации очагов холеры в бассейне р. Волги в 1971–1973 гг., в санитарно-профилактических противочумных мероприятиях в Северо-Западном Прикаспии в 1973 г. В 1976 г. возглавил лабораторию биохимии. В 1986 г. стал доктором медицинских наук, в 1989 г. получил звание



профессора. В 1987 г. назначен заместителем директора по научной работе, а с 1988 по 1997 г. занимал должность директора РосНИПЧИ «Микроб».

Основное направление научных исследований А.В. Наумова было связано с изучением теоретических и прикладных аспектов биохимии патогенных микроорганизмов, систем переноса питательных веществ в бактериальные клетки, антигенной структуры возбудителей особо опасных инфекций и разработкой диагностических и профилактических препаратов. Артур Викторович является соавтором многих научных работ, в том числе монографии

«Иммунология чумы».

Заслуги А.В. Наумова отмечены присуждением ему почетного звания «Заслуженный деятель науки Российской Федерации».

Коллектив ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Проблемы особо опасных инфекций» выражают глубокие соболезнования семье и близким Артура Викторовича Наумова.

Правила для авторов

При направлении статьи в редакцию журнала «Проблемы особо опасных инфекций» следует соблюдать следующие правила:

1. Электронная версия статьи высылается через сайт журнала, по электронной почте или СЭД на адрес ФКУН Российский противочумный институт «Микроб». Оригинал статьи с подписями всех авторов и сопроводительные документы высылаются на почтовый адрес редакции: 410005, г. Саратов, ул. Университетская, 46. Каждая статья должна иметь направление от учреждения, в котором она выполнена, экспертное заключение, лицензионный договор о предоставлении права использования произведения и согласие авторов на обработку данных.

2. Размер статей (включая таблицы, рисунки, резюме и список литературы) не должен превышать у оригинальных – 12 с. (шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12, межстрочный интервал – 1,5, поля – по 2 см), обзоров – 20 с., кратких сообщений – 6 с. Краткие сообщения не должны содержать таблицы и рисунки.

3. Оригинальная статья должна состоять из разделов: цель исследования, материалы и методы, результаты и обсуждение. Обзоры должны быть структурированы на разделы: цель, разделы по содержанию обзора, заключение.

4. К статьям должны прилагаться резюме и ключевые слова на русском и английском языках. У оригинальных статей резюме должно содержать от 200 до 250 слов и состоять из разделов: цель, материалы и методы, результаты и обсуждение. Использование сокращений и условных обозначений в резюме не рекомендуется. Для кратких сообщений объем резюме – 150 слов. Для обзоров резюме должно включать краткое изложение основной концепции статьи. После резюме приводятся ключевые слова или словосочетания на русском и английском языках (не более 8) в порядке значимости.

5. В начале статьи указываются: инициалы и фамилия авторов, название работы, названия учреждений – мест работы всех авторов, их должности и контактная информация (почтовый адрес с указанием индекса, телефон, адрес электронной почты). Если авторов несколько, у каждой фамилии и соответствующего учреждения предоставляется цифровой индекс. Корреспондирующий автор должен указать персональные контактные данные для редакции (адрес личной электронной почты и телефон). Все авторы должны указать свой идентификационный код автора научных трудов (ORCID).

В конце статьи должно быть приведено заявление об отсутствии/наличии конфликта финансовых либо иных интересов, связанных с написанием статьи. Заявление об отсутствии конфликта интересов может быть сформулировано следующим образом: авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи. Если статья была написана в результате работы, которая финансировалась из дополнительных источников (грант, контракт, ФЦП и т.д.), это должно быть указано в конце статьи.

6. Если в работе имело место участие животных или людей как объектов исследования, авторы должны указать в рукописи, что все стадии исследования соответствовали законодательству РФ, международным этическим нормам и нормативным документам учреждения, а также одобре-

ны соответствующими комитетами. В рукописи должно быть четко отражено, что от всех людей, ставших объектами исследований, получено информированное согласие.

7. Количество иллюстраций и таблиц не должно превышать 5 (либо 5 рис., либо 5 табл., либо 5 в совокупности). Иллюстрации необходимо вставить в текст статьи после ссылки на них, а также приложить файл в формате tif или pdf. Рисунки должны быть четкими. Количество обозначений должно быть сведено к минимуму. Все объяснения следует давать в подрисуночной подписи на русском и английском языках. Текст внутри рисунка также должен быть на двух языках – русском и английском.

8. Таблицы не должны дублировать графики, должны иметь краткое название, быть компактными, с шапками, точно отражающими содержание графа, весь материал должен быть продублирован на английском языке. Данные в таблицах должны быть статистически обработаны. Цифровой материал из таблиц не должен повторяться в тексте статьи.

9. Названия таблиц и рисунков, подрисуночные подписи должны быть переведены на английский язык.

12. Фамилии иностранных авторов при упоминании в тексте статьи даются в иностранной транскрипции.

10. В списке литературы (в оригинальных статьях – не более 25 источников, проблемных и обзорах – не более 60, кратких сообщениях – не более 10) приводятся работы отечественных и зарубежных авторов за последние 10 лет в порядке упоминания в тексте (независимо от языка, на котором дана работа), а не по алфавиту. В тексте дается ссылка на порядковый номер списка (в квадратных скобках), а не на фамилию и годы.

Требования к оформлению списка литературы представлены на сайте журнала: <https://journal.microbe.ru/journal/about/submissions#authorGuidelines>.

Количество ссылок на собственные работы (самоцитирование) – не более трех. Под самоцитированием подразумевается цитирование не только первого, но и каждого из соавторов статьи.

11. Требования к электронным вариантам статей: файлы с текстом и подрисуночными подписями должны быть в формате .doc; рисунки и фотографии – в отдельных файлах в формате tiff или jpg (разрешение – 300 пикс/дюйм); диаграммы и графики должны быть выполнены в программе Excel (в отдельных файлах в формате xls).

12. При невыполнении настоящих правил статьи не принимаются и отсылаются авторам на дооформление.

13. Редакция оставляет за собой право редактировать статьи, сокращать или исправлять, а также публиковать их в виде кратких сообщений. Вся работа проводится по авторскому оригиналу. После сокращения статья направляется на согласование автору.

14. Присланные в редакцию статьи проверяются системой «Антиплагиат», проходят рецензирование в соответствии с требованиями ВАК РФ. Рецензии, содержащие замечания, высылаются авторам. Фамилии рецензентов не разглашаются.

15. В случае отклонения статьи по рецензии редакция направляет автору мотивированный отказ.

16. Публикация – бесплатная.